

# EFECTOS DEL USO DE ESTATINAS SISTÉMICAS Y LOCALES SOBRE LA SALUD PERIODONTAL Y SOBRE LA RESPUESTA INMUNE

DAVID RAFAEL ROSENBERG MESSINA

DIRECTOR Dr. José Nart Molina

CODIRECTORA Dra. Deborah Violant Holz

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

# **EFFECTOS DEL USO DE ESTATINAS SISTÉMICAS Y LOCALES SOBRE LA SALUD PERIODONTAL Y SOBRE LA RESPUESTA INMUNE**

Departamento de Periodoncia

Facultad de Odontología

Programa de Doctorado: Doctorado en Odontología

Universitat Internacional de Catalunya



TESIS DOCTORAL

**DAVID RAFAEL ROSENBERG MESSINA**

2017

DIRECTOR

**Dr. José Nart Molina**

CODIRECTORA

**Dra. Deborah Violant Holz**

# A GRADECIMIENTOS

A mi director, Dr. José Nart, porque sin su ayuda no habría conseguido este proyecto. Muchas gracias José por haber confiado en mí, por el apoyo incondicional, paciencia y todo el tiempo dedicado.

A mi codirectora, Dra. Deborah Violant, por su importante ayuda. Por sus observaciones, sus consejos y palabras de estímulo constante.

Al Dr. Lluís Giner, por la confianza y amistad. Gracias por hacerme sentir en todo momento parte de la gran familia de la UIC.

A la Dra. Catherine Andrade, Dra. Alejandra Chaparro, Dra. Valeria Ramírez, Dr. Flavio Carrión, Dra. Mónica Kurte y todos aquellos que me apoyaron con sus conocimientos y experiencia durante la realización de esta tesis.

A los cardiólogos Dr. Ricardo Larrea y David Dorón, por guiarme cuando ya no sabía por dónde continuar, abrirme las puertas de sus departamentos y brindarme su ayuda siempre que lo he necesitado.

A mi amigo Dr. Jorge Tricio Pesce, quien a la distancia, desde Londres me dio siempre sabios consejos.

A mi gran amigo Dr. Cristián Bravo, por su paciencia y apoyo durante momentos difíciles de este proceso.

Al Consejo de la Facultad Odontología y las autoridades de la rectoría de la Universidad de los Andes, que mantuvieron siempre su confianza en mí.

A todos los profesores y alumnos del departamento de Periodoncia y laboratorio de inmunología de la Universidad de los Andes.

Por último...

A mis padres, por la educación que me han brindado. Gracias por enseñarme que podía conseguir todo aquello que quisiera, solo tenía que proponérmelo, esforzarme y ser constante.

A mis hijos Nicolás, Matías y Alexander, por su cariño y soporte incondicional.

A Marcela, mi esposa, por su paciencia, ayuda y aliento. Gracias por comprender la importancia que tiene para mí este proyecto. Gracias por ayudarme a levantarme y animarme a seguir adelante cuando lo necesité.

Le pido disculpas a mi familia, por las horas robadas durante la realización de esta Tesis. Gracias por demostrarme el cariño constante y hacerme feliz con pequeñas cosas, gestos y vivencias que demuestran lo que realmente importa en la vida.

# ÍNDICE

1.	JUSTIFICACIÓN.....	15
2.	HIPÓTESIS.....	21
3.	OBJETIVOS.....	23
4.	INTRODUCCIÓN.....	25
	4.1. Enfermedad periodontal.....	27
	4.1.1. Definición.....	27
	4.1.2. Epidemiología.....	27
	4.1.3. Etiopatogenia de la enfermedad periodontal.....	28
	4.1.4. Relación entre la enfermedad periodontal y cardiovascular.....	31
	4.2. Estatinas.....	32
	4.2.1. Historia.....	32
	4.2.2. Tipos de estatinas.....	32
	4.2.3. Mecanismo de acción.....	33
	4.2.3.1. Colesterol.....	33
	4.2.3.2. Síntesis de colesterol.....	33
	4.2.3.3. Lipoproteínas.....	35
	4.2.3.4. Mecanismo de acción de estatinas.....	36
	4.2.4. Farmacocinética.....	39
	4.2.5. Acción en enfermedades cardiovasculares.....	40
	4.2.6. Posología.....	40
	4.2.7. Prescripción de estatinas.....	41
	4.2.8. Efectos extra-lipídicos o Efectos pleiotrópicos.....	42
	4.2.8.1. Efecto anti-inflamatorio.....	43
	4.2.8.2. Efecto Inmunomodulador.....	44
	4.2.8.3. Efecto Antibacteriano.....	45
	4.2.8.4. Efecto en el metabolismo óseo.....	46
	4.2.9. Efectos adversos.....	48
	4.3. Análisis de estudios que relacionan el uso de estatinas con el estado periodontal.....	49
	4.3.1. Estudios <i>in vitro</i> .....	50

4.3.2. Estudios en animales.....	52
4.3.2.1. Estudios que evalúan relleno óseo.....	52
4.3.3. Estudios en humanos.....	63
4.3.3.1. Administración sistémica de estatinas.....	63
4.3.3.2. Administración local de estatinas.....	67
4.3.3.3. Efecto del uso de estatinas en la asociación entre el perfil lipídico y el estado periodontal.....	73
4.3.3.4. Administración local de estatinas en pacientes con factores de riesgo para periodontitis.....	78
5. ARTÍCULO 1: Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatinas.....	86
5.1. Descripción del artículo.....	87
5.2. Resumen y texto principal.....	88
6. ARTÍCULO 2: Atorvastatin-medicated dentifrice significantly inhibits CD4+ T cell proliferation.....	100
6.1. Descripción del artículo.....	101
6.2. Resumen y texto principal.....	102
7. ARTÍCULO 3: Short-term effects of 2% atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: A randomized double masked clinical trial.....	121
7.1. Descripción del artículo.....	122
7.2. Resumen y texto principal.....	123
8. DISCUSIÓN.....	143
9. CONCLUSIONES.....	154
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	157
11. ANEXOS.....	171
11.1. ANEXO I. Aprobación Comisión Académica de Doctorado (CAD).....	172
11.2. ANEXO II. Aprobación Comité de ética de investigación (CER).....	173
11.3. ANEXO III. Registro PCT.....	174
11.4. ANEXO IV. Registro clinical trials.gov (NIH, USA).....	190
11.5. ANEXO V. Registro de recepción para revisión en Journal of Dental Research	



artículo: Association between the use of statins and periodontal status: A review.....	194
11.6. ANEXO VI. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para el artículo: Efectos clínicos y moleculares del cepillado con dentífrico con atorvastatina al 2%, como complemento al tratamiento periodontal no quirúrgico de pacientes con periodontitis crónica.....	234
11.7. ANEXO VII. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para investigación <i>In vitro</i> .....	236
11.8. ANEXO VIII. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para la investigación clínica cohorte.....	238
11.9. ANEXO IX. Carta de aprobación por Comité de ética de la Universitat Internacional de Catalunya.....	240
11.10. ANEXO X. Carta de adjudicación fondos de investigación INNOVA Corfo. Contratos tecnológicos para la Innovación.....	241
11.11. Anexo XI. Carta de adjudicación de fondos de investigación INNOVA Corfo I+D aplicada L1.....	242
11.12. Anexo XII. Carta de adjudicación fondo concursable FAI por la Universidad de los Andes. ....	243
11.13. Anexo XIII. Carta de aprobación presentación de poster de investigación en Jornadas Científicas en Salud UAndes.....	244

# JUSTIFICACIÓN

## 1. JUSTIFICACIÓN

La Enfermedad Periodontal (EP) es una afección inflamatoria-infecciosa y destructiva de los tejidos que rodean al diente. A pesar de los avances científicos y esfuerzos económicos sigue afectando en todo el mundo, a más del 90% de los adultos, comprometiendo la pérdida de dientes en gran parte de los afectados, generando un enorme gasto en salud y detrimento de la calidad de vida para la población.

Una serie de eventos celulares y moleculares ocurren como respuesta del acúmulo de las bacterias en la cavidad bucal. No obstante, aunque las bacterias son necesarias para iniciar la EP, es la respuesta inmune la responsable de la destrucción de los tejidos periodontales.

Al suprimir las medidas de higiene oral, progresivamente van apareciendo signos de inflamación gingival (gingivitis), pero una vez que se retoman las medidas de higiene oral, los signos de gingivitis desaparecen y la encía vuelve a su estado inicial. Por esta razón es que se considera a la gingivitis una lesión reversible. Sin restablecer la higiene oral, éste estado de gingivitis reversible puede permanecer en algunas personas, en forma crónica durante un tiempo indeterminado. Sin embargo, por motivos aun desconocidos, en algunas personas o bien bajo ciertas condiciones, la enfermedad pasa a una entidad destructiva llamada periodontitis (figura 1). Este proceso toma tiempo, expresando así la naturaleza cíclica de la enfermedad, lo que a su vez se relaciona con otros factores que pueden hacer que se modifique la respuesta inflamatoria (enfermedades de base como la diabetes, hábitos como el tabaquismo, situaciones de estrés, entre otros), lo que la define, por lo tanto, como una enfermedad multi-factorial.

Por otra parte, la inflamación-infección del tejido periodontal puede afectar otras zonas del cuerpo, siendo vinculada con diversas enfermedades generales (patologías cardiovasculares, diabetes mellitus, y parto prematuro, entre otras).

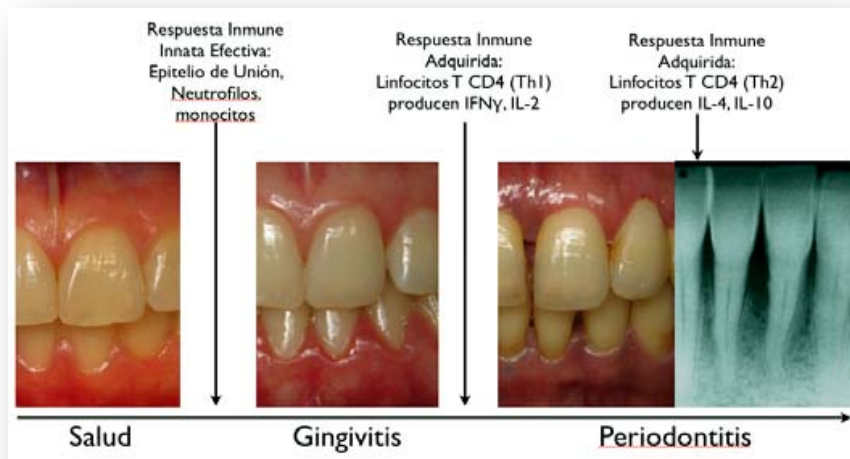


Figura 1: Progresión de la enfermedad periodontal.

Por lo anterior, la EP es considerada una enfermedad compleja, en cuyo desarrollo participan bacterias, el huésped, y factores ambientales.

La placa bacteriana es considerada como el factor etiológico principal de la EP, sin embargo, recientes estudios se han centrado en el rol del sistema inmune en la evolución de esta patología, lo que indica que antígenos bacterianos desencadenan una reacción inmuno-patológica, donde la susceptibilidad del paciente determinará el resultado final del proceso.

Se ha postulado que mientras que las bacterias comensales son bien toleradas, los patógenos periodontales producen una respuesta inmune, evadiendo los mecanismos de control inmunológico del huésped, lo que termina con la activación de procesos de destrucción tisular.

Por lo tanto, la enfermedad periodontal es una enfermedad compleja multifactorial, en la que, si bien las bacterias son un factor fundamental en su etiología, también es relevante la respuesta inmune que se desarrolla en el huésped.

En el proceso inmunológico que se produce en la enfermedad periodontal, participan una gran cantidad de células y moléculas, tales como linfocitos, neutrófilos, macrófagos, citoquinas, interleuquinas, factor de necrosis tumoral, dentro de otros, lo que vuelve a esta patología un proceso complejo, del que todavía existe desconocimiento.

Más aun, si bien hay componentes que predominan más en la periodontitis y otros más en la gingivitis, muchos se encuentran en ambas, lo que hace difícil entender y describir el mecanismo exacto.

Lo que si se sabe, es que existiría una lesión reversible, llamada gingivitis, la cual puede permanecer en este estado por largo tiempo. O bien, dadas determinadas condiciones inmunológicas (aún desconocidas), puede progresar a una condición más compleja, irreversible y destructiva, la periodontitis, la cual no depende única y exclusivamente de las bacterias, sino de factores inmunológicos involucrados.

Por lo tanto, una respuesta inmunológica disfuncional, sería la causa de la predisposición a la destrucción de los tejidos.

Es evidente, por los índices de salud de la población, que aun se desconocen muchos aspectos de la EP, a pesar de ser la Periodoncia la disciplina odontológica que más conocimiento científico desarrolla. El enfoque puramente bacteriológico de esta patología es insuficiente, tanto para establecer su diagnóstico y más aun para precisar el pronóstico, y de esta forma intervenir en su prevención y tratamiento. La comprensión de la etiopatogenia de la enfermedad periodontal, considerando el estado inmunológico del paciente, nos perimirá no solo desarrollar mecanismos de diagnóstico precoz de la enfermedad, identificar y explicar los factores intrínsecos y exógenos de riesgo periodontal, si no que también desarrollar nuevas estrategias preventivas y terapéuticas, realmente efectivas para combatir una de las enfermedades más prevalentes de la población. Y dar adecuada solución a un problema de salud pública, aún sin solución.

En la siguiente secuencia de estudios se propone la utilización de la Estatinas para contribuir al control de la EP. Estos medicamentos indicados primariamente para la dislipidemia, presentan propiedades extralipídicas inmunomoduladoras, que les han

permitido impactar en los índices de salud cardiovascular. Existiría suficiente evidencia científica que fundamentaría el uso de estos medicamentos para la prevención y el control de la EP en pacientes susceptibles. Así como también aplicados en forma tópica complementaria a la terapia periodontal convencional, contribuirían a hacer más eficaz el tratamiento de la enfermedad, así como también el mantenimiento del estado de salud en el tiempo.

En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica narrativa, que pone de manifiesto los fundamentos científicos en los cuales se sustentan la siguiente secuencia de estudios que se realizamos en este proyecto. Esta revisión se presenta a continuación a modo de introducción al tema, y busca dilucidar qué efectos producen las estatinas en los tejidos periodontales.

En segundo término, se realizó un estudio piloto de seguimiento de los parámetros clínicos periodontales a una cohorte de pacientes que, habiendo consultado a un centro de prevención cardiovascular, algunos de ellos por indicación cardiológica comenzaron una terapia sistémica con estatinas, lo que se compararon con pacientes del mismo grupo que no recibieron dicha terapia.

Establecida la observación que dichos pacientes bajo consumo sistémico de estatinas, tenían una tendencia a mejorar su condición periodontal, sumada a la evidencia científica publicada, se procedió al desarrollo de un prototipo de dentífrico en gel medicado con atorvastatina al 2% para aplicación local, procediendo al patentamiento de dicha invención en la "International Bureau of the World Intellectual Property Organization (ver ANEXO III).

Se realizó un estudio in vitro con el fin de evaluar el efecto inmuno-supresor cuantitativo sobre Células T CD4+ del prototipo comparado con placebo y también con una solución de atorvastatina sola.

Luego se realizó un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego para observar el efecto clínico periodontal de la utilización del prototipo de pasta dentífrica con atorvastatina. El

protocolo del estudio fue inscrito y luego sus resultados aceptados el 25 de Julio de 2014, en los registros públicos de ClinicalTrials.gov del NIH (NCT01929135).

En la siguiente Tesis doctoral se presentan los siguientes trabajos:

1. Revisión narrativa sobre el uso de estatinas y su asociación con el estado periodontal. El texto se presenta a modo de introducción en este manuscrito.
2. Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatina.
3. Atorvastatin-medicated dentifrice significantly inhibits CD4+ T cell proliferation: A pilot in vitro study.
4. Short-term effects of 2% atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: A randomized double-masked clinical trial.

# HIPÓTESIS



## 2. HIPÓTESIS

A continuación, se presentan las 3 hipótesis principales de cada uno de los artículos:

2.1. Hipótesis artículo 1 “Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatina.”:

2.1.1. Hipótesis nula (Ho): No existen diferencias en la condición periodontal clínica en pacientes con enfermedad periodontal que inician tratamiento por dislipidemia según consumo de estatinas sistémicas tras 6 meses de tratamiento.

2.1.2. Hipótesis alternativa (H1): Los pacientes con enfermedad periodontal tras 6 meses de consumo de estatinas sistémicas presentan una mejor condición periodontal que aquellos que no consumieron.

2.2. Hipótesis artículo 2 “Atorvastatin-medicated dentifrice significantly inhibits CD4+ T cell proliferation.”:

2.2.1. Hipótesis nula (Ho): No existe una relación entre concentración de atorvastatina y proliferación de cultivo de Linfocitos TCD4+ en el grupo expuesto a gel o solución de atorvastatina.

2.2.2. Hipótesis alternativa (H1): Existe una relación inversa entre concentración de atorvastatina y proliferación de cultivo de Linfocitos TCD4+ en el grupo expuesto a gel o solución de atorvastatina.

2.3. Hipótesis artículo 3 “Short-term effects of 2% atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: A randomized double-blinda clinical trial.”

2.3.1. Hipótesis nula: En pacientes que recibieron terapia periodontal convencional no es eficaz la aplicación de un dentífrico gel medicado con atorvastatina al 2% durante un período de 4 semanas sobre la condición clínica periodontal comparado con placebo.

2.3.2. Hipótesis alternativa: En pacientes que recibieron terapia periodontal convencional es eficaz la aplicación de un dentífrico gel medicado con atorvastatina al 2% durante un período de 4 semanas sobre la condición clínica periodontal comparado con placebo.

# OBJETIVOS

**3. OBJETIVOS**

3.1. Objetivo general: Evaluar el efecto del uso de estatinas sistémicas y locales sobre la salud periodontal y sobre la respuesta inmune.

3.2. Objetivos específicos:

3.2.1. Evaluar tras 6 meses, la condición periodontal según el consumo de estatinas sistémicas en pacientes con enfermedad periodontal.

3.2.2. Evaluar la relación entre concentración de atorvastatina y proliferación de cultivo de Linfocitos TCD4+ en un grupo expuesto a gel o solución de atorvastatina.

3.2.3. Desarrollar un prototipo de dentífrico cuya composición tópica comprenda estatinas como el principal compuesto activo en diferentes formulaciones para la prevención o tratamiento de la enfermedad periodontal, complementando el tratamiento estándar de la enfermedad periodontal.

3.2.4. Gestionar la patente de un prototipo de dentífrico cuya composición tópica comprenda estatinas.

3.2.5. Evaluar la eficacia de la aplicación de un dentífrico gel medicado con atorvastatina al 2% durante un período de 4 semanas sobre la condición clínica periodontal comparado con placebo, en pacientes que recibieron terapia periodontal convencional.

# I NTRODUCCIÓN

#### 4. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es una patología inflamatoria crónica de los tejidos de soporte del diente, altamente prevalente, causada por microorganismos específicos, los cuales estimulan una respuesta inmuno-inflamatoria excesiva que produce una serie de enzimas y citoquinas pro-inflamatorias por parte del huésped, llevando a la destrucción del tejido periodontal (1–3). Esta respuesta inflamatoria, supone una carga considerable para el organismo y ha demostrado estar asociada a la inflamación sistémica (4,5). Es por esto que se ha puesto especial énfasis en la relación que existe entre la periodontitis y enfermedades sistémicas con un componente inflamatorio como la enfermedad cardiovascular. Uno de los factores de riesgo fuertemente relacionados con la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular es la alteración del perfil lipídico, es decir, las concentraciones elevadas de triglicéridos, colesterol total y LDL, y la disminución de los niveles de colesterol HDL. Un estado de hiperlipidemia supone un estado altamente pro-inflamatorio. Tal estado también está asociado con la patogénesis de la enfermedad periodontal (1,4).

Las estatinas se han convertido en uno de los medicamentos más prescritos en el mundo. Este tipo de fármacos es utilizado con éxito en el tratamiento de la dislipidemia y en la prevención de la enfermedad cardiovascular como accidentes cerebrovasculares y vasculopatías periféricas (4,6). En general, las estatinas disminuyen el colesterol total y el LDL y aumentan la concentración de HDL (7). Esta acción ocurre al ser las estatinas inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (4,7).

Además de su acción hipolipemiente, son conocidas sus propiedades pleiotrópicas, producidas de manera independiente al descenso del colesterol. Entre ellas encontramos: 1) propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras, 2) acción antitrombótica y antiproliferativa, 3) disminución de la disfunción endotelial y el estrés oxidativo, entre otras. Esta característica farmacodinámica ha llevado a sugerir su uso en diferentes enfermedades inflamatorias y en desórdenes de la inmunidad (6–8). Adicionalmente, se ha determinado que las estatinas pueden promover la diferenciación de los osteoblastos por la estimulación de la proteína morfogenética ósea

2 (BMP-2). También se ha informado que las estatinas aumentan el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), que se sabe estimula la formación ósea (9,10).

Debido a los efectos pleiotrópicos de las estatinas es posible proponer su uso potencial en la enfermedad periodontal. Varios estudios han demostrado mecanismos que podrían explicar el efecto protector del tratamiento con estatinas en la periodontitis, administrando éstas, tanto de manera sistémica como local (11–13). De esta manera, los tratamientos periodontales convencionales podrían adoptar un enfoque adicional al complementarlo con fármacos como las estatinas que disminuyan la inflamación a nivel local (5) y promuevan la formación ósea (4). Además, todas estas observaciones podrían dar nueva dirección en el campo de la regeneración periodontal, disminuyendo así, los procedimientos invasivos. Pero más importante aún, el uso de estatinas, podría contribuir en estrategias preventivas y terapéuticas, a fin de lograr controlar la enfermedad periodontal, que aún representa un serio problema de salud pública.

En la siguiente revisión bibliográfica se pretende responder la siguiente pregunta: ¿Qué efectos producen las estatinas en los tejidos periodontales?

#### 4.1. Enfermedad periodontal

##### 4.1.1. Definición

Las enfermedades periodontales son respuestas inmune-inflamatorias del huésped en el tejido periodontal frente a la placa subgingival organizada como *biofilm*. Las más prevalentes son la gingivitis y la periodontitis. La gingivitis se presenta como inflamación del periodonto de protección, sin pérdida de inserción (23). En cambio, la periodontitis se define como la presencia de inflamación gingival en sitios donde hay pérdida patológica de las fibras colágenas del cemento, con una migración apical del epitelio de unión y pérdida de hueso alveolar (23). En la mayoría de los pacientes la formación de sacos periodontales acompaña al desarrollo de la periodontitis (24).

##### 4.1.2. Epidemiología

Según un estudio que estimó la prevalencia, severidad y extensión de periodontitis en la población adulta de los EE.UU, más del 47% de los individuos presentó periodontitis. Entre

ellos, el 8,7 % fue diagnosticado con periodontitis leve, un 30% moderada, y el 8,5 % severa. Con respecto a la extensión de la enfermedad, el 56 % de la población adulta tuvo un 5% o más de sitios periodontales con pérdida de inserción  $\geq 3$  mm y el 18% presentaron un 5% de sitios con sacos periodontales  $\geq 4$  mm. La enfermedad periodontal fue mayor en hombres, americanos mexicanos, adultos con bajo nivel económico y educacional, y en los fumadores(25).

Por otro lado, en Chile la prevalencia de enfermedad periodontal es mayor. Un estudio realizado en el año 2010 demostró que el 93.45% de los individuos entre 35 y 44 años presentaron una pérdida de inserción  $\geq 3$  mm y en el 38.65% de ellos se observó una pérdida de inserción  $\geq 6$  mm en al menos un sitio. Esta prevalencia aumentó en los adultos mayores entre 65 y 74 años de edad, los que presentaron una pérdida de inserción  $\geq 3$  mm en un 97.58% y  $\geq 6$  mm en un 69.35% (26).

#### 4.1.3. Etiopatogenia de la enfermedad periodontal

La presencia de bacterias patógenas en una cantidad suficiente es fundamental para el inicio y progresión de la periodontitis. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Tannerella forsythia* (Tf), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) y *Prevotella intermedia* (Pi) son bacterias que se han relacionado fuertemente con la periodontitis (27).

La enfermedad periodontal es el resultado de la infección por bacterias subgingivales formadoras de placas seguido de las respuestas inmunes del huésped. Las bacterias inician y contribuyen a la progresión de la enfermedad periodontal a través de mecanismos directos e indirectos (28,29).

Los factores de virulencia de las bacterias actúan de manera directa por invasión de los tejidos produciendo sustancias nocivas que llevan a la muerte celular y de forma indirecta por la activación de células inflamatorias que son capaces de producir y liberar una serie de mediadores que actúan sobre efectores, con una potente actividad pro-inflamatoria (29). Dentro de los factores de virulencia bacteriana están la capacidad de invasión tisular, la producción de proteasas que degradan inmunoglobulinas, leucotoxinas y endotoxinas (16). Entre las endotoxinas se encuentran los lipopolisacáridos (LPS) que tienen la capacidad de activar a citoquinas pro-inflamatorias (30,31) y a

células del sistema inmune como los polimorfos nucleares neutrófilos, macrófagos y monocitos, que a su vez también secretan citoquinas (16).

Los neutrófilos son los primeros en llegar al sitio de infección y predominan en las primeras etapas de la inflamación, tanto en el epitelio de unión como en el del surco gingival, por esto tienen un rol fundamental en el control de infecciones periodontales. Estos son atraídos por péptidos quimiotácticos liberados por bacterias (32). La función principal de los neutrófilos es fagocitar y destruir a los microorganismos, inmunocomplejos y restos celulares (2). Cuando los neutrófilos se sobrecargan de bacterias, se produce una desgranulación de estos, lo que genera la liberación de productos tóxicos, como las especies reactivas de oxígeno, provocando daño en los tejidos periodontales (32). Por lo tanto, los neutrófilos pueden desempeñar un papel benéfico en la enfermedad periodontal reduciendo la carga bacteriana y así poder prevenir el establecimiento de la gingivitis (16,32). Sin embargo, al aumentar la carga bacteriana, estos no serán suficientes para eliminar la infección estableciéndose la gingivitis. En este caso la encía se ve roja, inflamada y con mayor tendencia de sangrado al sondaje. Esta etapa es reversible si la placa bacteriana es eliminada, de lo contrario puede evolucionar a periodontitis, en la cual se genera una destrucción de los tejidos periodontales tanto por parte de las bacterias como por parte del hospedero como respuesta a estos microorganismos que generan mayor destrucción (32).

El papel de la respuesta del huésped en la enfermedad periodontal es complejo. Existe evidencia de que una respuesta del huésped deficiente aumenta la destrucción periodontal y, al mismo tiempo, que una respuesta exagerada conduce a periodontitis (33).

Aunque el óxido nítrico endógeno local (NO) es parte de los mecanismos de defensa inmune del huésped frente a bacterias patógenas en la periodontitis, su mayor concentración puede activar enzimas pro-inflamatorias, tales como la ciclooxygenasa y metaloproteinasas, empeorando los daños en los tejidos periodontales, y la reabsorción del hueso alveolar (34). Por otro lado, las citoquinas pro-inflamatorias son parte integral en el proceso de la enfermedad, tanto en el inicio del proceso inflamatorio como en la posterior destrucción de los tejidos (33). Estas poseen propiedades inflamatorias,



hematopoyéticas, metabólicas e inmunomoduladoras y son producidas por distintos tipos celulares como monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos, neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos. Entre ellas se encuentran la interleuquina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 17 (IL-17), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), entre otras (3,35). Sin embargo existen citoquinas anti-inflamatorias como la IL-4 e IL-10, las cuales garantizan un periodonto sano (36).

Existe una fuerte evidencia de que la IL-1 juega un papel fundamental en la mediación de la pérdida ósea estimulada por patógenos periodontales (33). Por otro lado, se ha demostrado la habilidad de IL-6 para inducir reabsorción ósea, tanto de forma aislada como sinérgicamente con IL-1 $\beta$ . Esta reabsorción ósea probablemente sea debida a una estimulación y diferenciación por parte de la IL-6 a los precursores de osteoclastos (3). El factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) es una citoquina pro-inflamatoria e inmunomoduladora que tiene como principal función el reclutamiento y estimulación de neutrófilos y monocitos, junto con la inducción y regulación de mediadores de la inflamación (3). Su incremento en pacientes con periodontitis, está asociado a la destrucción y reabsorción ósea (3,33). Por su parte, la IL-17 induce la secreción de IL-6, IL-8 y prostaglandina E2 (PGE2), por lo tanto, desempeña un papel crucial en la regulación de la inflamación. También se ha visto que la IL-17 afecta a la actividad de osteoclastos y de ese modo podría mediar la reabsorción ósea (37).

Por lo tanto, estas citoquinas contribuyen a la reabsorción ósea, ya que pueden participar en el reclutamiento, la diferenciación, o la fusión de las células precursoras de osteoclastos o bien mejorar la supervivencia de los osteoclastos (33).

Durante una respuesta inflamatoria, las citoquinas mencionadas, alteran los niveles de expresión de la proteína ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa  $\beta$  (RANKL) en la superficie de los osteoblastos, el cual tiene su receptor activador de factor nuclear kappa  $\beta$  (RANK) en las células precursoras de osteoclastos. Además, RANKL se expresa en otras células, tales como fibroblastos, linfocitos T y B. Esta expresión es mayor en las células T (35). El proceso de formación y reabsorción ósea se produce específicamente gracias al sistema OPG/RANK/RANKL (38). Cuando RANKL se une a RANK se induce la diferenciación de los pre-osteoclastos a osteoclastos maduros, los que

tienen como función la reabsorción ósea (35). La osteoprotegerina (OPG), molécula inhibitoria de este sistema, es expresada principalmente por los osteoblastos y posee gran afinidad por el RANKL, al unirse a esta molécula, evita la unión RANKL-RANK inhibiendo la reabsorción ósea (38).

Durante la periodontitis activa, la degradación de los tejidos gingivales (principalmente colágeno) se debe en parte a las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) expresadas por las células inflamatorias (monocitos, macrófagos, neutrófilos y linfocitos) y por las células residentes como fibroblastos, células epiteliales y células endoteliales (39). Además, citoquinas pro inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  promueven la liberación de MMPs (3). La actividad proteolítica de MMPs está bajo el control de inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs), encargados de inhibir su acción. El desbalance entre las MMPs y TIMPs produce un aumento en la degradación de la matriz extracelular y por lo tanto de tejido periodontal (39). Las principales MMPs involucrada en la degradación de la matriz extracelular gingival durante la periodontitis son MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9 y MMP-13 (39–41).

#### 4.1.4. Relación entre la enfermedad periodontal y cardiovascular

Tanto la periodontitis como la enfermedad cardiovascular son de origen multifactorial, e implican una serie de factores de riesgo, algunos de los cuales son comunes a ambas enfermedades (tabaco, diabetes) (42). La inflamación crónica se ha implicado en la etiología de la enfermedad cardiovascular, y los estudios epidemiológicos han demostrado que marcadores inflamatorios están relacionado con la disfunción endotelial, que se observa en las primeras etapas del proceso aterogénico (43). Por lo tanto, estudios se han centrado en determinar si la enfermedad periodontal, como un trastorno inflamatorio crónico, se asocia de manera independiente con la enfermedad cardiovascular(43).

Se han propuesto dos mecanismos que vinculan la enfermedad periodontal con aterosclerosis. 1) Vía directa: se ha demostrado la invasión de periodontopatógenos como *P. gingivalis* en células endoteliales y de músculo liso. 2) Vía indirecta: Los pacientes con enfermedad periodontal presentan un incremento de los niveles séricos

de marcadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno, IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ . A su vez, tales marcadores se correlacionan con un aumento del riesgo cardiovascular (44–47). Por otro lado, estudios demuestran que el tratamiento periodontal no quirúrgico reduce significativamente las concentraciones en suero de PCR (45,48) y las concentraciones de lípidos en pacientes con dislipidemia. Esta mejoría ocurren por lo general luego de 6 meses del tratamiento (42).

## 4.2. Estatinas

### 4.2.1. Historia

En el año 1976, se aisló la primera estatina a partir del hongo, *Penicillium citrinum*, y se identificó como un inhibidor de la biosíntesis del colesterol (15). La primera estatina estudiada en seres humanos fue el *compactin* cuyo nombre fue cambiado a mevastatina, la cual demostró un potencial terapéutico para esta clase de fármacos. Lovastatina fue la primera estatina comercial, aislada a partir del hongo *Aspergillus terreus* (15). Su uso fue aprobado en seres humanos en 1987. Otras estatinas, como pravastatina y simvastatina, son derivados de la lovastatina, pero modificados químicamente. Además, se han desarrollado compuestos sintéticos estructuralmente diferentes pero con el mismo mecanismo de acción como: Atorvastatina, fluvastatina y rosuvastatina. Recientemente, ha sido comercializada una octava estatina: la pitavastatina (15,49,50).

### 4.2.2. Tipos de estatinas

En la actualidad, se encuentran comercialmente disponibles dos subtipos de estatinas: las estatinas naturales (derivadas de la fermentación de hongos) y las sintéticas. Las moléculas derivadas de la fermentación, incluyendo simvastatina y pravastatina, tienen una estructura química similar. En contraste, la estructura de las estatinas sintéticas, incluyendo la atorvastatina, fluvastatina, rosuvastatina y pitavastatina, son muy diferentes (51). La potencia del fármaco se puede aumentar mediante la alteración de la composición química básica de la molécula mevastatina (51). Por otro lado, las estatinas difieren en su lipofilia / hidrofilia, lo que refleja su potencial para atravesar las membranas celulares de forma no selectiva mediante difusión pasiva. De esta manera las estatinas

lipofílicas, tales como simvastatina, atorvastatina, lovastatina, fluvastatina y pitavastatina atraviesan fácilmente la membrana celular para entrar en las células, pero las estatinas hidrofílicas tales como pravastatina y rosuvastatina pueden basarse en mecanismos de transporte específicos en las células hepáticas para la entrada en estas células (4).

### 4.2.3. Mecanismo de acción

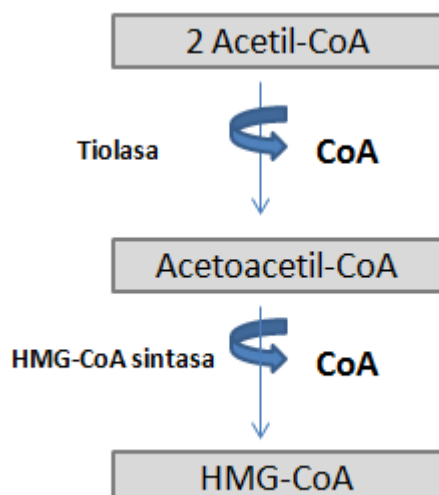
#### 4.2.3.1. Colesterol

El colesterol, esteroide hidrófobo, cumple funciones esenciales en el organismo. Es un componente estructural de todas las membranas celulares, en las que actúa modulando la fluidez, además es precursor de ácidos biliares, hormonas esteroideas y vitamina D. El colesterol se sintetiza prácticamente en todos los tejidos humanos, principalmente en el hígado, intestino y corteza suprarrenal. Cuando existe un desequilibrio entre la entrada y salida de colesterol, este se deposita gradualmente en los tejidos, especialmente en los revestimientos endoteliales de los vasos sanguíneos, aumentando el riesgo de producir aterosclerosis (14).

#### 4.2.3.2. Síntesis de colesterol

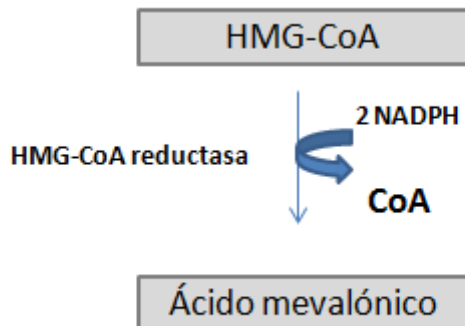
En primer lugar se condensan 2 moléculas de acetil-CoA para formar acetoacetil-CoA, posteriormente se añade una tercera molécula de acetil-CoA, produciendo 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), a partir de la enzima citosólica HMG-CoA sintetasa del parénquima hepático (14) (Ilustración 1).

Ilustración 1: Primera etapa de la síntesis del colesterol (11)



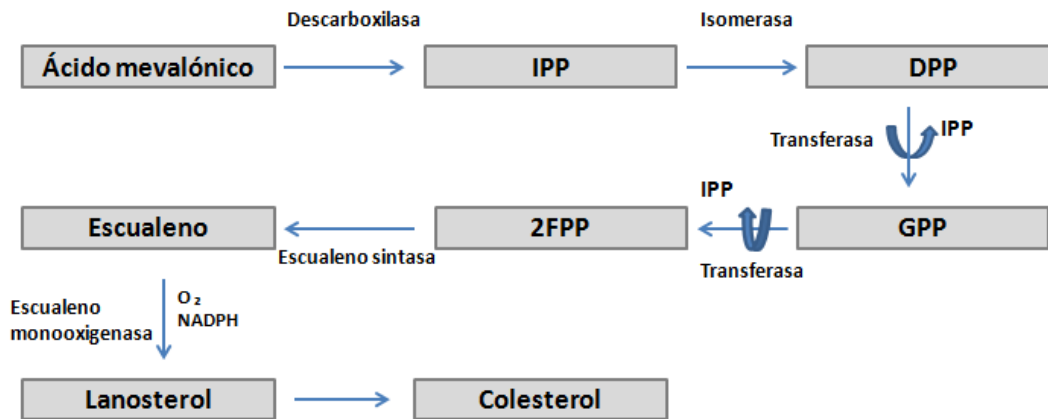
En una segunda etapa la enzima HMG-CoA reductasa, proteína intrínseca de la membrana del retículo endoplasmático, cataliza la reducción de HMG-CoA a ácido mevalónico. Esta etapa se desarrolla en el citosol, utilizando dos moléculas de NADPH como agente reductor, liberando CoA (14) (Ilustración 2).

Ilustración 2: Segunda etapa de la síntesis del colesterol (11)



A partir del ácido mevalónico se generan una serie de reacciones que llevan a la síntesis del colesterol. Primero se forma el isopentil pirofosfato (IPP) un precursor de una familia de moléculas con diversas funciones, los isoprenoides. Este IPP se isomeriza para dar 3,3-dimetilalil pirofosfato (DPP), ambos se condensan y forman geranil pirofosfato (GPP). Posteriormente una segunda molécula de IPP se condensa con GPP para formar farnesil pirofosfato (FPP), luego se combinan 2 moléculas de FPP con liberación de pirofosfato y se reducen formando el escualeno. El escualeno se convierte en el esteroil lanosterol mediante una secuencia de reacciones que utiliza oxígeno molecular y NADPH. Posteriormente lanosterol se convierte a colesterol en un proceso de múltiples reacciones enzimáticas (14) (Ilustración 3).

Ilustración 3: Tercera etapa de la síntesis del colesterol (11)



El punto de control más importante en la biosíntesis del colesterol es la enzima limitante de velocidad, HMG-CoA reductasa, la cual está sujeta a diferentes tipos de control metabólico: 1) La expresión del gen de esta enzima se activa cuando los niveles de colesterol son bajos, produciendo un aumento de la enzima y por consiguiente de síntesis de colesterol; 2) La actividad de la HMG-CoA reductasa está controlada covalentemente por acción de la proteincinasa activada por monofosfato de adenosina (AMP) y de fosfoproteínfosfatasa. La forma fosforilada de la enzima es inactiva, mientras que la desfosforilada es activa; 3) La cantidad de enzima también está controlada por hormonas, la insulina favorece la expresión del gen de la HMG-CoA reductasa, mientras que el glucagón causa el efecto contrario(14).

#### 4.2.3.3. Lipoproteínas

Los lípidos, tales como fosfolípidos, triglicéridos y colesterol, al no ser solubles en un medio acuoso como el plasma, se unen a proteínas específicas (apoproteínas) para formar las lipoproteínas y poder así circular en sangre (52). Las lipoproteínas son macromoléculas que poseen una determinada densidad y composición química, dentro de las cuales encontramos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad o

LDL, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL y quilomicrones) y lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) (52).

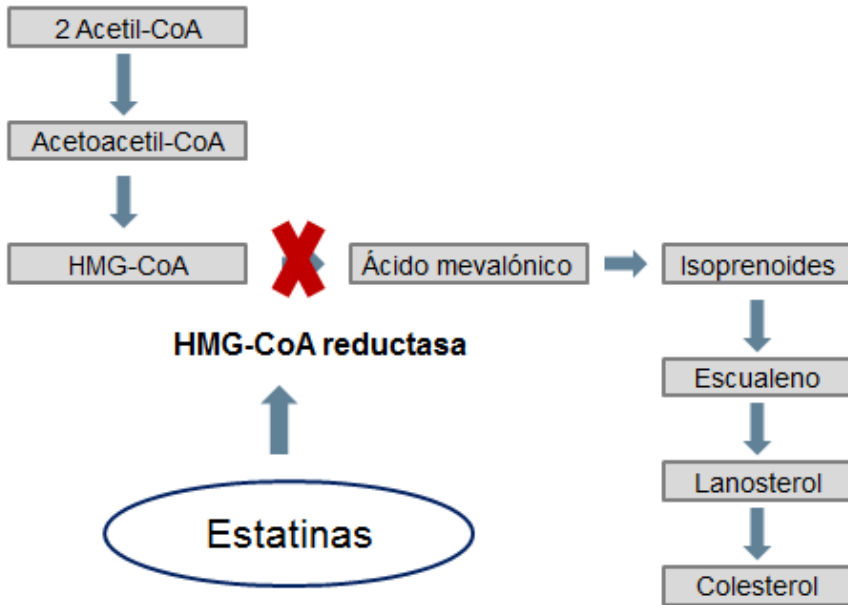
La lipoproteína HDL interviene en el transporte reverso del colesterol, proceso mediante el cual el colesterol es transportado desde los tejidos periféricos hacia el hígado para su catabolismo y excreción. La apoproteína A1 (ApoA1) constituye el 70 % de las HDL lo cual le confiere propiedades antioxidantes que previenen la oxidación de las LDL, así como propiedades antiinflamatorias entre las que se incluye la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión endotelial (53). Por otro lado, las VLDL sintetizadas en el hígado transportan el lípido triacilglicerol desde el hígado a los tejidos periféricos donde es degradado, por lo que las VLDL reducen su tamaño y aumentan su densidad convirtiéndose en LDL en el plasma. Durante esta transición se observan partículas de tamaño intermedio (IDL). Las partículas de LDL presentan una alta concentración de colesterol, por lo que su función principal consiste en suministrar colesterol a los tejidos periféricos o bien devolverlo al hígado, tras la unión de LDL a receptores LDL se internaliza en la célula por endocitosis(14).

Cuando las lipoproteínas están presentes en grandes cantidades en el plasma, se asocian con un mayor riesgo de cardiopatías coronarias.

#### 4.2.3.4. Mecanismo de acción de estatinas

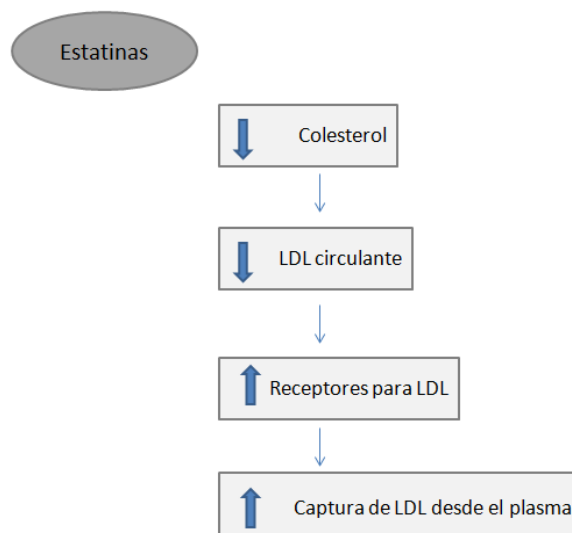
Las estatinas poseen una molécula parecida al ácido mevalónico que inhibe de manera competitiva y reversible a la HMG-CoA reductasa uniéndose al sitio activo de ésta (7,15). Así al disminuir la conversión de HMG-CoA en mevalonato, inhiben un paso temprano que limita el ritmo de biosíntesis de colesterol (15) (Ilustración 4).

Ilustración 4: Mecanismo de acción de estatinas (52)



Debido a la disminución del colesterol, se produce un aumento de la expresión de receptores de LDL en la superficie del hepatocito, aumentando la eliminación de LDL desde la sangre, lo que disminuye las concentraciones de colesterol LDL (c-LDL) (15,54) (Ilustración 5). La reducción de VLDL hepática inducida por estatinas es mediada por síntesis disminuida de colesterol, componente necesario de VLDL. Este mecanismo también provoca la disminución de triglicéridos. Algunas estatinas, administradas en altas concentraciones, también están indicadas para aumentar el colesterol-HDL (c-HDL)(15).

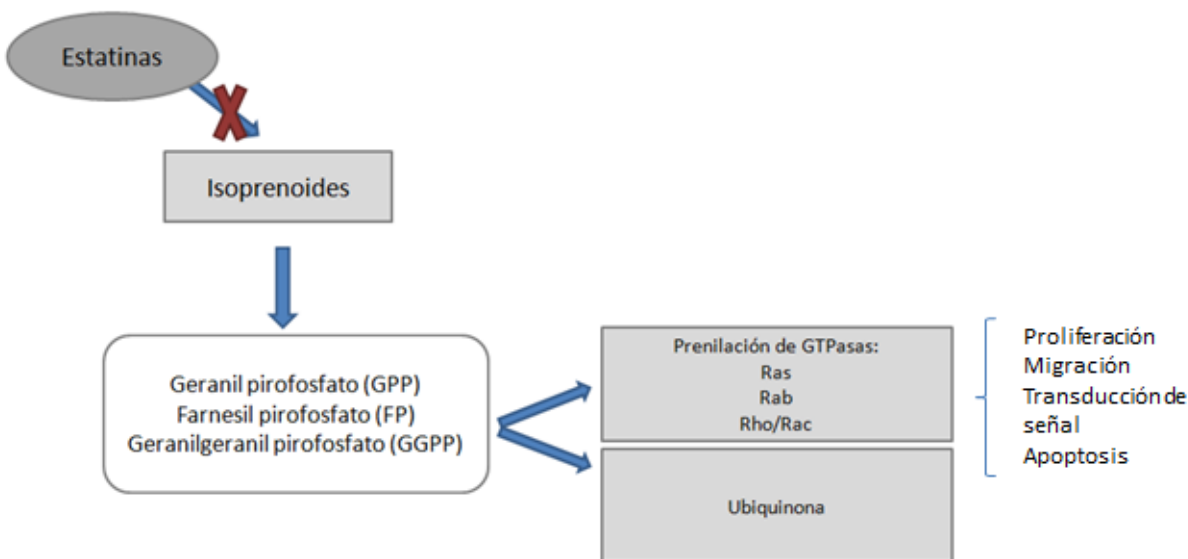
Ilustración 5: Acción de estatinas sobre LDL (54)





Además de disminuir la síntesis del colesterol, las estatinas reducen la síntesis de nanoesteroides isoprenoides originados del mevalonato, que son compuestos intermediarios en la síntesis endógena del colesterol ( FPP, GPP y la ubiquinona) (7). Una de las familias de moléculas que es blanco de la prenilación por estos isoprenoides, es la de las pequeñas proteínas unidoras de trifosfato de guanosina (*Guanosine Triphosphate*, GTP), a la cual pertenecen varias subfamilias de proteínas de señalización intracelular, como las Rab, Ras, Rac y Rho GTPasas. Estas GTPasas participan en varios procesos intracelulares de señalización, con repercusiones en la funcionalidad de las células del sistema inmunitario (55). Además, la GTP son proteínas que están involucradas en los mecanismos de regulación de la transducción de señal, proliferación de las células del músculo liso vascular, apoptosis y regulación de la actividad vascular de la NAD(P)H oxidasa (7) (Ilustración 6).

Ilustración 6: Acción de estatinas sobre isoprenoides (3,52)



#### 4.2.4. Farmacocinética

Después de su administración oral, la absorción intestinal varía entre 30 y 85% (15). La pitavastatina se absorbe de forma amplia (80%) sin interacciones con los alimentos, al igual que la simvastatina y la rosuvastatina. Los alimentos disminuyen la biodisponibilidad de atorvastatina, fluvastatina y pravastatina, en cambio, aumentan la biodisponibilidad de la lovastatina en un 50% (56). Todas las estatinas actúan rápidamente inhibiendo la HMG-CoA reductasa en pocas horas, consiguiendo más del 90% del efecto reductor de c-LDL en 4 semanas de tratamiento (56). Con excepción de la simvastatina y lovastatina todas las estatinas se administran en la forma de hidroxíácido  $\beta$  la cual inhibe a la HMG-CoA reductasa. Simvastatina y lovastatina se administran como lactonas inactivas que deben transformarse en el hígado en sus hidroxíácidos  $\beta$  respectivos (Simvastatina y lovastatina ácida). Todas las estatinas sufren una captación hepática de primer paso extensa, por el sistema enzimático microsomal del citocromo P450 (57), pero difieren los mecanismos por los que ingresan al hígado. La captación de atorvastatina, pravastatina y rosuvastatina es mediada por el transportador 2 de aniones orgánicos. Se piensa que las formas de lactona altamente lipofílicas de simvastatina y lovastatina penetran al hígado por difusión simple. Debido a la captación hepática de primer paso extensa, la biodisponibilidad generalizada de las estatinas y sus metabolitos terapéuticos varía entre 5 y 30% de la dosis administrada. Con excepción de fluvastatina y pravastatina, los metabolitos de todas las estatinas tienen cierta actividad inhibidora de la HMG-CoA reductasa (15). En el plasma, más del 95% de las estatinas y sus metabolitos están unidos a proteínas con excepción de la pravastatina y sus metabolitos que están unidas en un 50%. Sin embargo la pitavastatina presenta un mínimo metabolismo hepático, lo que contribuye a una semivida prolongada y a una alta biodisponibilidad mayor al 60%, a diferencia del resto de estatinas, que presentan muy baja biodisponibilidad sistémica (15,56).

Las concentraciones en plasma de las estatinas llegan al máximo entre 1 a 4 horas después de una dosis oral. El hígado biotransforma todas las estatinas y más del 70% de los metabolitos de las estatinas se excretan por el hígado con eliminación subsecuente en las heces (15).

#### 4.2.5. Acción en enfermedades cardiovasculares

Las estatinas son los compuestos más eficaces y mejor tolerados para el tratamiento de la dislipidemia. Estas se han prescrito tanto a pacientes con hiperlipidemia, como en aquellos que presentan niveles normales o bajos, pero con riesgo aumentado (3). En general, las estatinas disminuyen el colesterol total y el LDL y aumentan la concentración de HDL (4,6,7). Esta reducción en los niveles de colesterol total y LDL, es clínicamente importante porque consigue disminuir la morbilidad y la mortalidad asociadas a la enfermedad coronaria en el 30-35 % (58). Es muy probable que buena parte de la actividad hipolipemiente de las estatinas redunde en su capacidad de reducir las lesiones ateroscleróticas de ciertos vasos, muy en particular las coronarias. De hecho, consiguen reducir la velocidad de progresión de las lesiones ateroscleróticas y, en ocasiones, incluso invertir el estrechamiento de los vasos coronarios. Todos estos efectos repercuten favorablemente en la evolución de los enfermos con aterosclerosis coronaria (58).

#### 4.2.6. Posología

La eficacia terapéutica de las estatinas como hipolipemiantes se puede medir de forma objetiva a través de parámetros analíticos como triglicéridos (TG), colesterol LDL (C-LDL), colesterol HDL (C-HDL) y colesterol total (CT). La reducción del LDL es el objetivo principal en el tratamiento de las dislipidemias, por su relación directa con el riesgo cardiovascular (RCV). En función de este se establecen objetivos terapéuticos, que definirán el fármaco a elegir y su posología. Se ha elaborado una propuesta de la posología de las diferentes estatinas que puede ser necesaria para reducir el LDL en un determinado valor porcentual. En la tabla 5 se presentan los porcentajes de descenso de LDL para cada dosis de estatina (49).

Tabla 1: Porcentajes de descenso de LDL para cada dosis de estatina (49).

Descenso LDL	Atorvastatina	Fluvastatina	Lovastatina	Pitavastatina	Pravastatina	Rosuvastatina	Simvastatina
Descenso $\leq$ 19%					5 mg		
Descenso 20-23%			10 mg		10 mg		5 mg
Descenso 24-28%		20 mg	20 mg		20 mg		10 mg
Descenso 29-35%	5 mg	20 mg	40 mg	1 mg	40 mg		20 mg
Descenso 36-41%	10 mg			2 mg		5 mg	40 mg
Descenso 42-46%	20 mg			4 mg		10 mg	80 mg
Descenso 47-50%	40 mg					20 mg	
Descenso 51-54%	80 mg					20-40 mg	
Descenso 55-57%						40 mg	
Descenso 58-62%						80 mg	

En general la administración de estatinas presenta una disminución superior al 20% en el LDL. La dosis mínimas de estatinas que han demostrado un beneficio en la prevención de la enfermedad cardiovascular son: atorvastatina 10 mg/día, simvastatina 20-40 mg/día, lovastatina 20-40 mg/día y pravastatina 40 mg/día. Sin embargo utilizar dosis más elevadas de estatinas que produzcan mayor reducción del LDL obtendrá mejores resultados. Adicionalmente las estatinas aumentan el HDL entre el 5 y 9% y reducen los triglicéridos habitualmente entre el 10 y 15%, pero puede llegar a producir una reducción de hasta un 30% utilizando dosis de atorvastatina de 40 a 80 mg/día (50).

#### 4.2.7. Prescripción de estatinas

Las estatinas se administran en dosis única diaria. La elección de la estatina más adecuada ha de venir determinada por el nivel de C-LDL objetivo (49). Por otro lado, el uso de estatinas está contraindicado en pacientes con enfermedad hepática activa, incluyendo elevaciones inexplicables y persistentes de las transaminasas (49). Se deben realizar pruebas de función hepática antes de iniciar el tratamiento con estatinas, cuando se produzcan cambios de dosis y cambio de fármaco (49). Es necesario que durante el tratamiento haya una monitorización de signos y síntomas de toxicidad muscular (49). Además, es de suma importancia que siempre que se prescriba una estatina o se sustituya por otra se deben analizar los fármacos adicionales coadministrados, debido al riesgo de interacciones con relevancia clínica (49).

#### 4.2.8. Efectos extra-lipídicos o Efectos pleiotrópicos

Las estatinas actúan por diferentes mecanismos, esto le confiere variadas acciones farmacológicas (7). Al inhibir la HMG-CoA reductasa, se disminuyen las concentraciones del mevalonato, el cual es un intermediario de los isoprenoides: farnesilpirofosfato y geranylgeranylpirofosfato (6). Estos intermediarios, convierten proteínas citoplásmicas no funcionales, como la Rho y Ras, en proteínas funcionales translocadas a la membrana celular. La Rho activa ejerce múltiples efectos: inhibe la óxido nítrico sintetasa endotelial y activa el factor de transcripción nuclear kappa  $\beta$  , que a su vez estimula genes inflamatorios y la producción de citoquinas (8), es por esto que la inhibición de la HMG-CoA reductasa resulta en efectos pleiotrópicos, además de los hipolipemiantes (6,9,10).

Se ha documentado una gran variedad de efectos pleiotrópicos, estos incluyen: mejoría de la disfunción endotelial, incremento en la biodisponibilidad del óxido nítrico, efectos antioxidantes, antitrombóticos, propiedades anti-inflamatorias e inmunosupresoras, estabilización de las placas ateroscleróticas entre otros adicionales de interés, que incluyen la capacidad de reclutar células progenitoras endoteliales, una inhibición de la hipertrofia ventricular, la inhibición del crecimiento tumoral y metástasis, la promoción de la angiogénesis, disminución de péptido beta-amiloide, supresión de los linfocitos T (6,9,10). En particular, las estatinas pueden promover la diferenciación de los osteoblastos causadas por la estimulación de la proteína morfogenética ósea 2 (BMP-2).

También se ha informado que las estatinas aumentan el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), que se sabe, estimula la formación ósea (6,9,10).

Esta característica farmacodinámica podría explicar los beneficios de las estatinas en diferentes enfermedades que se centran en la inflamación, desordenes de la inmunidad y en la proliferación celular, tales como aterosclerosis, hipertensión arterial, diabetes mellitus, estenosis aortica, psoriasis, esclerosis múltiple y rechazo post-trasplante, además de la enfermedad de Alzheimer, osteoporosis, artritis reumatoide, cáncer y en procesos infecciosos (6,9,10). Las estatinas también han demostrado ser eficaces en la reducción de riesgo de accidentes cerebrovasculares y vasculopatías periféricas (7). Tales efectos se producen tanto en pacientes con cifras elevadas de colesterol LDL como en aquellos que presentan niveles normales o bajos, pero con riesgo aumentado en alguna patología (7).

A continuación se revisaran los principales efectos pleiotrópicos de las estatinas que podrían estar relacionados con la enfermedad periodontal:

#### 4.2.8.1. Efecto anti-inflamatorio

En modelos de inflamación aguda y crónica, las estatinas inhiben la adhesión endotelial y la migración transendotelial de los leucocitos a los sitios de inflamación, actuando tanto sobre células endoteliales como sobre leucocitos. Las estatinas modulan funciones de macrófagos mediante la inhibición de la activación de mediadores de respuesta inflamatoria, tales como la interleuquina (IL)-1 $\beta$  e IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). Además, reduce los niveles de MMPs -2,-9 (59) y la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) (60) Estas acciones antiinflamatorias de las estatinas se atribuyen a su capacidad para modular las vías de transducción de señal de activación de factores de transcripción pro-inflamatorios, tales como el factor nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$   $\beta$ ) (59).

Estudios han demostrado que las estatinas regulan la adhesión celular inflamatoria. La fluvastatina inhibe la expresión de ICAM-1 (*Intercellular Adhesion Molecule-1*) en monocitos humanos (61) y la cerivastatina impide que lipopolisacáridos (LPS) induzcan la expresión de ICAM-1 en las células endoteliales a través de la inhibición de la actividad de Rho (62). También se ha demostrado que atorvastatina y simvastatina reducen los

niveles plasmáticos de ICAM-1, VCAM-1, E-selectina y P-selectina en los pacientes con enfermedad de la arteria coronaria (63). Este efecto de las estatinas sobre las moléculas de adhesión es visible tras apenas 18 horas de la administración de simvastatina, lo cual afirma que el efecto es independiente de la disminución del colesterol plasmático (10).

Después de la adhesión, los monocitos entran en la pared arterial en un proceso impulsado por las moléculas quimiotácticas. Inhibidores de la HMG-CoA reductasa han demostrado que interfiere ampliamente con este paso. Se ha demostrado que lovastatina disminuye la adherencia de los monocitos con la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) (64,65). En un modelo de conejo de aterosclerosis, la atorvastatina redujo la expresión de MCP-1 y la interleuquina-8 (IL-8). Como consecuencia de ello, hubo una reducción en la infiltración de macrófagos y la expresión de MMP-3. El mecanismo de la reducción de la expresión de MCP-1 e IL-8 parece deberse a una disminución en la activación del factor nuclear kappa  $\beta$  (NF-kappa  $\beta$ ) (65).

Por otra parte, la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2), enzima que produce prostaglandina a partir del ácido araquidónico, también se redujo con el tratamiento de estatinas (66).

Además, se ha demostrado que las estatinas reducen la expresión de MMP-1, -3 y -9, disminuyendo la actividad proteolítica de las MMP. Por lo tanto, inhibidores de la HMG-CoA reductasa no sólo disminuyen los macrófagos que se infiltran en la pared vascular, sino que también reducen la capacidad de estas células inflamatorias para producir las MMP (65).

Existe evidencia contundente que afirma que la terapia con estatinas podría atenuar el efecto de la inflamación sobre el riesgo de eventos cardiovasculares al reducir la PCR sérica, esta proteína es liberada por el hígado en respuesta a citoquinas pro inflamatorias tales como la interleuquina-6 (6,7,9,51).

#### 4.2.8.2. Efecto Inmunomodulador

Las GTPasa, moléculas que son blanco de la prenilación por isoprenoides, participan en varios procesos intracelulares de señalización, con repercusiones en la funcionalidad de

las células del sistema inmunitario al intervenir directamente en procesos como la motilidad y morfología de los leucocitos, el transporte intracelular de vesículas exocíticas y endocíticas, la fagocitosis y lisis de los microorganismos, el procesamiento y presentación de los antígenos, la activación y proliferación de los linfocitos, la función adhesiva y pro-inflamatoria del endotelio y las plaquetas, y la secreción de quimioquinas y otras citoquinas. Así, al inhibir la síntesis de los isoprenoides, las estatinas modulan la prenilación de proteínas y su función, lo que afecta procesos muy importantes en el desarrollo de la respuesta inmunitaria (55).

Las estatinas ejercen efectos inmunomoduladores mediante diversos mecanismos que incluyen: 1) reducen la expresión en la superficie celular de los microdominios estructurales denominados "balsas de lípidos", dominios que constituyen una especie de plataforma en la que convergen grupos de proteínas importantes para la activación y señalización celular, disminuyendo el reclutamiento de moléculas de comunicación intercelular en esos dominios; 2) inhiben la señalización intracelular; 3) suprimen la secreción de citoquinas pro-inflamatorias y la expresión de moléculas de adhesión y coestimuladoras; 4) alteran la capacidad de las células dendríticas para inducir proliferación y activación de células T, entre otros (55).

Además, las estatinas bloquean la adhesión de los linfocitos mediada por *Lymphocyte Function-associated Antigen-1* (LFA-1), una integrina beta 2 expresada en la superficie de los leucocitos que se une a ICAM-1(65), esta interacción es crucial para estabilizar el contacto entre la célula T y una célula presentadora de antígenos, y para regular el tráfico de leucocitos durante condiciones homeostáticas e inflamatorias (55).

Las estatinas también tiene un efecto como represor efectivo de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II) dependiente de linfocitos T en las células endoteliales, respetando la expresión constitutiva en las células presentadoras de antígeno, fenómeno dependiente de una inadecuada geranilgeranilación de las Rho GTPasas que impide la actividad normal del citoesqueleto (9,55). Este efecto ha permitido que las estatinas se recomienden luego del trasplante de órganos y en el tratamiento de otro tipo de enfermedades donde exista una expresión "aberrante" de



MCH-II tales como diabetes mellitus, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis y enfermedades inflamatorias crónicas como la aterosclerosis (16).

#### 4.2.8.3. Efecto Antibacteriano

Los efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios mencionados han llevado a realizar investigaciones sobre los efectos de las estatinas en procesos infecciosos (6). Estudios experimentales en roedores con sepsis, han demostrado un aumento de la supervivencia cuando se les administró atorvastatina, simvastatina o pravastatina, en comparación con placebo (68). Por otra parte, en humanos, un estudio realizado con voluntarios sanos, comparó la activación de los receptores tipo *Toll* de los monocitos, posterior a la inoculación de lipopolisacárido en sujetos a los que se les administró previamente simvastatina (80mg) o placebo. Este estudio demostró una menor activación de dichos receptores en los sujetos que tomaron simvastatina, y con ello, una reducción en las citoquinas efectoras (69).

La evidencia científica actual demuestra que el uso de estatinas se asocia con un menor riesgo de hospitalización por sepsis y una menor incidencia de ella en pacientes con enfermedad cardiovascular (70), además de un menor riesgo de presentar sepsis severa en pacientes con infección bacteriana aguda (71). Un estudio de cohorte, mostró una reducción significativa en la mortalidad por bacteremia en sujetos que estaban recibiendo estatinas, en comparación con el grupo control. Además, la mortalidad fue aún menor en pacientes quienes continuaron su tratamiento con estatinas después del diagnóstico de bacteremia (1,8% contra 18,3%  $p=0,0002$ ) (72).

#### 4.2.8.4. Efecto en el metabolismo óseo

En 1999 se reportó por primera vez que las estatinas (simvastatina y lovastatina) estimulan *in vivo* la formación ósea en ratas e incrementan *in vitro* el volumen de nuevo hueso, cuando se inyectan por vía subcutánea en la bóveda craneal de roedores. Esta acción se debe a que las estatinas tienen la capacidad para estimular la proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2), la cual promueve la diferenciación de osteoblastos (73). Posteriormente se reportó que estatinas lipofílicas como simvastatina y mevastatina mejoran la expresión de BMP-2 ARNm y su proteína en células de osteosarcoma humano.

Además, encontraron que las estatinas hidrofílicas tales como pravastatina no tienen la capacidad de inducir la expresión de BMP-2 en osteoblastos. Estas observaciones apoyan la idea de que la lipofilia de las estatinas es importante en la obtención de efectos pleiotrópicos como la formación ósea (74).

Otras investigaciones indican que simvastatina mejora la actividad de la fosfatasa alcalina y la mineralización en dosis y tiempo dependiente (75). También se ha demostrado que simvastatina y cerivastatina regulan la función de los osteoblastos mediante el aumento de la expresión de la sialoproteína ósea (BSP), osteocalcina (OCN), y el colágeno tipo I y además, por suprimir la expresión génica de colagenasas tales como MMP-1 y MMP-13 (76).

Adicionalmente, estatinas lipofílicas (simvastatina, atorvastatina y cerivastatina), pero no la, pravastatina (hidrofílica), mejoran notablemente la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), un factor anabólico óseo, en los osteoblastos, a través de reducción de prenilación de proteínas (77).

Por otro lado, estudios demuestran que las estatinas parecen aumentar modestamente la densidad mineral ósea (DMO) de hueso esponjoso de las ratas ovariectomizadas (OVX) (51). Por su parte, se ha demostrado que las estatinas inhiben la reabsorción ósea suprimiendo la actividad de los osteoclastos (78).

El efecto *in vivo* de la simvastatina sobre la promoción de la osteogénesis alrededor de implantes de titanio se demostró en un estudio histológico en ratas de edad avanzada. La administración intraperitoneal de simvastatina ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) durante 30 días aumenta tanto la relación de contacto con el hueso para el implante de titanio y la densidad ósea alrededor del implante, lo que sugiere que las estatinas tienen el potencial de mejorar la oseointegración (79).

El efecto de aumento de la formación de ósea, parece depender de la inhibición de la síntesis de intermediarios isoprenoides de la vía del mevalonato que son críticos para la modificación postraducciona de varias proteínas, incluyendo la pequeña proteína de unión GTP Ras o Rho (51).

Sin embargo, en estudios clínicos, se han producido resultados contradictorios con respecto a los beneficios clínicos de estatinas para el tratamiento de la osteoporosis. Los estudios observacionales sugieren una asociación entre el uso de estatinas y la reducción del riesgo de fracturas. A pesar de esto, los ensayos clínicos no informaron efectos del tratamiento con estatinas en la DMO de cadera y columna vertebral (51). Además, una revisión sistemática, que incluyó datos de 3.022 mujeres postmenopausicas, no apoya el papel de las estatinas en la prevención de fracturas o aumento de la densidad ósea (57).

#### 4.2.9. Efectos adversos

En general las estatinas son fármacos seguros utilizados a largo plazo, sin embargo presentan dos tipos de reacciones adversas, la miotoxicidad y la hepatotoxicidad, las cuales son infrecuentes, pero pueden llegar a ser graves (50).

La miotoxicidad se presenta con manifestaciones clínicas inespecíficas, los dolores musculares constituyen uno de los motivos de consulta más frecuente y existe una potencial letalidad si el diagnóstico se retrasa (50). Las estatinas pueden ocasionar dolores y debilidad muscular sin elevación de la creatinquinasa, lo que se denomina habitualmente como mialgias, presentando una frecuencia del 5%, por otro lado, puede producir una elevación asintomática de la creatinquinasa (50). Entre un 0.08 a un 0.09% de los pacientes tratados con estatinas presenta miositis, la cual se define cuando coexiste la sintomatología muscular y una elevación de la creatinquinasa, siendo grave cuando supera 10 veces el límite superior de la normalidad (50). La miositis se caracteriza por fiebre y malestar general, asociados con niveles séricos elevados de estatinas (80). Si la miositis no es reconocida y se continúa con la droga, se puede producir rabdomiolisis, enfermedad aguda, fulminante y potencialmente letal, caracterizada por la presencia de síntomas musculares, mioglobinemia, mioglobinuria, además de una elevación de la creatinquinasa (generalmente más de 100 veces el límite superior de la normalidad) y la presencia de afectación orgánica, típicamente insuficiencia renal aguda. Estos casos son extremadamente raros, presentándose menos de un caso por millón de prescripciones (50,80). Sin embargo, rabdiomiolisis aumentó entre 16 y 80 veces más en usuarios de cerivastatina, lo que llevo a retirarla del mercado el año 2001(50). La

toxicidad muscular ocurre más frecuentemente cuando las estatinas son utilizadas en altas dosis, o en tratamiento combinado con otros fármacos que utilizan fundamentalmente el citocromo P450 (CYP) para su metabolismo, presumiblemente porque inhiben el metabolismo de las estatinas e incrementan su concentración sanguínea (80). Estos medicamentos incluyen ciclosporina, eritromicina, claritromicina, nefazodona, antifúngicos azólicos, inhibidores de la proteasa, y mibefradil (con lovastatina y simvastatina) (15,80). Además, la asociación de estatinas y fibratos provoca un aumento del riesgo de miositis de un 0.12% hasta un 5% (50). Por otra parte, determinadas condiciones clínicas, tales como insuficiencia renal, diabetes, disfunción hepática, hipotiroidismo, edad avanzada y la infección grave pueden producir toxicidad muscular inducida por estatinas (50,80,81).

Por otro lado, las estatinas pueden producir una elevación de tres veces el límite superior a la normalidad de las transaminasas en pacientes tratados con estatinas, lo que ocurre entre un 0,5% a 2% de casos y está directamente relacionada con la dosis (50). Si esto ocurre la droga debe ser suspendida ya que la hipertransaminemia es reversible con la suspensión del fármaco y los niveles de transaminasa generalmente vuelven a la normalidad en 2 a 3 meses. La progresión hacia una insuficiencia hepática ocurre en muy raras ocasiones (un caso por cada millón de personas) (50,81).

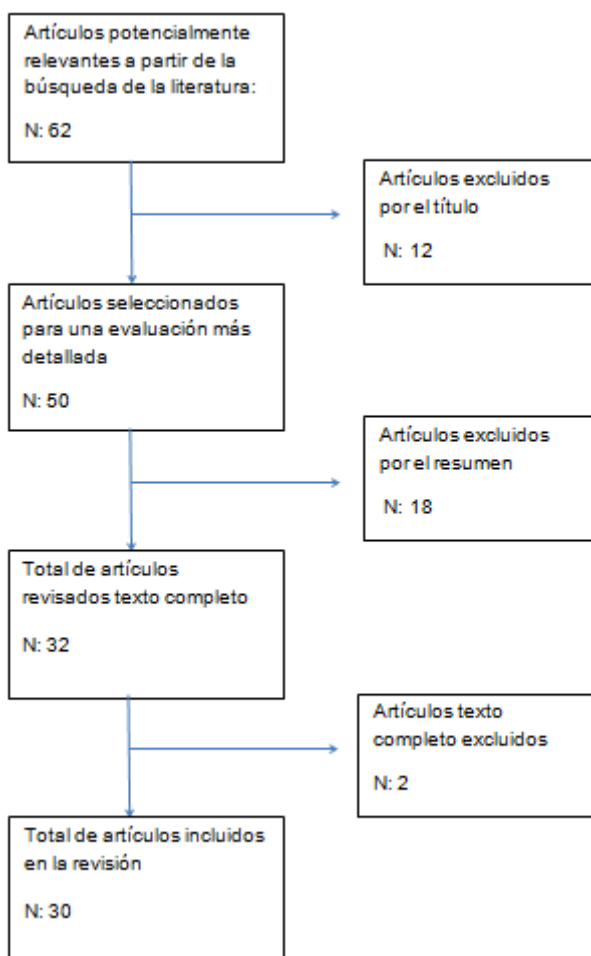
El tratamiento con estatinas debe ser suspendido en los casos en los que ocurra una elevación de la creatinquinasa de 10 veces el límite de normalidad (50). Por otro lado, una elevación de tres veces el límite superior de la normalidad de las transaminasas en pacientes tratados con estatinas requiere la retirada del fármacos (50). Si la elevación es anterior al tratamiento se contraindica la administración de estatinas. Una elevación inferior no es una contraindicación para iniciar o continuar el tratamiento con estatinas, pero requiere una vigilancia con análisis periódicos de sangre. En pacientes con enfermedad hepática, tal como la hepatopatía alcohólica o hepatitis vírica, debería sopesarse cautelosamente el riesgo antes de administrar estatinas (50).

#### 4.3. Análisis de estudios que relacionan el uso de estatinas con el estado periodontal

Como resultado de la búsqueda electrónica en relación al uso de estatinas y la condición periodontal, un total de 62 artículos resultaron potencialmente relevantes, de los cuales 30 cumplieron los criterios de inclusión y exclusión impuestos (Ilustración 7). Los estudios seleccionados correspondieron a estudios *in vitro*, en animales y en humanos. Para el estudio de Seto y colaboradores 2008, sólo se incluyó el estudio realizado *in vivo*, excluyéndose el estudio *in vitro* presente en este artículo, ya que no cumplía con los criterios de inclusión.

La metodología de cada estudio se presenta en diferentes tablas. Además, los resultados más relevantes de los estudios seleccionados se presentan en las tablas 9, 10, 11, 16 y 17. Por otro lado, el nivel de evidencia, grado de recomendación, y el análisis de la calidad de reporte de los estudios en humanos se encuentran desde la tabla 18 a la 23.

Ilustración 7: Diagrama de flujo de estudios que evalúan la el uso de estatinas y el estado periodontal



Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.1. Estudios *in vitro*

Yazawa y colaboradores investigaron los efectos de la simvastatina (SMV) sobre células humanas del ligamento periodontal, centrándose especialmente en la proliferación celular, el metabolismo y su potencial de mineralización. También analizaron su correlación con la vía del mevalonato (Tabla 6). Los resultados determinaron que SMV aumentó el metabolismo celular de células del ligamento periodontal de manera dosis dependiente, encontrándose diferencias significativas en la concentración de  $10^{-7}$  M ( $p < 0.001$ ) y  $10^{-6}$  M ( $p < 0.01$ ) después de 24 horas. Por su parte, 24 horas después de la incubación, SMV promovió la proliferación celular de manera significativa ( $p < 0.0001$ ), este efecto se produjo de forma dependiente de la dosis y alcanzó su máximo a la concentración de  $10^{-8}$  M y  $10^{-7}$  M. La actividad de fosfatasa alcalina en células del ligamento periodontal fue promovida de manera dosis dependiente y el efecto máximo se encontró a la concentración de  $10^{-8}$  M donde causó un aumento significativo después de 7 días ( $p < 0.0001$ ), 14 días ( $p < 0.01$ ) y 21 días ( $p < 0.01$ ), luego de esto su actividad se redujo. En el análisis de los marcadores de diferenciación de osteoblastos, SMV de  $10^{-8}$  M estimuló la osteopontina (OPN) después de 7 días ( $p < 0.0001$ ) y el calcio después de 21 días ( $p < 0.0001$ ). Sin embargo, no se detectó BMP-2 y osteocalcina (OCN). Por otro lado, la mejora inducida por SMV en la actividad de la fosfatasa alcalina fue abolida por mevalonato, lo que indica una correlación entre las estatinas y la vía del mevalonato (82).

Otro estudio *in vitro* realizado por Stein y colaboradores evaluó la producción de osteoprotegerina (OPG) y de receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$  (RANKL) en reposo y activados con IL-1 $\beta$  en fibroblastos gingivales humanos en presencia y ausencia de 2 tipos de estatinas (SMV Y ATV) (Tabla 6). Como resultado, ninguna estatina afectó de manera significativa la producción de OPG o RANKL en reposo, tampoco los afectó, de manera significativa, cuando estos fueron activados con IL-1 $\beta$ . Ninguna estatinas provocó efectos citotóxicos (83).

Tabla 2: Metodología estudios in vitro

Autor Año	Célula	Tipo de estatina/ dosis	Forma de aplicación	Variable analizada
<b>Yazawa y cols (2005)</b>	Células del ligamento periodontal (LP) humanas. A partir de los tejidos periodontales sanos de cuatro terceros molares	SMV $10^{-9}$ a $10^{-6}$ M	Muestras se incubaron con y sin SMV en varias concentraciones durante 7, 14 y 21 días  Posteriormente se trataron con mevalonato	Metabolismo y proliferación celular de LP; Actividad de fosfatasa alcalina; BMP-2, osteocalcina (OCN), osteopontina (OPN) mediante ELISA; calcio
<b>Stein y cols (2011)</b>	Fibroblastos gingivales humanos	SMV o ATV $5 \times 10^{-6}$ a $1 \times 10^{-11}$ M	Los fibroblastos se pre-incubaron con ATV (sintética) o SMV (derivado de la fermentación) durante 24 h en medio libre de suero, y después se incubaron con IL-1 $\beta$ durante 6 días	Citotoxicidad de estatinas. La concentración de OPG o RANKL en sobrenadantes de cultivo se midió por ELISA específico

#### 4.3.2. Estudios en animales

##### 4.3.2.1. Estudios que evalúan relleno óseo.

Vaziri y colaboradores estudiaron el efecto de inyecciones subperiósticas de 0.05 ml de SMV en defectos periodontales inducidos por ligadura en ratas hembra Sprague-Dawley ovariectomizadas (Tabla 7). Los análisis histológicos mostraron que grupos tratados con SMV desarrollaron significativamente menor pérdida de inserción periodontal ( $p < 0.05$ ). La pérdida ósea fue menor en el grupo con SMV pero no hubo diferencias significativas con el grupo control (84).

Wu y colaboradores investigaron el efecto de la SMV sobre el recambio óseo durante la reabsorción del reborde residual en alvéolos de incisivos mandibulares extraídos de ratas macho Wistar. La eficacia de copolímero de ácido poliláctico / ácido poliglicólico (PLGA) como un portador para la estatina, también fue evaluada (Tabla 7). Los resultados indicaron que la altura relativa del reborde alveolar residual en el grupo experimental fue significativamente mayor en comparación con el grupo control a las 2, 4, 8 y 12 semanas. Por otra parte los valores de densidad mineral ósea (DMO) fueron significativamente mayores en el grupo experimental que en el grupo de control a las 4,

8 y 12 semanas. En el análisis histológico realizado a las 2 semanas, la cantidad de hueso recién formado fue mayor en el grupo experimental que en el grupo control. Además, hubo formación de nuevo hueso con osteoblastos en grupo con SMV a las 4 semanas (85).

Seto y colaboradores también administraron SMV localmente en periodontitis inducida por ligadura a ratas macho Fischer (Tabla 7). Los resultados muestran que SMV recuperó la reabsorción ósea inducida por ligadura en un 46% sin ningún tipo de reacciones inflamatorias en los tejidos periodontales. Además, el examen histológico reveló formación de hueso alveolar de baja mineralización en grupo tratados con simvastatina (86).

La eficacia de la administración local de SMV para estimular el crecimiento óseo y de cemento en perros beagles fue evaluada por Morris y colaboradores a través de análisis histomorfométrico. Se crearon tres condiciones mandibulares, las que incluían defectos intraóseos de 3 paredes óseas, defectos de furcación clase II y rebordes desdentados. Luego de realizar raspado y pulido radicular (RPR) a los sitios con defectos periodontales, estos recibieron inyecciones de SMV una vez por semana durante 3 semanas (0.5 mg o 2 mg) (Tabla 7). Dentro de los resultados el espesor de reborde desdentado fue un 29% mayor en el grupo tratado con SMV 0.5 mg en comparación al control ( $p = 0.0845$ ). Por el contrario, se obtuvo una pérdida de altura ósea en los defectos intraóseos y de furcación en el grupo tratado con SMV. Sin embargo, la longitud de nuevo cemento en los defectos intraóseos interproximales fue mayor con SMV de 0.5 mg ( $0.35 \pm 0.14$  mm) en comparación gel placebo ( $0.06 \pm 0.15$  mm;  $p = 0.069$ ), pero no se encontró nuevo cemento en los defectos de furcación. Además, en el presente estudio, se evaluaron los efectos adversos orales asociados a la aplicación local de la SMV en el periodonto. El resultado fue que los tejidos periodontales de perros beagles toleran bien la SMV (87).

Por otro lado, Goes y colaboradores determinaron el efecto de la administración sistémica de ATV en defectos periodontales inducidos en ratas macho Wistar. Durante 11 días fueron administradas distintas dosis de ATV (1, 3 o 9 mg/kg) (Tabla 7). Los resultados mostraron que ATV (9 mg / kg) aumentó significativamente la variación de tono gris en más de 48% ( $118.3 \pm 12.0$  tonos de gris) en comparación con la solución salina ( $79.8 \pm 6.2$



tonos de gris), lo que indica una mayor densidad radiográfica ( $p < 0.05$ ). Estos datos fueron corroborados por los hallazgos macroscópicos, donde ATV (9 mg / kg) redujo la pérdida de hueso alveolar en más de un 47% ( $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo de animales no tratados(88).

Los efectos de la administración local de SMV también se evaluaron en defectos de furcación grado II creados en cerdos miniatura por Chen y colaboradores. Se inyectaron diferentes dosis de SMV una vez por semana durante 8 semanas, posteriormente se efectuaron observaciones anatómicas como la altura de nuevo hueso formado y observaciones histológicas de sistema de Havers, osteoblastos, osteocitos (Tabla 7). En los grupos tratados con SMV se observó nuevo hueso alveolar en los sitios de furcación, estadísticamente significativo, en comparación a los controles ( $p < 0.001$ ), sin encontrar diferencia significativa entre las distintas dosis de SMV. Por su parte, las observaciones histológicas mostraron que en los grupos tratados con SMV hubo mayor cantidad de tejido fibroso maduro, proliferación de vasos y un gran número de osteoblastos y osteocitos, además, en el grupo de 0.5 mg de SMV, se observan redes de hueso estructural trabecular y sistemas de Havers maduros. La mayor cantidad de osteoblastos fue observada en los grupos con mayores dosis de SMV (1.5 y 2.2 mg) ( $p < 0.001$ ), mientras que el número de osteocitos fue significativamente mayor en el grupo con menor dosis de SMV ( $p < 0.001$ ) (89).

Tabla 3: Metodología de estudios en animales que evalúan relleno óseo

Autor Año	N animales	Tipo de estatina/dosis	Vía de administración	Forma de aplicación	Tipo de defecto óseo	Variables analizadas
<b>Vaziri y cols (2007)</b>	49 ratas hembra Sprague-Dawley Ovariectomizadas	SMV Concentración de $10^{-6}$ M, $3 \times 10^{-7}$ M, $10^{-7}$ M en 0,05 ml	Local	Inyecciones subperiosticas de SMV en distintas concentraciones, 2 veces a la semana por 25 días en mucosa bucal del primer molar inferior derecho. Solución salina como control	Periodontitis inducida por ligadura en primer molar inferior derecho. 1 grupo sin ligadura (control)	Densidad ósea, pérdida ósea (medida de LAC a cresta alveolar) y pérdida de inserción (rx convencional e histológico)
<b>Wu y cols (2008)</b>	60 ratas macho Wistar.	SMV 1 mg Portadores de copolímero de ácido poliláctico / ácido poliglicólico (SMV-PLGA)	Local	PLGA con o sin SMV se implantaron en los alvéolos de incisivos mandibulares derechos extraídos (n: 30 para c/u). Las ratas se sacrificaron a 1, 2, 4, 8 o 12 semanas después de la implantación	Alvéolos de incisivos mandibulares derechos extraídos	Infiltrado inflamatorio. Densidad mineral ósea (DMO), altura relativa de la cresta alveolar residual (rx convencional e histológico)
<b>Seto y cols (2008)</b>	15 ratas macho Fischer	SMV 0,2 mg/50 µl en solución salina tamponada con fosfato	Local	Inyecciones subperiosticas de SMV en la zona bucal del segundo molar superior, 2 veces por semana durante 70 días. Inyecciones sin SMV como control	Periodontitis inducida por ligaduras de nylon alrededor de los segundos molares superiores de ratas (sanas n:5, con ligadura n:5 y con ligadura y SMV N:5)	Tomografía microcomputarizada: distancia entre LAC y cresta ósea alveolar. Análisis histomorfométrico: espesor de hueso

Continuación tabla 3:

Autor Año	N animales	Tipo de estatina/dosis	Vía de administración	Forma de aplicación	Tipo de defecto óseo	VARIABLES ANALIZADAS
<b>Morris y cols (2008)</b>	7 perros beagles	SMV 0,5 mg/30µl y 2 mg/30µl En gel de metilcelulosa	Local	Luego de RPR de los sitios con defectos periodontales, recibieron inyecciones una vez a la semana durante 3 semanas de 0,5 mg de SMV en 30 µl de gel de metilcelulosa y gel placebo en el lado contralateral y 2,0 mg de SMV en 30 µl en gel de metilcelulosa y gel placebo en el lado contralateral	Defectos intraóseos de 3 paredes óseas, defectos de furcación clase II, y rebordes desdentadas	Infiltrado inflamatorio (células plasmáticas, linfocitos, neutrófilos, y macrófagos), fibroblastos, tejido conectivo, y vasos. Distancia de la base del defecto a la cresta ósea y longitud de nuevo cemento, por análisis histomorfométrico
<b>Goes y cols (2010)</b>	24 ratas macho Wistar	ATV 1,3 o 9 mg/kg	Sistémica	Administrada vía oral, 30 min antes de la inducción de periodontitis y después diariamente, durante 11 días.  Solución salina en grupo control	Periodontitis inducida por ligadura en segundo molar superior izquierdo. lado derecho no ligado (control)	Análisis de densidad radiográfica en imágenes digitales (diferencia de tonos de gris). Análisis morfométrico de tejido óseo para cuantificación de la pérdida de hueso alveolar
<b>Chen y cols (2011)</b>	4 Cerdos miniatura macho (32 dientes)	SMV 0.5 mg/50 µl, 1.5 mg/50 µl y 2.2 mg/50 µl En gel de metilcelulosa	Local	Se inyectaron distintas dosis de SMV 1 vez por semana durante 8 semanas.  Un grupo control sin inyección	Defectos de furcación grado II inducidos mediante cirugía	Observaciones anatómicas: Altura del defecto antes del experimento, altura de nuevo hueso formado. Observaciones histológicas: Sistema de Havers, osteoblastos, osteocitos

Fuente:

Elaboración propia

Estudios que evalúan factores de crecimiento osteoinductivos, mediadores inflamatorios y metaloproteinasas.

Estudios en ratas Wistar han evaluado la capacidad de las estatinas para expresar factores de crecimiento osteoinductivos. Liu y colaboradores implantaron SMV-PLGA en alvéolos de incisivos inferiores extraídos durante 5 días, 1 semana, 2 semanas o 4 semanas (Tabla 8). Los resultados obtenidos mostraron para el factor de crecimiento transformante-  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) que el número de células con señales positivas en el grupo experimental fue significativamente más alta que en el grupo control después de una, dos semanas ( $p < 0.01$ ) y cuatro semanas ( $p < 0.05$ ). El número de células positivas alcanzó su máximo después de dos semanas y luego se redujo después de cuatro semanas, tanto en el grupo experimental como en el control. En el caso de la proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2), desde la primera semana en adelante, el número de células positivas en el grupo experimental fue significativamente más alta que en el grupo control, alcanzando un máximo después de dos semanas ( $p < 0.01$ ). Por su parte el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) obtuvo en el grupo tratado con SMV un número significativamente mayor de células positivas después de una y dos semanas ( $p < 0.01$ ), pero disminuyó a partir de entonces. Finalmente no hubo diferencia significativa en el número de células positivas entre los grupos experimentales y de control después de cuatro semanas (13).

En otro estudio, Dalcico y colaboradores abordaron el efecto de la administración sistémica de SMV en ratas Wistar con enfermedad periodontal experimental, analizando su acción sobre diversos parámetros del metabolismo óseo, inflamación y estrés oxidativo. Las diferentes dosis de SMV fueron administradas diariamente por 11 días (Tabla 8). Los resultados demuestran que las dosis de 10 y 30 mg /kg de SMV inhibieron significativamente la pérdida de hueso alveolar de forma similar ( $p < 0.05$ ). Los análisis histológicos resultaron en que las ratas tratadas con 30 mg/ kg de SMV mostraron preservación del proceso alveolar y el cemento, reducción de la infiltración de células inflamatorias y preservación parcial de las fibras de colágeno del ligamento periodontal ( $p < 0.05$ ). Las determinaciones bioquímicas séricas mostraron que SMV (30 mg / kg) aumentó la fosfatasa alcalina total ( $p < 0.05$ ). Se observó una reducción de neutrófilos dosis/dependiente en la encía de animales tratados en comparación con los controles

( $p < 0.05$ ). A su vez 10 y 30 mg/kg de SMV redujeron los niveles de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  en tejidos gingivales ( $p < 0.05$ ). Por otro lado 30 mg/kg aumentó los nivel de IL-10 ( $p < 0.05$ ). Además, SVM 30 mg/kg redujo la expresión de la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), MMP-1/8, RANK, RANKL y produjo un aumento de los niveles de BMP-2 y OPG en el tejido periodontal. Dosis de SMV de 30mg/kg redujo malondialdehído (MDA) y oxido nítrico (NO). Finalmente 10 y 30 mg/kg aumentaron niveles de glutatión reducido (GSH) ( $p < 0.05$ ) (11).

Por otro lado, Balli y colaboradores realizaron un estudio que tuvo como objetivo examinar, por primera vez, el papel de aplicaciones sistémicas y locales de ATV en el periodonto, mediante análisis histomorfométrico e inmunohistoquímicas durante y después de la inducción de periodontitis experimental en ratas albinas Wistar. Fueron administradas diariamente dosis de ATV sistémicas (5 mg / kg) y local (0.1 mg / kg) en tres períodos diferentes (40 días cada periodo) (Tabla 8). Los resultados obtenidos demostraron que la cantidad de hueso alveolar en la zona de la furcación fue significativamente mayor en los grupos tratados con ATV ( $p < 0.05$ ). Se observó una disminución significativa en la pérdida de hueso alveolar en grupos de aplicación local de ATV en comparación con ATV de aplicación sistémica en todos los periodos ( $p < 0.01$ ). Hubo un aumento mayor en la inmunorreactividad de VEGF en el grupo tratado con ATV ( $p = 0.000$ ), así como una disminución de pérdida ósea alveolar, pérdida de inserción, e inmunoreactividad de MMP-9 con ATV sistémicas y locales durante y después de la inducción experimental de la periodontitis ( $p = 0.000$ ). Las aplicaciones locales de ATV mostraron mayores efectos positivos en el hueso alveolar en los tres periodos (12).

Recientemente, Jin y colaboradores utilizaron un modelo de ratas Sprague-Dawley con enfermedad periodontal para determinar el efecto de la SMV en la osteoclastogénesis, inflamación gingival y pérdida de hueso alveolar. Se inyectaron LPS de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) en el tejido periodontal tres veces por semana durante 8 semanas junto con 20 mg/kg/ día de SMV vía sonda oral. Luego del tratamiento los maxilares fueron explorados mediante imágenes por tomografía microcomputarizada (microCT), en las cuales se analizó la pérdida de hueso alveolar. Por otro lado, el efecto de la SMV en la osteoclastogénesis y en la expresión de citoquinas pro-inflamatorias se determinó mediante fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP) y reacción en cadena de

la polimerasa en tiempo real (PCR), respectivamente (Tabla 8). Los resultados demuestran que la administración de SMV reduce en un 31% la pérdida ósea inducida por LPS y modula significativamente el efecto estimulante de LPS en la osteoclastogénesis. Además, suprimió de forma significativa el efecto estimulante de LPS sobre la expresión de IL-6 en un 42% y de TNF- $\alpha$  en un 50% ( $p < 0.05$ ), por otro lado, redujo significativamente el nivel de MMP-9 en tejido gingival de ratas ( $p < 0.05$ )(90).

Por último, Araujo y colaboradores realizaron un estudio para evaluar los efectos de la ATV en el tratamiento de la enfermedad periodontal, mediante la medición de los niveles de inflamación, antioxidantes, metaloproteinasas y marcadores óseos en ratas albinas Wistar con enfermedad periodontal. Estas se dividieron aleatoriamente en 5 grupos de 10 animales cada uno. Diferentes dosis de ATV fueron administradas durante 11 días (Tabla 8). Como resultado, se observó que el tratamiento con 10 mg/kg de ATV redujo la pérdida de hueso alveolar causada por la enfermedad periodontal inducida ( $p < 0.05$ ), sin embargo dosis bajas de ATV (1 y 5 mg/kg) no presentaron diferencias significativas en la pérdida ósea. Por otro lado los animales tratados con dosis alta de ATV mostraron una reducción de los parámetros inflamatorios, así como una disminución de la actividad de neutrófilos ( $p < 0.01$ ), además de presentar niveles bajos de COX-2, MMPs-2 y 9, RANK, RANKL en comparación con los grupos controles. Por su parte, OPG aumentó significativamente en los animales con periodontitis que fueron tratados con altas dosis de ATV. Del mismo modo, los niveles de citoquinas pro-inflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  también se redujeron en este grupo ( $p < 0.05$ ). Por último, en comparación con los controles, dosis altas de ATV redujeron significativamente los niveles de malondialdehído (MDA) ( $p < 0.001$ )(91).

Tabla 4: Metodología estudios en animales que evalúan factores de crecimiento osteoinductivos, mediadores inflamatorios y metaloproteinasas

Autor Año	N animales	Tipo de estatina/dosis	Vía de administración	Forma de aplicación	Tipo de defecto óseo	Variables analizadas
Liu y cols (2009)	48 ratas macho Wistar	SMV 1 mg Portadores de copolímero de ácido poliláctico / ácido poliglicólico (SMV-PLGA).	Local	Fueron sacrificadas a los 5 días, 1, 2 o 4 semanas después de aplicación de SMV  PLGA sin SMV como control	Alveolo de Incisivo inferior derecho extraído	TGFβ1, BMP-2, VEGF ARNm Mediante hibridación in situ
Dalcico y cols (2012)	150 ratas hembra Wistar	SMV 3, 10, o 30 mg / kg/día	Sistémica	Se inyectó SMV por sonda en la parte inferior de esófago  1 hora antes de la inducción de periodontitis hasta el día 11 (diariamente)	Periodontitis inducida por ligadura de hilo de nylon en segundo molar superior izquierdo/ lado derecho no ligado (control)	Pérdida de hueso alveolar. Infiltrado inflamatorio, pérdida de cemento. Alteración de fibras colágenas y ligamento periodontal por análisis histológico. Fosfatasa alcalina. Neutrófilos por MPO. IL-1β, TNF-α, IL-10 por ensayo inmunoenzimático. MDA y GSH.NO. iNOS, MMP-1/8, BMP-2, RANKL, OPG por análisis inmunohistoquímico
Balli y cols (2013)	110 ratas macho albinas Wistar	ATV Sistémica 5 mg / kg Local 0,1 mg / kg	Sistémica y local.	ATV sistémica, local y solución salina se administraron diariamente en tres períodos diferentes (40 días cada periodo)	Periodontitis inducida por ligadura en primer molar mandibular por 40 días (N= 100). Control (N=10)	Porcentaje de hueso alveolar en la zona de furcación, nivel de hueso alveolar, y pérdida de inserción, por análisis histomorfométrico. VEGF, MMP-9 por análisis inmunohistoquímicos

Continuación tabla 4:

Autor Año	N animales	Tipo de estatina/dosis	Vía de administración	Forma de aplicación	Tipo de defecto óseo	Variables analizadas
<b>Jin y cols (2013)</b>	28 Ratas hembra Sprague-Dawley	SMV 20 mg/kg/día	Sistémica	Diariamente vía oral por sonda durante 8 semanas	Periodontitis inducida por LPS de Aa . 20 µg de LPS 3 veces por semana durante 8 semanas) en encía palatina entre primer y segundo molar superior	Pérdida de hueso alveolar mediante microTC (distancia LAC a cresta ósea alveolar) , osteoclastogénesis mediante TRAP, expresión de moléculas pro-inflamatorias gingival (IL-6, TNF-α) y MMP-9 mediante PCR
<b>Araujo cols (2013)</b>	50 ratas macho albinas Wistar	ATV 1,5, 10 mg/kg/día	Sistémica	Vía oral por sonda 1 hora antes de la ligadura y 1 vez al día por 10 días.  10 animales por cada dosis de ATV  (Grupos: Sin ligadura, con ligadura y sin ATV, ligadura más ATV)	Periodontitis inducida por ligadura de hilo de nylon en segundo molar superior izquierdo	Pérdida de hueso alveolar (análisis morfométrico), infiltrado inflamatorio e integridad del hueso alveolar por análisis histológicos. Análisis inmunohistoquímico de COX-2, MMP-2, MMP-9, RANK-L, RANK y OPG . MPO. Niveles de MDA y GSH. Niveles de IL - 1β, IL-10 , y TNF - α (mediante ELISA)

BMP-2: Proteína morfogenética ósea 2  
GSH: Glutación reducido (estrés oxidativo)  
iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible  
MDA: Malondialdehído (peroxidación de lípidos )

MPO: Mieloperoxidasa (actividad de neutrófilos)  
NO: Oxido nítrico  
TGFβ1 : Factor de crecimiento transformante  
VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

Fuente: Elaboración propia



Tabla 5: Efecto de administración sistémica de estatinas sobre citoquinas pro-inflamatorias en animales

Autor Año	Estatina	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-10	TNF- $\alpha$
Dalcico y cols (2012)	SMV 30 mg/kg	↓	NE	↑	↓
Jin y cols (2013)	SMV 20 mg/kg	NE	↓	NE	↓
Araujo y cols (2013)	ATV 10 mg/kg	↓	NE	NS	↓

NE: No evaluado  
NS: No significativo

Dosis de 20 a 30 mg de SMV y 10 mg de ATV disminuyeron niveles de citoquinas pro-inflamatorias. SMV aumentó niveles de IL-10 (anti-inflamatoria).

Fuente: Elaboración propia

Tabla 6: Efecto de las estatinas sobre el metabolismo óseo en animales

Autor Año	Estatina	TGFβ1	BMP-2	VEGF	Fosfatasa alcalina	RANK	RANKL	OPG
Liu y cols (2009)	SMV-PLGA	↑	↑	↑	NE	NE	NE	NE
Dalcico y cols (2012)	SMV 30 mg/kg	NE	↑	NE	↑	↓	↓	↑
Balliy cols (2013)	ATV Sistémica 5 mg/kg Local 0.1 mg/kg	NE	NE	↑	NE	NE	NE	NE
Araujoy cols (2013)	ATV 10 mg/kg	NE	NE	NE	NE	↓	↓	↑

NE: No evaluado

Administración sistémica y tópica de estatinas aumentó factores de crecimiento osteoinductivos. Administraciones sistémicas aumentaron fosfatasa alcalina y OPG, además redujeron niveles de RANK y RANKL.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 7: Efecto de las estatinas sobre las metaloproteinasas en animales

Autor Año	Estatina	MMP 1	MMP 2	MMP 8	MM 9
Dalcicoy cols (2012)	SMV 30 mg/kg	↓	NE	↓	NE
Balliy cols (2013)	ATV Sistémica 5 mg/kg Local 0.1 mg/kg	NE	NE	NE	↓
Jin y cols (2013)	SMV 20 mg/kg	NE	NE	NE	↓
Araujo y cols (2013)	ATV 10 mg/kg	NE	↓	NE	↓

NE: No evaluado

Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.3. Estudios en humanos

##### 4.3.3.1. Administración sistémica de estatinas

Distintos tipos de estudios en humanos han investigado el efecto de la administración sistémica de las estatinas sobre la pérdida de piezas dentarias, inflamación gingival, profundidad de sondaje (PS) y nivel de inserción clínica (NIC).

Cunha-Cruz y colaboradores evaluaron la asociación del uso sistémico de estatinas en relación con la pérdida de dientes a través de un estudio de cohorte. Se reclutaron y siguieron en el tiempo (7.1 años) 1.021 pacientes de entre 40 y 65 años con diagnóstico de periodontitis crónica (Tabla 12). Sólo el 10.8% de la muestra tuvo al menos una prescripción de estatinas durante el estudio. En los pacientes que consumieron estatinas de manera regular durante 3 años (al menos una prescripción de estatinas durante cada uno de los 3 años consecutivos) hubo reducción no significativa del 37% en la pérdida de dientes en el cuarto año de seguimiento (RR = 0.63; 95% IC = 0.32 a 1.25). Además, cualquier uso de estatinas durante cualquiera de los 3 primeros años, después del

examen periodontal inicial, se asoció con una disminución de la tasa de pérdida de dientes del 48% a partir del cuarto año (RR = 0.52; 95% IC= 0.29 a 0.95 ) (92). Debido al pequeño tamaño muestral y a la incapacidad de controlar el consumo de tabaco, Saver y colaboradores continuaron con las investigaciones. Realizaron un estudio de cohorte con una muestra de 12.631 pacientes entre 48 y 64 años con periodontitis crónica, los cuales fueron seguidos entre los años 1996 a 2002. Sólo el 6.9% de la población estudiada tuvo algún uso de estatinas durante el periodo inicial de 3 años (Tabla 12). Antes de realizar el ajuste todas las representaciones de uso de estatinas se asociaron con un aumento significativo del riesgo de pérdida de dientes, sin embargo, después del ajuste de posibles factores de confusión como diabetes y tabaquismo, no hubo ninguna sugerencia de que las estatinas aumenten o disminuyan la pérdida de dientes (93).

Por otro lado, Lindy y colaboradores realizaron un estudio transversal donde evaluaron a 100 pacientes entre 42 y 69 años con periodontitis crónica, de los cuales 21 sujetos fueron consumidores de estatinas (Tabla 12). Como resultado 97 pacientes completaron el estudio. Los pacientes tratados con estatinas tuvieron un 37% menos de sacos periodontales ( $p = 0.00043$ ). Además, el índice de carga inflamatoria periodontal (PIBI), que combina y unifica los datos de PS, era un 40% menor en los pacientes que usaban estatinas en comparación a los no consumidores ( $p = 0.00069$ ). Al comparar los resultados del índice de carga inflamatoria periodontal (PIBI) entre usuarios de SMV y ATV, no se observó ninguna diferencia (4).

Sin embargo, en un estudio transversal, Saxlin y colaboradores, después de evaluar a 134 usuarios de estatinas entre 40 y 69 años, de los cuales la mayoría eran consumidores de SMV (Tabla 12) , encontraron que entre los sujetos con sangrado gingival existía una débil asociación negativa entre la medicación con estatinas y el número de dientes con PS  $\geq$  a 4 mm (RR 0.9, 95% IC 0.7-1.1), esta asociación negativa fue más fuerte en piezas con sacos periodontales profundos  $\geq$  a 6 mm (RR 0.6, 95% IC 0.3-1.1), pero no alcanzó significación estadística en un nivel de 0.05. Además, en los sujetos que presentaron placa bacteriana en piezas con sacos periodontales, se encontró una asociación negativa mayor ( $p= 0.004$ ). Entre los sujetos sin sangrado gingival y sin placa bacteriana, las estatinas se asociaron con un aumento de la probabilidad profundizar los sacos

periodontales. Estos resultados sugieren que las estatinas tienen un efecto sobre el periodonto que depende de la condición inflamatoria de este (64).

Fajardo y colaboradores, luego de observar los resultados de los estudios retrospectivos, realizaron un ensayo clínico controlado aleatorizado doble ciego en 38 pacientes con edades entre 40 y 60 años, no fumadores y con diagnóstico de periodontitis crónica moderada. Se realizó raspado y pulido radicular en todos los pacientes y posteriormente se dividieron al azar en un grupo que fue tratado con 20 mg/día de ATV durante 3 meses y un grupo control. Además de evaluar parámetros periodontales tanto clínicos como radiográficos, se realizaron pruebas de laboratorio que registraron los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL, VLDL, HDL y marcadores de recambio óseo tanto al inicio como al finalizar el estudio (Tabla 12). Esta investigación muestra una mejoría significativa en los niveles de colesterol ( $p < 0.0002$ ) y de LDL ( $p < 0.02$ ) en el grupo experimental después de 3 meses. La movilidad dental fue significativamente menor en el grupo tratado con estatina ( $-0.17 \pm 0.11$  % vs.  $-0.06 \pm 0.11$  %,  $p = 0.04$ ) y la distancia entre límite amelo cementario (LAC) y cresta ósea alveolar disminuyó en grupo tratado con ATV ( $-0.75 \pm 0.7$  mm vs.  $0.09 \pm 0.4$  mm,  $p < 0.0006$ ). No hubo diferencia significativa en la disminución de PS del grupo con ATV y grupo placebo. Los marcadores de recambio óseo no presentaron mejoría significativa luego del tratamiento con ATV (94).

Recientemente, en un estudio transversal, Suresh y colaboradores evaluaron el efecto del tratamiento con estatinas en los niveles de IL-1 $\beta$  en el fluido gingival crevicular (FGC) de los sitios con mayor pérdida de inserción. Seleccionaron a 30 pacientes entre 40 y 60 años de edad. Un grupo presentó periodontitis crónica generalizada y tratamiento con 20 mg/día de ATV en un periodo mínimo de 6 meses. El segundo grupo sólo tenía periodontitis crónica (Tabla 12). Como resultado, los niveles de IL-1 $\beta$  en FGC de pacientes tratados con ATV fueron significativamente menores ( $p < 0,001$ ) a los pacientes con periodontitis crónica ( $180.73 \pm 32.15$  versus  $308.20 \pm 27.73$  pg/ml respectivamente). Al comparar los valores medios de IP, IG y NIC, no hubo diferencia significativa, debido a que los grupos fueron seleccionados de tal manera que ambos presentaran parámetros clínicos periodontales similares (95).

Tabla 8: Metodología de estudios de administración sistémica de estatinas en humanos

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/dosis	Tiempo de aplicación	Inclusión	Exclusión	Variables sistémicas analizadas	Variables clínico periodontales analizadas
<b>Cunha-Cruz y cols (2006)</b>	1021	No determina tipo de estatina, ni dosis.	1) Cualquier uso de estatinas durante 3 años. 2) Uso regular de estatinas durante 3 años. 3) Duración del uso de estatinas en un período de 3 años. 4) cualquier uso de estatinas durante 1 año. 5) Duración del uso de estatinas en un período de 1 año. 6) Cualquier uso de estatinas durante los 3 primeros años. 7) Duración del uso de estatinas durante el primer período de 3 años	Periodontitis crónica	Extracciones dentales tempranas (en los primeros 3 años desde el examen periodontal inicial)	Edad, género, diabetes (DM), uso de antibióticos, uso de antiinflamatorios	Tratamiento preventivo dental, tratamiento de caries y periodontal, número de dientes, profundidad al sondaje (PS $\geq$ a 5 mm)
<b>Savery cols (2007)</b>	12631	SMV, ATV Otras: Lovastatina, Pravastatina Fluvastatina	1) Cualquier uso de estatinas durante 3 años. 2) Uso regular de estatinas durante 3 años. 3) Duración del uso de estatinas en un período de 3 años. 4) cualquier uso de estatinas durante 1 año. 5) Duración del uso de estatinas en un período de 1 año. 6) Cualquier uso de estatinas durante los 3 primeros años. 7) Duración del uso de estatinas durante el primer período de 3 años	Periodontitis crónica	Extracciones dentales tempranas (en los primeros 3 años desde el examen periodontal inicial)	Edad, género, DM, uso de antibióticos, uso de antiinflamatorios	Tratamiento preventivo dental, tratamiento de caries y periodontal, número de dientes, profundidad al sondaje (PS $\geq$ a 5 mm)
<b>Lindy y cols (2008)</b>	100	ATV SMV En dosis baja convencional	No determinado	Periodontitis crónica avanzada. Al menos 15 dientes remanentes en boca	Menos de 15 dientes remanentes en boca. Tratamiento periodontal en los últimos 6 meses	No evaluadas	Índice de placa (IP), índice de sangrado, profundidad sondaje (PS), índice de carga inflamatoria periodontal (PIBI)

Continuación tabla 8:

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/ dosis	Tiempo de aplicación	Inclusión	Exclusión	Variables sistémicas analizadas	Variables clínico periodontales analizadas
<b>Saxlin y cols (2009)</b>	134	ATV SMV Otras	No determinado	Dentados	DM, artritis reumatoide, fumadores, terceros molares	Educación, IMC	Frecuencia de higiene y de control dental, IP, PS ( $\geq$ a 4 mm, $\geq$ a 6 mm), sangrado al sondaje, número de dientes
<b>Fajardo y cols (2010)</b>	38	ATV 20 mg/día	3 meses	Periodontitis (PS $\geq$ a 3 mm en al menos 3 dientes, índice gingival (IG) 2 o 3, IP 2 o 3, recesión gingival.  Al menos 15 dientes remanentes en boca	Fumadores, DM, infección sistémica, u otra enfermedad metabólica. Lactancia, terapia de reemplazo hormonal (TRH), tratamiento con bifosfonato, tratamiento crónico con AINES, uso de estatinas durante 6 meses antes del estudio, tratamiento con glucocorticoides, o el uso de cualquier otro fármaco conocido para alterar el metabolismo del calcio de los huesos.	IMC. Pruebas de laboratorio: Glicemia, Colesterol, TG, HDL, LDL, VLDL, Fosfatasa alcalina, N-telopéptidos, 17-b estradiol	Movilidad, recesión gingival, PS, NIC, Sangrado al sondaje, IP, pérdida de dientes, distancia entre LAC y cresta ósea alveolar mediante rx periapical digital con técnica del paralelismo, con colimadores para normalizar la posición de los dientes.
<b>Suresh y cols (2013)</b>	30	ATV 20 mg/día	Mínimo 6 meses de tratamiento	Periodontitis crónica generalizada (NIC entre 3-5 mm, > 30% sitios afectados). IP e IG entre 2 y 3. Mínimo 15 dientes remanentes	DM, fumadores, tratamiento con esteroides a largo plazo, tratamiento periodontal en los últimos 6 meses	No evaluado	IP, IG, PS, NIC, IL-1 $\beta$ en FGC mediante ELISA

Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.3.2. Administración local de estatinas

Actualmente, se han publicado ensayos clínicos aleatorizados que han investigado el mecanismo de acción de las estatinas sobre la modulación de la respuesta inmune inflamatoria que ocurre en los pacientes con periodontitis. Específicamente, los estudios han probado la efectividad de la aplicación en gel tópico, al interior de los sacos periodontales, de 2 clases de estatinas: simvastatina (SMV) y atorvastatina (ATV).

Pradeep y colaboradores estudiaron el efecto de la aplicación local de SMV en 64 pacientes entre 25 y 45 años sistémicamente sanos con periodontitis crónica, los cuales fueron aleatoriamente asignados a cada grupo de tratamiento. En ambos grupos se realizó raspado y pulido radicular (RPR) a un sitio por cada sujeto. El grupo 1 fue tratado con gel placebo mientras que al grupo 2 se le administró 0.1 ml de gel de SMV con una concentración de 1.2% (1.2 mg/0.1 ml) a través de una jeringa de cánula roma en los

sacos periodontales (un sitio por sujeto) .Los parámetros clínicos fueron medidos al inicio del estudio y a los 1, 2, 4 y 6 meses. El relleno óseo se determinó mediante radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo. La evaluación radiográfica de los defectos intraóseos se realizó a través de un programa asistido por computador mediante la medición de la distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto, al inicio y a los 6 meses de realizada la intervención. Adicionalmente, se tomaron muestras de fluido gingival crevicular (FGC) a partir de sitios de liberación de fármaco en 6 pacientes del grupo 2 seleccionados al azar (Tabla 13). Sólo 60 pacientes completaron el estudio, los resultados demuestran que la aplicación local de SMV mejora los parámetros clínicos a los 6 meses de tratamiento ( $p = 0.001$ ). La disminución en el sangrado fue mayor en el grupo 2 ( $2.32 \pm 0.80$ ) en comparación con el grupo 1 ( $0.50 \pm 0.68$ ). La reducción de PS fue de  $1.20 \pm 1.24$  mm y  $4.26 \pm 1.59$  mm en los grupos 1 y 2 respectivamente. Además, se registró un aumento en NIC de  $4.36 \pm 1.92$  mm en el grupo tratado con SMV y de  $1.63 \pm 1.99$  mm en el grupo placebo. El defecto intraóseo mostró una reducción estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) mayor en grupo con SMV ( $1.41 \pm 0.74$  mm o 32.54%) en comparación con placebo ( $0.09 \pm 0.58$  mm o 2.16%). Finalmente se encontró que las concentraciones de SMV en el FGC alcanzaron su punto máximo a las 2 horas después de la aplicación ( $11.43 \pm 0.027$   $\mu\text{g/ml}$ ), pero se mantuvieron hasta el día 30 ( $0.22 \pm 0.19$   $\mu\text{g/ml}$ ) (1).

Rath y colaboradores también estudiaron el efecto de la aplicación subgingival de SMV 1,2% en 60 sitios con periodontitis crónica de pacientes entre 25 y 45 años, sistémicamente sanos. Luego de realizarles raspado y pulido radicular se dividieron en 2 grupos de tratamiento, de manera tal que 30 pacientes fueron asignados al grupo placebo y 30 pacientes fueron tratados con 0.1 ml de gel de SMV con una concentración de 1.2% (1.2 mg/0.1 ml). Se registraron parámetros clínicos periodontales al inicio (antes de RPR) y a los 60, 90 y 180 días. La evaluación de los defectos intraóseos se evaluó radiográficamente con un método similar al estudio anterior (1), al inicio y a los 180 días. Además, se recolectaron muestras epiteliales subgingivales en el sitio más profundo de cada cuadrante en los grupos tratados con SMV, al inicio y a los 90 días, para analizar niveles de interleuquina-6 (IL-6) mediante PCR (Tabla 13). Los resultados concuerdan con que SMV mejora parámetros clínicos y radiográficos. El sangrado al



sondaje disminuyó de manera estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en  $2.5 \pm 0.6$  a los 180 días de realizado el tratamiento con SMV. La profundidad de sondaje se redujo significativamente en 4 mm ( $p < 0.05$ ) en el grupo tratado con SMV en comparación con el placebo. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en la ganancia de NIC entre ambos grupos. El defecto intraóseo mostró una mejora significativamente mayor en el grupo con SMV a los 180 días disminuyendo 0.57 mm ( $p < 0.02$ ). Además, los resultados indicaron que los niveles de IL-6 disminuyeron significativamente a los 90 días después, de la aplicación de la droga. ( $p = 0.0001$ )(96).

Posteriormente, Pradeep, Kumari y colaboradores evaluaron la eficacia de la administración subgingival de gel de ATV 1.2% (1.2 mg/0.1ml) en complemento con raspado y pulido radicular para el tratamiento de defectos intraóseos en 67 individuos entre 30 y 50 años, en comparación con un gel placebo (Tabla 13). Sólo 60 pacientes completaron el estudio. El índice de sangrado mostró una reducción estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo tratado con ATV a los 3, 6 y 9 meses. Por otro lado, los resultados indican que ATV redujo significativamente la PS y mejora la ganancia de NIC a los 3, 6 y 9 meses ( $p < 0.001$ ). El defecto intraóseo disminuyó significativamente ( $p < 0.001$ ) en grupo con ATV ( $1.60 \pm 0.24$ mm;  $1.70 \pm 0.24$  mm) en comparación con el placebo ( $0.13 \pm 0.25$ mm;  $0.08 \pm 0.26$  mm) a los 6 y 9 meses. Además, en los sitios tratados con ATV se observó un significativo relleno del defecto óseo vertical radiográfico ( $34.05 \pm 5.79\%$ ;  $35.49 \pm 5.50\%$ ) después de 6 y 9 meses, respectivamente a  $p < 0.001$ . En el estudio actual el relleno óseo fue ligeramente mayor al obtenido en el estudio anterior de Pradeep y colaboradores (32.54% a los 6 meses) (1). Por lo que ATV demostró ser levemente más eficaz que SMV(97).

El efecto clínico y radiográfico (relleno óseo) de la administración local de SMV 1.2% como complemento del raspado y pulido radicular en el tratamiento de defectos de furcación vestibular grado II en molares mandibulares fue estudiado por Pradeep, Piriyanika y colaboradores en 72 pacientes de entre 30 y 50 años. Además de las mediciones clínicas convencionales, se consideró, el nivel relativo de inserción vertical (RVAL), el cual fue determinado por la medida entre LAC y la base del saco periodontal y el nivel relativo de inserción horizontal (RHAL) que fue calculado a través de una sonda Nabers. La evaluación radiográfica de los defectos intraóseos se realizó a través de un

programa asistido por computador mediante la medición de la distancia entre el fornix de la furcación y la base del defecto (Tabla 13). Como resultado 66 pacientes completaron el estudio. El sangrado al sondaje mostró una disminución estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo tratado con SMV ( $2.02 \pm 0.23$ ) en comparación con el grupo control ( $1.80 \pm 0.22$ ) a los 6 meses. El descenso medio en la PS a los 6 meses fue de  $1.30 \pm 1.0$  mm y  $4.05 \pm 1.31$  mm en los grupos control y SMV, respectivamente ( $p = 0.001$ ). Se encontró un aumento significativo en la media de RVAL y RHAL en el grupo con SMV a  $p = 0.001$ . Además, el porcentaje medio de relleno óseo en el grupo SMV fue significativamente mayor (25.16%) en comparación con el grupo control (1.54%) a los 6 meses posteriores al tratamiento. ( $p = 0.001$ ). Este resultado es menor al obtenido en el estudio anterior de Pradeep y colaboradores (32.54%) (1), el cual administró SMV en sitios con periodontitis crónica, las diferencias se presentan probablemente, por el limitado acceso a la compleja morfología del defecto de furcación (98).

Tabla 9: Metodología de estudios administración local de estatinas en humanos.

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/ dosis	Forma de administración	Inclusión	Exclusión	Variables analizadas	Variables analizadas
Pradeep y Thorat (2010)	64	SMV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa	Única inyección subgingival a través de una jeringa de cánula roma (un sitio por sujeto)	Sistémicamente sanos, periodontitis crónica moderada: PS de 5 a 6 mm y NIC 4 a 6 mm y severa: PS $\geq$ 7 mm o NIC 6 a 9 mm. Pérdida ósea vertical $\geq$ 3 mm	Tratamiento periodontal o con antibióticos en los últimos 6 meses. Alergia a SMV. Terapia con estatinas sistémicas. Periodontitis agresiva. Fumadores, alcohólicos, diabetes (DM), inmunodeprimidos, embarazadas, lactantes	Índice de sangrado del surco modificado (mSBI), índice de placa (PI) <i>full mouth</i> y sitio específico, profundidad de sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NIC), se registraron al inicio (antes de la RPR) y a los 1, 2, 4 y 6 meses.  Concentración de SMV en FGC al inicio; en 2, 4, 6, y 24 horas, y en el día 2, 7, 14, 21, y 30	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto, al inicio y a los 6 meses
Rath y cols (2012)	60	SMV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa	Única inyección subgingival a través de una jeringa de cánula roma (un sitio por sujeto)	Sistémicamente sanos. Periodontitis crónica generalizada. PS $>$ 5 mm y evidencia radiográfica de pérdida ósea vertical de 3mm en al menos 1 sitio. Capacidad de mantener higiene oral óptima después de la fase inicial del tratamiento	Alergia a la SMV, tratamiento con estatinas sistémica, periodontitis agresiva, fumadores, historia de terapia antibiótica o periodontal en los últimos 6 meses.	mSBI, IP, PS, NIC al inicio (antes de RPR) y a los 60, 90 y 180 días.  IL-6-ARNm se analizó al inicio y a los 90 días mediante PCR	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto) al inicio y a los 180 días

Continuación tabla 9:

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/ dosis	Forma de administra- ción	Inclusión	Exclusión	Variables analizadas	Variables analizadas
<b>Pradeep, Kumari y cols (2012)</b>	67	ATV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa	Única inyección subgingival a través de una jeringa de cánula roma (un sitio por sujeto)	Sistémicamente sanos. Periodontitis crónica severa PD $\geq$ 5 mm y NIC $\geq$ 4 mm y pérdida ósea vertical $\geq$ 3 mm	Tratamiento periodontal o con antibióticos en los últimos 6 meses. Alergia a ATV/estatinas. Terapia con estatinas sistémicas. Periodontitis agresiva, fumadores, alcohólico, DM, inmunodeprimidos, embarazadas, lactantes	mSBI, <i>IP full mouth</i> y sitio específico, PS, NIC, al inicio (antes de la RPR) y a los 3, 6 y 9 meses	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto). Al inicio, 6 y 9 meses
<b>Pradeep, Priyanka y cols (2012)</b>	72	SMV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa	Única inyección en sitios de furcación a través de una jeringa de cánula roma	Periodontitis crónica y defectos de furca grado II vestibulares de primeros y segundos molares mandibulares vitales, con imagen radiolúcida en la zona de la furca en la radiografía periapical. PS de 3 m.	Tratamiento periodontal o con antibióticos en los últimos 6 meses. Enfermedad sistémica conocida. Alergia a SMV. Terapia con estatinas sistémica. Periodontitis agresiva. Fumadores, alcohólicos, DM, inmunodeprimidos, embarazadas, lactantes. Piezas con recesión gingival, endodonticamente tratados, furca grado III y movilidad grado 2	mSBI, <i>IP full mouth</i> y sitio específico, antes del RPR. PS, nivel relativo de inserción vertical (RVAL) y nivel relativo de inserción horizontal (RHAL) se consideraron al inicio (después de RPR) a los 3 y 6 meses	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia entre el fornix de la furcación y la base del defecto), al inicio y 6 meses

Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.3.3. Efecto del uso de estatinas en la asociación entre el perfil lipídico y el estado periodontal

Por otra parte, existen estudios que tienen el propósito de evaluar los efectos del tratamiento periodontal no quirúrgico en el control metabólico de la hiperlipidemia, estudiando pacientes hiperlipidémicos con o sin tratamiento de estatinas. Fentoglu, Sözen y colaboradores realizaron un estudio con 20 pacientes hiperlipidémicos con periodontitis crónica entre 34 y 62 años, los cuales recibieron 10 o 20 mg de ATV al inicio del estudio. Luego de 3 meses todos los pacientes fueron sometidos a tratamiento periodontal. Las mediciones clínicas de los parámetros periodontales incluyeron: índice de placa (Silness & Loe 1964) (IP), índice gingival (IG) (Loe & Silness 1963), profundidad de sondaje (PS), el nivel de inserción clínica (NIC) y el porcentaje de sangrado al sondaje (BOP%). Estos, junto con las mediciones sistémicas se evaluaron al inicio del estudio, a los 3 y 6 meses (Tabla 14). Todos los pacientes completaron el estudio, los resultados determinaron que luego de 3 meses de tratamiento con ATV, hubo una disminución significativa de IP, IG y BOP. Por su parte, luego de 6 meses (3 meses después del tratamiento periodontal), todos los parámetros periodontales presentaron una disminución estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ), a excepción de NIC. Además, los niveles de lípidos (colesterol total y LDL) manifiestan una reducción estadísticamente significativa después de 6 meses, en comparación con el valor inicial ( $p = 0.002$  y  $p = 0.003$ ). Por otro lado los niveles séricos de PCR mostraron un aumento estadísticamente significativo en comparación con el valor inicial ( $p = 0.011$ ) (99).

Meisel y colaboradores plantearon la posibilidad de que las estatinas pueden tener una influencia en los parámetros periodontales, al afectar a la inflamación o posiblemente debido a la asociación entre la enfermedad periodontal y la hiperlipidemia o bien, intervenir en ambas. En este estudio fueron incluidos 3.156 participantes, en los cuales se evaluaron medidas periodontales, marcadores de inflamación y fracciones de colesterol, además, se determinó el uso de estatinas y la presencia de factores de riesgo para la enfermedad periodontal (Tabla 14). Los resultados mostraron que la placa bacteriana y la pérdida de inserción periodontal se asociaron con el aumento de colesterol LDL sistémico ( $p < 0.001$ ) y PCR ( $p = 0.019$ ), este aumento fue atenuado por el uso de estatinas. Al controlar la edad, el sexo, el tabaquismo, la diabetes, la educación y el

servicio dental, las estatinas abolieron la relación entre la placa y la pérdida de inserción con el aumento de LDL ( $p < 0.001$ ), pero no se encontró interacción entre las estatinas y el aumento de PCR. (100).

En otro estudio, Fentoglu, Özdem y colaboradores realizaron una investigación que tuvo como objetivo evaluar los efectos del tratamiento periodontal en los niveles séricos y en el FGC de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, para aclarar la posible relación entre la periodontitis y la hiperlipidemia. En este ensayo clínico participaron 52 pacientes hiperlipidémicos entre 30 y 57 años y 28 pacientes sistémicamente sanos (controles), todos los pacientes presentaban periodontitis crónica. Al inicio del estudio todos los pacientes recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico y sólo 15 recibieron tratamiento con ATV de 10 o 20 mg. Los parámetros metabólicos y periodontales, además de los niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en suero y FGC, fueron medidos al inicio y a los 3 meses posteriores al tratamiento periodontal (Tabla 14). Los resultados mostraron que en los grupos de pacientes hiperlipidémicos, tanto con dieta prescrita como con tratamiento de ATV, hubo una disminución significativa de los niveles séricos de IL-6 luego de 3 meses ( $p < 0.05$ ). Además, niveles de TNF- $\alpha$  en FGC en el grupo de los hiperlipidémicos disminuyeron a los 3 meses ( $p < 0.05$ ). A su vez hubo una disminución estadísticamente significativa en los niveles de IL-6 en el FGC a los 3 meses en el grupo tratado con ATV ( $p < 0.05$ ). Con respecto a los parámetros periodontales, todos los grupos presentaron una disminución significativa de estos, a excepción de NIC que no varió significativamente. Por su parte, los parámetros metabólicos no variaron de manera significativa (101).

Por su parte, Sangwan y colaboradores realizaron un estudio transversal que evaluó en primer lugar, la asociación entre los niveles de lípidos en suero y la enfermedad periodontal, mediante la comparación del estado periodontal de los pacientes con hiperlipidemia con aquellos que son normolipidémico y en segundo lugar, los autores examinaron el estado periodontal entre los usuarios de estatinas. En este estudio fueron evaluados 140 pacientes, de los cuales 50 eran consumidores de ATV (Tabla 14). La profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica fueron significativamente mayores en el grupo hiperlipidémicos versus los normolipidémicos ( $p = 0.003$  y  $p = 0.047$ , respectivamente). Por su parte la profundidad de sondaje y el índice gingival fueron significativamente mayores en los pacientes con hiperlipidemia que no usaban estatinas

en comparación con los normolipidémicos ( $p < 0.001$  [PS] y  $p < 0.05$  [IG]) y con los consumidores de estatinas ( $p = 0.001$  [PS] y  $p < 0.05$  [IG]). Se observaron correlaciones positivas y significativas entre el PS y los TG, CT, LDL, mientras que NIC mostró correlación con CT y LDL. Además, el IG se correlacionó con TG y CT. Los análisis de regresión múltiple revelaron que mientras que la CT se asoció significativamente con la PS ( $p < 0.001$ ), LDL mostró asociación significativa con NIC ( $p = 0.013$ ). TG mostró una asociación significativa con IG ( $p = 0.020$ ) (102).

Recientemente, Subramanian y colaboradores realizaron un ensayo clínico aleatorizado doble ciego, multicéntrico. En este estudio evaluaron si el tratamiento con estatinas de alta dosis daría lugar a una reducción en la inflamación periodontal a través de fluorodesoxiglucosa-tomografía por emisión de positrones y tomografía computada (FDG-PET/TC), la cual proporciona a través de imágenes una medida no invasiva de la actividad inflamatoria. Se reclutaron 83 pacientes con aterosclerosis o con algún factor de riesgo para esta. Luego, a un grupo de pacientes se le administró dosis altas de ATV (80 mg), para compararlo con un grupo que fue tratado con 10 mg de ATV. Se realizó una evaluación de la actividad del trazador arterial y periodontal al inicio del estudio y a las 4 y 12 semanas. Además, se evaluó la pérdida ósea periodontal mediante imágenes de TC (Tabla 14). Como resultado 71 pacientes completaron el estudio y sólo 59 proporcionaron imágenes periodontales para su análisis. Después de 12 semanas, se observó una reducción significativa de la inflamación periodontal en pacientes con altas dosis de ATV ( $p = 0.04$ ). Las diferencias fueron mayores en pacientes que presentaron mayor inflamación y pérdida ósea severa, al inicio del estudio. Por otra parte, los cambios en la inflamación periodontal se correlacionaron con los cambios producidos en la inflamación carotídea.

Tabla 10: Metodología de estudios que evalúan el efecto del uso de estatinas en la asociación entre el perfil lipídico y el estado periodontal

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/dosis	Tiempo de aplicación	Inclusión	Exclusión	Variables sistémicas analizadas	Variables clínico periodontales analizadas
Fentoğlu Ö, Sözen y cols (2010)	20	ATV 10 o 20 mg	6 meses.	Pacientes hiperlipidémicos con prescripción de estatinas.  Al menos 1 diente natural en boca, al menos cuatro sacos periodontales, con profundidad de sondaje de al menos 4 mm	Cualquier otra enfermedad sistémica que afecta el metabolismo de lípidos (intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus (DM) u otras enfermedades endocrinas, síndrome nefrítico, enfermedad renal crónica, y enfermedad cardiovascular); cualquier tratamiento de reemplazo hormonal actual; elevación de tres veces las enzimas hepáticas; tratamiento periodontal en los últimos 6 meses; cualquier administración de antibióticos sistémicos en los últimos 3 meses; fumadores y ex fumadores	Edad, género, IMC, Colesterol total, TG, LDL, HDL, VLDL, glucosa plasmática en ayunas, PCR	Número de dientes presentes, IP, IG, PS, NIC, índice de sangrado (BOP)
Meisely cols (2011)	4310	SMV, Lovastatina, Pravastatina, Fluvastatina, ATV, Cerivastatina	No determinado	Sujetos > 30 años (219 con estatinas, 2.937 sin ella), dientes totalmente erupcionados	Edéntulos, terceros molares	Edad, educación, nivel socio-económico, consumo de tabaco, uso de medicamentos (estatinas y otros), Colesterol total, LDL, HDL, fibrinógeno, HbA1c (hemoglobina glicosilada), PCR	Visitas al odontólogo, placa bacteriana, sangrado al sondaje, PS, NIC, número de dientes



Continuación tabla 10:

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/ dosis	Tiempo de aplicación	Inclusión	Exclusión	Variables sistémicas analizadas	Variables clínico periodontales analizadas
Fentoğlu Ö, Kırzioğlu, Özdem y cols (2012)	80	ATV 10 o 20 mg	1 mes.	Pacientes hiperlipidémicos con una dieta prescrita (HD) o con un fármaco antilipémico grupo de las estatinas (HS). Los controles (C) fueron seleccionados de sujetos sistémicamente sanos.  Al menos 18 dientes remanentes en boca	Cualquier otra enfermedad sistémica que afecte el metabolismo de lípidos ( intolerancia a la glucosa, DM, síndrome metabólico u otras enfermedades endocrinas, síndrome nefrítico, enfermedad renal crónica, y enfermedad cardiovascular); tratamiento con fármaco antilipémico por más de un mes; cualquier tratamiento de reemplazo hormonal actual; elevación de tres veces las enzimas hepáticas; haber recibido tratamiento periodontal en los últimos 6 meses; cualquier administración de antibióticos sistémicos en los últimos 3 meses; los fumadores y ex fumadores, terceros molares	IMC, Colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicéridos, niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ en suero mediante ELISA. (Todo al inicio y a los 3 meses después del tratamiento periodontal)	IP, índice gingival, PS, NIC porcentaje de sangrado al sondaje (BOP%) (6 sitios por diente), niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ en FGC mediante ELISA. (Todo al inicio y a los 3 meses después del tratamiento periodontal)
Sangwan y cols (2013)	140	ATV 20 mg/ día	$\geq$ 3 meses	Adultos, pacientes con hiperlipidemia recibiendo tratamiento en el grupo de prueba (no farmacológico o con estatinas)  Al menos 16 dientes remanentes en boca	Historia de enfermedad sistémica que afecte al metabolismo de los lípidos o curso de la enfermedad periodontal ( intolerancia a la glucosa), DM u otras enfermedades endocrinas. Enfermedad reumática, síndrome nefrítico, insuficiencia renal crónica, enfermedad cardiovascular, embarazo, lactancia, terapia hormonal de reemplazo. Tratamiento crónico con fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, glucocorticoides, bifosfonatos uso de cualquier otro fármaco que altere el metabolismo del calcio de los huesos. Infección sistémica o cualquier historia de tratamiento con antibiótico sistémico $\leq$ 3 meses. Fumadores y ex-fumadores. Terceros molares	Niveles de TG, CT, LDL, HDL. IMC	IP, índice gingival, PS, NIC, número de dientes perdidos

Continuación tabla 10:

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/dosis	Tiempo de aplicación	Inclusión	Exclusión	Variables sistémicas analizadas	Variables clínico periodontales analizadas
Subramanian y cols (2013)	86	ATV 80 mg/día ATV 10 mg/día	12 semanas	Hombres y mujeres de 30 a 80 años de edad. Antecedentes de enfermedad carotídea, de las arterias coronarias, cerebrovascular, arterial periférica, DM2, IMC entre 30 y 40 kg/m2, circunferencia de cintura > 102 cm en hombres y > 88 cm en mujeres. C-LDL $\geq$ 60 mg / dl y nivel de triglicéridos <350 mg / dl. Tratamiento con dosis bajas de estatinas ( $\leq$ 10 mg de ATV, SMV $\leq$ 20 mg, rosuvastatina $\leq$ 5 mg, pravastatina $\leq$ 40 mg, fluvastatina o $\leq$ 40 mg)	DM 1, evento cardiovascular importante o intervención dentro de las 12 semanas de investigación, insuficiencia cardiaca significativa, enfermedad crónica hepatobiliar, condición inflamatoria sistémica crónica (como la artritis reumatoide o la psoriasis), o infección crónica. Sujetos sin evidencia de cualquier inflamación arterial	Inflamación carótida mediante FDG-PET. Inicio, 4 y 12 semanas	Inflamación periodontal mediante FDG-PET de molares y premolares. Reabsorción ósea alveolar de molares y premolares. Leve ( 1/3 coronario), moderada (1/3 medio), severa (apical al 1/3 medio). Mediante TC (inicio, 4 y 12 semanas)

Fuente: Elaboración propia

#### 4.3.3.4. Administración local de estatinas en pacientes con factores de riesgo para periodontitis

Adicionalmente, se investigó la eficacia de la administración local de SMV en pacientes con presencia de factores de riesgo para la enfermedad periodontal como diabetes y tabaquismo.

Pradeep, Rao y colaboradores reclutaron 38 pacientes entre 30 y 50 años con diagnóstico de diabetes tipo 2 y periodontitis crónica. Luego de realizar raspado y pulido radicular se administró gel de SMV 1.2% subgingival o gel placebo, se incluyeron múltiples sitios de piezas posteriores, tanto superiores como inferiores. Como resultado 35 pacientes terminaron el estudio y fueron analizados 29 sitios por cada grupo (SMV/placebo) (Tabla 15). En el grupo tratado con SMV, se observó una disminución significativamente mayor en el índice de sangrado ( $p < 0.05$ ) a los 3, 6 y 9 meses. Además, se observó una reducción significativamente mayor de PS y una ganancia de NIC a los 3, 6 y 9 meses en comparación al grupo placebo a  $p < 0.001$ . Por su parte el defecto intraóseo se redujo de manera estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) en grupo con SMV ( $1.38 \pm 0.73$  mm;  $1.62$

$\pm 0.71$  mm) en comparación al grupo no tratado ( $0.19 \pm 0.37$  mm;  $0.23 \pm 0.49$  mm) a los 6 y 9 meses y se encontró significativamente mayor porcentaje de relleno óseo en el grupo de SMV ( $27.63 \pm 13.14\%$ ;  $32.64 \pm 12.90\%$ ) en comparación con el grupo placebo ( $3.40 \pm 8.14\%$ ;  $4.22 \pm 9.75\%$ ) a los 6 y 9 meses ( $p < 0.001$ ) (103).

El efecto de administración local de SMV en 40 pacientes fumadores entre 30 y 50 años, fue evaluado por Rao y colaboradores de manera similar a los estudios anteriores (Tabla 15). Sólo 35 pacientes completaron el estudio, se obtuvo como resultado, una disminución significativa del sangrado al sondaje y PS en el grupo tratado con SMV a los 3, 6 y 9 meses posteriores a la administración, además de una ganancia significativa de NIC ( $p < 0.001$ ). Al evaluar los parámetros radiográficos en el grupo tratado con SMV, el defecto intraóseo mostró una reducción estadísticamente significativa de  $1.17 \pm 0.45$  mm;  $1.51 \pm 0.47$  mm y un significativo relleno de defecto vertical ( $24.90 \pm 8.98\%$ ;  $32.37 \pm 10.23\%$ ) a los 6 y 9 meses, respectivamente ( $p < 0.001$ ) (64).

Tabla 11: Metodología de estudios de administración local de estatinas en pacientes con factores de riesgo para periodontitis

Autor Año	N pacientes	Tipo de estatina/dosis	Forma de administración	Inclusión	Exclusión	Variables analizadas	Variables analizadas
Pradeep, Rao y cols (2013)	38	SMV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa.	Única inyección subgingival a través de una jeringa de cánula roma. Múltiples sitios por sujeto  (piezas posteriores)	Diabetes (DM) tipo 2 bien controlados. Periodontitis crónica PD $\geq$ 5 mm, NIC $\geq$ 4 mm y pérdida ósea vertical $\geq$ 3 mm. Mínimo de 20 dientes en boca	Tratamiento periodontal o con antibióticos en los últimos 6 meses. Enfermedad sistémica conocida. Alergia a grupo SMV. Terapia con estatinas sistémicas. Hiperlipidemia o que precisen dieta hipolipemiante. Periodontitis agresiva, fumadores, alcohólicos, inmunodeprimidos, embarazadas, lactantes. Piezas con recesión gingival, defectos de furcación, endodónticamente tratados, terceros molares	mSBI, IP <i>full mouth</i> y sitio específico, PS, NIC, al inicio (antes de la RPR) y a los 3, 6 y 9 meses	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto), al inicio y 6 meses.
Rao y cols (2013)	40	SMV 1.2 mg/0.1 ml En gel de metilcelulosa.	Única inyección subgingival a través de una jeringa de cánula roma. Múltiples sitios por sujeto  (piezas posteriores)	Sistémicamente sanos. Periodontitis crónica severa PD $\geq$ 5 mm y NIC $\geq$ 4 mm y pérdida ósea vertical $\geq$ 3 mm. Tabaquismo (10 cigarrillos/día por mínimo 5 años)	Tratamiento periodontal o con antibióticos en los últimos 6 meses. Ex fumadores y no fumadores. Enfermedad sistémica conocida. Alergia a grupo SMV. Terapia con estatinas sistémicas. Periodontitis agresiva. Usuarios de tabaco en cualquier otra forma que los cigarrillos. Alcohólicos. Inmunodeprimidos	mSBI, IP <i>full mouth</i> y sitio específico, PS, NIC al inicio (antes de la RPR) ya los 3, 6 y 9 meses.	Relleno óseo (radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo). Defectos intraóseos medidos por programa (distancia vertical desde la cresta del hueso alveolar a la base del defecto), al inicio, 6 y 9 meses.

Fuente:

Elaboración propia

Tabla 12: Resultados de administración sistémica y local de estatinas en ensayos clínicos aleatorizados

Autor	Estatina	Evaluación	Movilidad	Sangrado	PS	NIC	Defecto intraóseo	IL-6
Fajardo y cols (2010) PILOTO	ATV 20 mg/día	3 meses	↓ 0.17 mm	NS	NS	NS	↓ 0.75 mm	NE
Pradeep y Thorat (2010)	SMV 1.2% 1 vez	4 meses 6 meses	NE	↓ 2.35 2.32	↓ 4.23 mm 4.26 mm	↑ 3.96 mm 4.36 mm	NE ↓ 1.4 mm	NE
Rath y cols (2012)	SMV 1.2% 1 vez	3 meses 6 meses	NE	↓ 2.5 2.5	↓ 3.1 mm 4 mm	NS	NE ↓ 0.57 mm	↓ a los 90 días
Pradeep, Kumari y cols (2012)	ATV 1.2% 1 vez	3 meses 6 meses 9 meses	NE	↓ 1.37 1.65 1.63	↓ 2.2 mm 3.4 mm 3.7 mm	↑ 2.7 mm 4.2 mm 4.5 mm	NE ↓ 1.6 mm ↓ 1.7 mm	NE
Pradeep, Priyanka y cols (2012)	SMV 1.2% 1 vez	3 meses 6 meses	NE	↓ 1.8 2.02	↓ 3.06 mm 4.05 mm	↑ 3.7 mm 4.6 mm (RVAL)	NE ↓ 1.15 mm	NE
Pradeep, Rao y cols (2013)	SMV 1.2% 1 vez	3 meses 6 meses 9 meses	NE	↓ 1.43 1.73 1.66	↓ 2.79 mm 3.79 mm 4.03 mm	↑ 2.48 mm 3.83 mm 3.97 mm	NE ↓ 1.38 mm ↓ 1.62 mm	NE
Rao y cols (2013)	SMV 1.2% 1 vez	3 meses 6 meses 9 meses	NE	↓ 0.93 1.18 0.88	↓ 2.30 mm 3.37 mm 3.83 mm	↑ 2.13 mm 3.20 mm 3.63 mm	NE ↓ 1.17 mm ↓ 1.51 mm	NE

NS: No significativo ( $p > 0,05$ )  
NE: No evaluada

Fuente: Elaboración propia

La administración sistémica de ATV disminuyó significativamente la movilidad y pérdida ósea. La administración local de estatinas disminuyó todos los parámetros clínicos y radiográficos en distintos tipos de pacientes (periodontitis crónica, defectos de furcación, diabéticos, fumadores). Sólo en un estudio la ganancia de NIC no fue significativamente mayor a la del grupo control. SMV disminuyó niveles de IL-6 en FGC.

Tabla 13: Resultado de administración sistémica de estatinas en estudios observacionales

Autor Año	Tipo de estudio	Estatina	Pérdida de dientes	Inflamación gingival	Sacos periodontales	IL-1 $\beta$ en el FGC
Cunha-Cruz y cols (2006)	Cohorte	ND	↓ 48 % A partir del cuarto año de uso de estatinas	NE	NE	NE
Savery cols (2007)	Cohorte	ATV SMV Otras	NS	NE	NE	NE
Lindy y cols (2008)	Transversal	ATV SMV	NE	↓ 40 %	↓ 37 %	NE
Saxliny cols (2009)	Transversal	ATV SMV Otras	NE	NS	↓ PS $\geq$ a 4 mm En piezas con placa bacteriana e inflamación gingival	NE
Sureshy cols 2013	Transversal	ATV	NE	NS	NS	↓ 58%

NS: No significativo ( $p > 0,05$ )    ND: No determinado  
NE: No evaluada

Fuente: Elaboración propia

Al ajustar los factores de confusión, estatinas no disminuyeron la pérdida de dientes. Estudios transversales determinan que el uso de estatinas disminuye los sacos periodontales y la IL-1 $\beta$ .

Tabla 14: Nivel de evidencia y grado de recomendación de estudios de administración sistémica de estatinas en humanos

Autor Año	Artículo	Revista	Tipo de estudio	Nivel de evidencia y grado de recomendación
Cunha-Cruz y cols (2006)	Statin Use and Tooth Loss in Chronic Periodontitis Patients	Journal of periodontology	Cohorte	2 + C
Savery cols (2007)	Are statins associated with decreased tooth loss in chronic periodontitis?	Journal of clinical periodontology	Cohorte	2 + C
Lindyy cols (2008)	Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study	BMC Oral Health	Transversal	3 D
Saxlin y cols (2009)	Dual effect of statin medication on the periodontium	Journal of clinical periodontology	Transversal	3 D
Fajardo y cols (2010)	Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study	Journal of clinical periodontology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Suresh y cols (2013)	Evaluation of anti- inflammatory effect of statins in chronic periodontitis	Indian Journal of Pharma cology	Transversal	3 D

Fuente: Elaboración propia

Tabla 15: Nivel de evidencia y grado de recomendación de los estudios de administración local de estatinas en humanos

Autor Año	Artículo	Revista	Tipo de estudio	Nivel de evidencia y grado de recomendación
Pradeep y Thorat (2010)	Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial	Journal of periodontology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Rath y cols (2012)	Clinical, Radiological and IL-6 Evaluation of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Chronic Periodontitis	International Journal of Drug Delivery	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Pradeep, Kumari y cols (2012)	Clinical Efficacy of Subgingivally Delivered 1.2% Atorvastatin in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial	Journal of periodontology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Pradeep, Priyanka y cols (2012)	Clinical Efficacy of Subgingivally Delivered 1.2-mg Simvastatin in the Treatment of Individuals With Class II Furcation Defects: A Randomized Controlled Clinical Trial	Journal of periodontology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Pradeep, Rao y cols (2013)	Efficacy of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized double-masked controlled clinical trial	Journal of periodontology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A
Rao y cols (2013)	Simvastatin local drug delivery in smokers with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial	Australian Dental Journal	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A

Fuente: Elaboración propia



Tabla 16: Nivel de evidencia y grado de recomendación de estudios que evalúan el efecto del uso de estatinas en la asociación entre el perfil lipídico y el estado periodontal.

Autor Año	Artículo	Revista	Tipo de estudio	Nivel de evidencia y grado de recomendación
Fentoğlu, Sözen y cols (2010)	Short-term effects of periodontal therapy as an adjunct to anti-lipemic treatment	Oral Diseases	Estudios de intervención no aleatorizados	1 - D
Fentoğlu, Özdem y cols (2012)	Proinflammatory cytokine levels in hyperlipidemic patients with periodontitis after periodontal treatment	Oral Diseases	Estudios de intervención no aleatorizados	1 - D
Meisel y cols (2011)	Cholesterol, C-Reactive Protein, and Periodontitis: HMG-CoA-Reductase Inhibitors (Statins) as Effect Modifiers	ISRN Dentistry	Transversal	3 D
Sangwan y cols (2013)	Periodontal Status and Hyperlipidemia: Statin Users Versus Non-Users	Journal of periodontology	Transversal	3 D
Subramanian y cols (2013)	High Dose Atorvastatin Reduces Periodontal Inflammation: A Novel Pleiotropic Effect of Statins	Journal of the American College of Cardiology	Ensayo clínico aleatorizado	1 + A

Fuente: Elaboración propia

# ARTÍCULO 1

Cambios del estado  
clínico periodontal según  
consumo sistémico de estatina.

## **5. ARTÍCULO 1.**

### **5.1. Descripción del artículo.**

**Título:** Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatinas.

**Autores:** David Rosenberg, Catherine Andrade, Ricardo Larrea, Alejandra Chaparro, Carolina Inostroza, Valeria Ramírez, Cinthya Orquidal, Deborah Violan, José Nart.

**Revista publicada:** Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral.

**Factor de impacto de la revista en el 2014:** 0.1481

**Fecha de envío:** 10 de Octubre de 2014

**Fecha de aceptación:** 16 de marzo de 2015 (Ref. PIRO-D-14-00016R1)

**Referencia de publicación:**

ISSN 0719-0107

<http://dx.doi.org/10.1016/j.piro.2015.03.005>

## 5.2. Resumen y texto principal:

### Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatinas

#### Resumen:

**Objetivos:** Describir los cambios del estado clínico periodontal de pacientes según consumo sistémico de estatinas por indicación del cardiólogo. **Material y Método:** Se realizó un estudio descriptivo en el cual se reclutaron pacientes con periodontitis crónica derivados desde cardiología de la Clínica Dávila. Un grupo de ellos iniciaría terapia de estatinas. Se realizaron mediciones clínicas periodontales de profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínico (NIC), índice de sangrado (IS), área de superficie periodontal inflamada (PISA), e índice gingival (IG), al inicio (antes de comenzar la terapia de estatinas) y 6 meses después. Los datos fueron analizados utilizando estadística descriptiva. **Resultados:** 10 pacientes participaron del estudio, 5 con indicación de estatinas. El grupo con estatinas en comparación al grupo sin estatinas, presentó una disminución en promedio: de PS (0,4 mm versus 0,13 mm); porcentaje de sitios con PS  $\geq 5$ mm (4,16% versus 1,09%); de NIC (0,5 mm versus 0,2 mm), IS (27,16% versus 8,8%) y PISA (305,68 mm<sup>2</sup> versus 121,35). **Conclusiones:** Estos resultados sugieren que pacientes con periodontitis crónica podrían obtener beneficios de la terapia sistémica con estatinas. Se requiere de estudios clínicos con asignación aleatoria y el óptimo tamaño muestral que comprueben el efecto e impacto de las estatinas sobre el estado periodontal.

**Palabras claves:** Periodontitis, Estatinas, Cardiología

### Changes of clinic periodontal status according to systemic statins intake

#### Abstract:

**Objective:** To describe changes in periodontal clinical status of patients by systemic statin use at the direction of a cardiologist. **Material and Methods:** A descriptive study in which patients with chronic periodontitis referred from Department of Cardiovascular Diseases

of Dávila Clinic was performed. A group of them begin statin therapy. Clinical measurements of periodontal probing depth (PS), clinical attachment level (NIC), bleeding index (SI), periodontal inflamed surface area (PISA), and gingival index (GI), were performed at baseline (before starting statin therapy) and 6 months later. Data were analyzed using descriptive statistics. **Results:** 10 patients in total participated in the study, and five of them received statin therapy. The statin group compared to the group without statins, showed a decrease in average: PS (0.4 mm versus 0.13 mm); percentage of sites  $\geq$  5mm PS (4.16% versus 1.09%); NIC (0.5 mm versus 0.2 mm), IS (27.16% versus 8.8%) and PISA (305.68 versus 121.35 mm<sup>2</sup>). **Conclusions:** These results suggest that patients with chronic periodontitis may benefit from systemic therapy with statins. It requires randomized clinical trials with optimal sample size to check the effect and impact of statins on the periodontal status.

**Keywords:** Periodontitis, Statins, Cardiology

## **Introducción**

La periodontitis crónica es una enfermedad infecciosa caracterizada por una lenta y progresiva pérdida de inserción clínica y de las estructuras de soporte de las piezas dentarias. La progresión y severidad de la periodontitis dependen del balance entre las bacterias periodontales y la respuesta inmune que establece el hospedero frente a ellas<sup>(1)</sup>.

En la respuesta inmune-inflamatoria periodontal participan diversas citoquinas pro-inflamatorias, como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , prostaglandina E2 (PGE2) metaloproteinasas (MMPs), así como otros mediadores asociados a reabsorción ósea, como el ligando de receptor activador para el factor nuclear  $\kappa$  B (RANKL), entre otros<sup>(2,3)</sup>. Debido a esto, surge el interés de desarrollar nuevos enfoques terapéuticos, basados no solamente en la eliminación del agente etiológico, como lo ha sido tradicionalmente, sino también dirigidos a la modulación de la respuesta del hospedero frente al estímulo bacteriano<sup>(4)</sup>.

Las estatinas, fármacos ampliamente utilizados para la reducción del colesterol, poseen efectos pleiotrópicos adicionales como: mejoramiento de la disfunción endotelial; disminución del estrés oxidativo e inflamación; inhibición de la respuesta trombogénica; y efectos moduladores de la respuesta inmune<sup>(5)</sup>. Las estatinas podrían aumentar el nivel de óxido nítrico disponible (vasodilatador endógeno), disminuir los niveles circulantes de citoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-6 y reducir la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (CMH II), disminuyendo la respuesta de las células T e incluso serían capaces de promover la formación de tejido óseo<sup>(6,7)</sup>.

Una serie de estudios clínicos en humanos han mostrado que las estatinas sistémicas, además de otorgar los beneficios a nivel cardiovascular, serían capaces de mejorar ciertos parámetros clínicos periodontales, en pacientes afectados por enfermedad periodontal<sup>(8-11)</sup>.

El objetivo del presente estudio fue describir los cambios en el estado clínico periodontal de pacientes con o sin terapia sistémica de estatinas por indicación del cardiólogo.

### **Material y Método:**

Se realizó un estudio descriptivo en pacientes que acudieron a la unidad de diagnóstico del Centro Odontológico de Especialidades Médicas de la Universidad de los Andes (CESA), en el Hospital Parroquial de San Bernardo (HPSB), Región Metropolitana, Santiago, Chile, durante el año 2012, derivados desde el departamento de cardiología de la Clínica Dávila. Algunos de los pacientes eventualmente, comenzarían la terapia de estatinas, por indicación del cardiólogo, así como también habría pacientes sin consumo de estatinas. Todos los pacientes ingresaron voluntariamente al estudio y firmaron un consentimiento informado antes de participar. La totalidad de ellos tuvo acceso a tratamiento periodontal de acuerdo a sus necesidades, posterior a la evaluación. El protocolo de este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Los Andes y de la Clínica Dávila, y sigue los principios de la Declaración de Helsinki revisada (64<sup>a</sup> Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2008).

Criterios de selección: pacientes de 30 años o más, que estuviesen en tratamiento en el departamento de cardiología de la Clínica Dávila, Región Metropolitana, Chile, durante el año 2012, con diagnóstico de periodontitis de acuerdo a la clasificación de Page y Eke<sup>(12)</sup> y al menos 14 dientes naturales (excluyendo terceros molares). Fueron excluidos sujetos que padecían alguna patología autoinmune, habían recibido tratamiento periodontal en los últimos 12 meses, o hayan estado bajo terapia, en los últimos dos meses de: antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos, bloqueadores de canales de calcio, fenitoína, ciclosporina o cualquier fármaco que pudiese afectar el tejido gingival.

### ***Evaluación del estado periodontal:***

Se realizó un examen periodontal completo al inicio del estudio, antes de que algunos pacientes comenzaran la terapia de estatinas por indicación del cardiólogo, y luego de 6 meses. Las evaluaciones fueron realizadas por un Periodoncista previamente entrenado y luego de haber evaluado la reproducibilidad de sus registros, en un sillón dental del CESA, con luz artificial y utilizando un instrumental de examen básico (espejo, pinza y sonda curva), además de una sonda manual Periodontal Hu-Friedy Carolina del Norte. Se evaluó: profundidad al sondaje (PS), nivel de inserción clínico (NIC) e índice de sangrado (IS). Estos fueron medidos en 6 sitios por diente: mesiovestibular, mediovestibular, distovestibular, mesiopalatino, mediopalatino, y distopalatino. A partir de estos valores se calculó el promedio para cada variable, además del porcentaje de sitios con PS 0-2 mm, 0-4 mm y  $\geq 5$  mm y el porcentaje de sitios con NIC 0-2 mm, 0-4 mm y  $\geq 5$  mm. Se determinó también, el índice gingival (IG) de acuerdo a lo descrito por Löe<sup>(13)</sup> y el tamaño de la herida periodontal mediante el método PISA, descrito por Nesse y colaboradores, utilizando una hoja de Microsoft Office disponible en forma gratuita en la página web: [www.parsprototo.info](http://www.parsprototo.info)<sup>(14)</sup>.

PS se definió como la distancia desde el margen gingival a la base del saco clínico periodontal en cada sitio. NIC se midió como la distancia entre la base del saco periodontal clínico y el límite amelocementario (LAC) en cada sitio. El IS fue determinado como el porcentaje de sitios con sangramiento al sondaje.

**Evaluación de la reproducibilidad intra-examinador:**

Se evaluó a través de un doble registro de variables clínicas periodontales (PS, NIC y recesión) en 5 pacientes (6 sitios por diente, excluyendo terceros molares), realizado con un intervalo de 24 horas antes de comenzar el estudio. Al realizar el cálculo del coeficiente de correlación intraclase (ICC), se observó una variación de 0.99 a 1, indicando una alta concordancia entre ambas mediciones.

**Ciegos del estudio:**

Solo el cardiólogo registró el consumo de estatina durante el desarrollo del estudio. Por lo tanto, el examinador fue ciego a la exposición.

**Análisis estadístico**

Se realizó un análisis descriptivo de los datos. Las variables cuantitativas se describieron con promedios y desviaciones estándar (DE) debido a que se encontró simetría en la distribución a través de la evaluación gráfica con histogramas de frecuencias de cada variable según grupo. Para evaluar el cambio de la condición periodontal se calcularon los deltas para cada variable (correspondientes a la diferencia entre los valores obtenidos en la medición inicial y los obtenidos luego de 6 meses). Las variables categóricas se describieron con frecuencias absolutas y porcentajes. El análisis se realizó en el software STATA SE/v12 (STATAcorp®).

**Resultados:**

Se reclutaron 10 pacientes (5 hombres y 5 mujeres), con un promedio de edad de 56,2 años (DE: 5,5 años). 5 pacientes estuvieron bajo terapia de estatinas, de los cuales 4 recibieron como tratamiento Atorvastatina (20 mg/día) y uno recibió Rosuvastatina (20 mg/día). Las características basales se describen en la tabla 1.

La tabla 2 muestra las diferencias (deltas) entre el nivel basal y 6 meses después para cada variable según consumo de estatinas.



## **Discusión**

Los resultados de este estudio exploratorio, muestran una mejoría en los parámetros clínicos periodontales en aquellos pacientes que consumieron estatinas, por indicación del cardiólogo, en comparación con quienes no la consumieron.

Otros estudios, como el de Magán-Fernandez y colaboradores, obtuvieron una reducción promedio de 0,8 mm ( $p=0,050$ ) de pérdida de inserción en pacientes hiperlipidémicos tratados con simvastatina en comparación a los pacientes normolipidémicos<sup>(15)</sup>. En nuestro estudio disminuyó más el promedio de NIC en los pacientes con estatinas en comparación con los pacientes sin estatinas, y aumentó el porcentaje de sitios con NIC 0-2 mm. Respecto a esto, también existen reportes en relación a la aplicación tópica de estos fármacos. Pradeep y colaboradores, encontraron ganancias significativas en los niveles de inserción a los 3, 6 y 9 meses de seguimiento en aquellos pacientes con terapia periodontal mecánica más la aplicación de un gel con simvastatina al 1,2% en comparación a quienes recibieron solo la terapia periodontal mecánica<sup>(16)</sup>. Un estudio similar, que utilizó un gel con atorvastatina al 1,2% junto a raspado y alisado radicular, observó incluso mayores ganancias de inserción a los 9 meses<sup>(17)</sup>. Estos resultados, podrían asociarse a ciertas propiedades de las estatinas que favorecen la formación ósea, así como el metabolismo y proliferación de las células del ligamento periodontal<sup>(18)</sup>. Reportes señalan, que estos fármacos serían capaces de estimular la proteína morfogenética ósea 2 (BMP-2) la cual promueve la diferenciación a osteoblastos<sup>(19)</sup>. Así también, estos fármacos han mostrado la capacidad de aumentar los niveles de sialoproteína ósea, osteocalcina, y colágeno tipo I, asociado a la supresión de la expresión genética de metaloproteinasas<sup>(20)</sup>.

Por otra parte, nuestro estudio observó una disminución del PISA en los pacientes que consumieron estatinas durante 6 meses en comparación con aquellos que no les fue indicada la terapia. Al respecto, Lindy y colaboradores, encontraron un 40% menos de daño en aquellos pacientes con periodontitis crónica avanzada bajo terapia de estatinas en comparación a aquellos sin terapia, utilizando el índice PIBI (Periodontal Inflammatory Burden Index). También observaron un 37% menos de sacos periodontales mayores de 4mm en aquellos pacientes que habían consumido estatinas versus los que

no la consumieron<sup>(9)</sup>. Nuestros resultados indicaron una reducción de 4,16% en los sacos  $\geq$  5mm en aquellos pacientes que consumieron estatinas durante 6 meses en comparación a 1,09% en el grupo sin estatinas.

Es interesante notar, que el grupo sin estatinas presentó una leve mejoría de algunos parámetros periodontales, esto podría atribuirse a que los pacientes al ingresar al estudio y encontrarse en un ambiente clínico, donde serían evaluados, podrían haber mejorado los cuidados de higiene oral, lo cual evidentemente podría haber provocado un cambio positivo en su condición periodontal. No es posible atribuirlo a otra causa, ya que las condiciones fueron exactamente iguales para ambos grupos en estudio. Sin embargo, la mejora en el grupo con estatinas como hemos mencionado anteriormente, es significativamente superior.

Los mecanismos por los cuales las estatinas disminuirían la inflamación periodontal, involucran efectos del fármaco a nivel inmunológico y en el estado inflamatorio. Dentro de ellos, la literatura señala que las estatinas son capaces de generar una inmunomodulación del hospedero al disminuir microdominios celulares, lo cual implica una reducción en la comunicación inter e intracelular, alterando funciones como la capacidad de estimular la proliferación de linfocitos T desde las células dendríticas, al no permitir la adhesión entre estas dos células por medio de LFA-1 (antígeno 1 asociado a función linfocitaria), modificando el tráfico de leucocitos en condiciones hemostáticas e inflamatorias<sup>(21)</sup>. Además, las estatinas podrían poseer un efecto represor en la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II), necesario para la presentación de antígenos y activación de células T, disminuyendo mediante este mecanismo, la síntesis y liberación de mediadores inflamatorios<sup>(22,23)</sup>. Las estatinas, a su vez podrían alterar la endocitosis de antígenos en las células presentadoras de antígeno al modificar su citoesqueleto y afectar el fenotipo de los linfocitos T favoreciendo una respuesta Th2 sobre Th1, asociada a una mayor liberación de citoquinas antiinflamatorias<sup>(24)</sup>. A nivel periodontal, las estatinas han mostrado disminución de mediadores inflamatorios como IL-1 e IL-6 en el fluido gingival crevicular<sup>(25)</sup>.

La principal limitación del presente estudio fue el escaso número de participantes, principalmente debido a la dificultad que tenía el realizar las mediciones basales

exactamente antes de que algunos pacientes comenzaran la terapia de estatinas, lo cual requería de una estricta coordinación, al derivar los pacientes desde cardiología. Por ello, pese a ser resultados preliminares, los datos obtenidos son valiosos, ya que permiten observar prospectivamente la influencia otorgada por la terapia sistémica de estatina sobre el estado periodontal. Por otra parte, el grupo que recibió estatinas presentó un mayor porcentaje de sujetos con consumo de tabaco y diabetes, lo que podría haberse evaluado con un mayor tamaño de muestra ajustando por ejemplo por esas variables de confusión.

Las estatinas podrían revolucionar el manejo de la periodontitis, modulando la respuesta inmune del hospedero frente a la presencia de la placa bacteriana. Sin embargo, para poder establecer conclusiones definitivas, es necesario un estudio clínico aleatorio con un diseño y tamaño muestral apropiados. Futuros estudios deberían evaluar el efecto de distintos tipos de estatinas y diferentes dosis a nivel del tejido periodontal. Así también, considerando que solo los pacientes con alguna condición de riesgo cardiovascular recibirían los beneficios de la terapia sistémica de estatinas, sería relevante continuar investigando los beneficios otorgados por este fármaco a través de medios tópicos de aplicación, permitiendo llevar directamente las propiedades de las estatinas a los sitios periodontalmente comprometidos.

Los resultados preliminares de nuestro estudio, revelan que pacientes con periodontitis crónica bajo terapia de estatinas, podrían presentar mejoras clínicas a nivel del tejido periodontal en comparación con aquellos pacientes que no consumieron este fármaco, sin terapia periodontal asociada.

### **Agradecimientos:**

Esta investigación fue financiada por la Universidad de Los Andes a través de un Proyecto FIC-ODO 2013.

### **Conflictos de Interés:**

Los autores declaran no presentar conflictos de interés de ningún tipo.

## **Bibliografía**

1. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2001;25(1):8–20.
2. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2014;64(1):57–80.
3. Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: “double indemnity” in protecting the host. *Periodontol 2000* 2013;62(1):163–202.
4. Oringer RJ, Research, Science, and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Modulation of the host response in periodontal therapy. *J Periodontol* 2002;73(4):460–70.
5. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic Effects of Statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45(1):89–118
6. Blanco-Colio LM, Tunon J, Martín-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int* 2003;63(1):12–23.
7. Edwards CJ, Spector TD. Statins as modulators of bone formation. *Arthritis Res* 2002;4(3):151–3.
8. Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2006;77:1061–1066.
9. Lindy O, Suomalainen K, Mäkelä M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health* 2008;8:16.
10. Saxlin T, Suominen-Taipale L, Knuuttila M, Alha P, Ylöstalo P. Dual effect of statin medication on the periodontium. *J Clin Periodontol* 2009; 36:997-1003.
11. Fajardo ME, Rocha ML, Sánchez-Marin FJ, Espinosa-Chávez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol* 2010;37(11):1016–22.
12. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 2007;78(7 Suppl):1387–99.
13. Löe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol* 1967;38(6):610–6.

14. Nesse W, Abbas F, Van Der Ploeg I, Spijkervet FKL, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol* 2008;35(8):668–73.
15. Magán-Fernández A, Papay-Ramírez L, Tomás J, Marfil-Alvarez R, Rizzo M, Bravo M, et al. Association of Simvastatin and Hyperlipidemia with Periodontal Status and Bone Metabolism Markers. *J Periodontol*. 2014;85(10):1408–15.
16. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical Effect of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol* 2010;81(2):214–22.
17. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical Efficacy of Subgingivally Delivered 1.2% Atorvastatin in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol* 2012;1–10.
18. Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin J-P. Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontol* 2005;76(2):295-302.
19. Garrett IR, Mundy GR. The role of statins as potential targets for bone formation. *Arthritis Res* 2002;4(4):237–40.
20. Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I, Yanagawa T, Yoshida H, Horiuchi N. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem* 2004;92(3):458–71.
21. Higuera EA, Rugeles MT, Montoya CJ. Actividad inmunomoduladora y anti-VIH de las estatinas. *Infection* 2011;15(2):108–17.
22. Lee SJ, Qin H, Benveniste EN. The IFN- $\gamma$ -induced transcriptional program of the CIITA gene is inhibited by statins. *Eur J Immunol* 2008;38(8):2325–36.
23. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000;6(12):1399–402.
24. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol* 2006;6(5):358–70.
25. Suresh S, Narayana S, Jayakumar P, Sudhakar U, Pramod V. Evaluation of anti-inflammatory effect of statins in chronic periodontitis. *Indian J Pharmacol* 2013;45(4):391-4.

Tabla 1. Descripción basal y luego de 6 meses según consumo de estatina.

Variables	Basal		6 Meses	
	Sin estatinas n=5	Con estatinas n=5	Sin estatinas n=5	Con estatinas n=5
Hombres	3 (30%)	2 (20%)	-	-
Diabéticos	0 (0%)	2 (20%)	-	-
Fumadores	0 (0%)	2 (20%)	-	-
Periodontitis moderada	0 (0%)	1 (10%)	-	-
Periodontitis severa	5 (50%)	4 (40%)	-	-
Promedio de profundidad al sondaje (mm)	2,36 (0,77)	2,60 (0,38)	2,23 (0,66)	2,2 (0,39)
Profundidad al sondaje 0-2 mm (% de sitios)	69,28 (22,5)	52,75 (18,32)	74,41 (17,72)	66,19 (16,07)
Profundidad al sondaje 3-4 mm (% de sitios)	22,59 (11,46)	40,05 (14,46)	19,77 (11,0)	30,38 (13,8)
Profundidad al sondaje ≥ 5mm (% de sitios)	8,11 (13,02)	7,19 (5,07)	7,02 (12,01)	3,03 (2,63)
Promedio de nivel de inserción clínico (mm)	3,3 (1,1)	3,41 (1,18)	3,1 (1,03)	2,91 (1,27)
Nivel de inserción 0-2 mm (% de sitios)	46,9 (17,08)	38,93 (28,84)	52,77 (16,92)	54,56 (34,74)
Nivel de inserción 3-4 mm (% de sitios)	35,92 (9,64)	37,54 (8,48)	32,03 (11,49)	24,74 (13,73)
Nivel de inserción ≥ 5 mm (% de sitios)	14,72 (14,62)	23,52 (23,64)	15,21 (15,5)	20,64 (23,57)
Índice de sangrado (% de sitios)	37,33 (21,21)	54,79 (13,53)	28,53 (26,84)	27,63 (14,10)
PISA (mm <sup>2</sup> )	445,44 (411,12)	552,10 (257,19)	324,09 (406,84)	246,42 (143,41)
Índice gingival	1,47 (0,22)	1,65 (0,17)	1,34 (0,31)	1,37 (0,15)

\*Los datos se muestran como frecuencia absoluta (%) y promedio (DE).

Tabla 2. Descripción de los deltas de las variables resultado (diferencia entre medición inicial y medición a los 6 meses) de acuerdo consumo de estatinas.

Variable	Sin estatinas n=5	Con estatinas n=5
Promedio de profundidad al sondaje(mm)	0,13 (0,24)	0,4 (0,12)
Profundidad al sondaje 0-2 mm (% de sitios)	-5,11 (11,85)	-13,43 (5,92)
Profundidad al sondaje 3-4 mm(% de sitios)	2,8 (10,57)	9,6 (5,6)
Profundidad al sondaje $\geq$ 5mm (% de sitios)	1,09 (1,22)	4,16 (2,86)
Promedio de nivel de inserción clínico (mm)	0,20 (0,19)	0,50 (0,09)
Nivel de inserción 0-2 mm (% de sitios)	-5,86 (7,82)	-15,62 (6,78)
Nivel de inserción 3-4 mm (% de sitios)	3,89 (9,13)	12,80 (7,23)
Nivel de inserción $\geq$ 5 mm (% de sitios)	-0,48 (3,70)	2,82 (2,24)
Índice de sangrado (% de sitios)	8,80 (8,16)	27,16 (5,14)
PISA (mm <sup>2</sup> )	121,35 (6,56)	305,68 (135,62)
Índice gingival	0,13 (0,15)	0,28 (0,12)

Los datos se muestran como promedios (DE).

# A RTÍCULO 2

Atorvastatin-medicated dentifrice  
significantly inhibits  
CD4+ T cell proliferation.



## 6. ARTÍCULO 2.

### 6.1. DESCRIPCIÓN:

**Título:** Atorvastatin-medicated dentifrice significantly inhibits CD4+ T cell proliferation.

**Autores:** David Rosenberg, Catherine Andrade, Jeremy Kernitzky, Valeria Ramírez, Deborah Violant, José Nart.

**Revista publicada:** International Journal of Morphology

**Fecha de envío:** 16 de Enero de 2017 (submitted IJM 036.17)

**Fecha de aceptación:** 01 de Marzo de 2017

**Fecha de Publicación:** Septiembre de 2017 (vol. 35, 2017)

**Abstract.**

**Background:** Reports indicate that statins (cholesterol-lowering drugs), in addition to lowering cholesterol, have an immunomodulatory effect. This effect may be beneficial for the treatment of several diseases, including periodontal disease. The aim of the present study was to evaluate the immunomodulatory effect of an atorvastatin-medicated dentifrice on CD4+ T cell proliferation.

**Methods:** CD4+ T cell proliferation assays and peripheral blood mononuclear cell (PBMC) viability assays were conducted on PBMCs from healthy donors cultured under the following conditions: control, atorvastatin solution, atorvastatin-medicated dentifrice, and dentifrice without atorvastatin at concentrations of 1, 5, 10, 50 and 100  $\mu\text{M}$ . A Generalized Equation Estimation (GEE) model was used to analyze concentration versus proliferation and concentration versus percentage of dead cells within each group evaluated.

**Results:** Atorvastatin-medicated dentifrice (p-value <0.0001) and atorvastatin solution (p-value <0.0001) significantly inhibited CD4+ T cell proliferation in a dose-dependent manner compared with the dentifrice without atorvastatin and control conditions. Only the relationship between atorvastatin solution and percentage of dead cells was significant compared to the other conditions (p-value 0.019).

**Conclusion:** Our results revealed that atorvastatin-medicated dentifrice at concentrations of 1 to 100  $\mu\text{M}$  had immunomodulatory effects, inhibiting CD4+ T cell proliferation without affecting PBMC viability. The other components of the dentifrice did not affect CD4+ T cell proliferation or cell viability, indicating its utility as a vehicle to achieve the desired effects of atorvastatin in periodontal tissue. Controlled clinical trials are still needed to evaluate the clinical effects of an atorvastatin-medicated dentifrice on the periodontium.

**Key words:** Atorvastatin; Dentifrice; CD4+ T Cells; Flow Cytometry

The current evidence regarding the pathogenesis of periodontal disease suggests that the immune response plays a significant role in disease development and progression<sup>1, 2</sup>. The dysregulation of inflammatory and immune mechanisms in susceptible patients in response to bacterial challenge promotes the development of chronic inflammation and the destruction of periodontal tissues, thereby establishing the disease<sup>2</sup>.

Entry of periodontopathogenic bacteria and their products in host tissues results in the activation of a variety of innate and adaptive immune cells and the release of different intercellular messengers. T cells are an important component of the inflammatory cell infiltrate present in periodontal lesions. These cells are able to produce a number of inflammatory cytokines in response to bacterial invasion; one example of these cytokines is interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), which can activate macrophages, which in turn release mediators associated with bone destruction, such as the receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL)<sup>3</sup>.

New scientific evidence of the periodontal immune response has allowed for the key regulatory role of T cells to be distinguished. Depending on the response type of these cells through their different phenotypes, the effect could be either protective or destructive<sup>4, 5</sup>.

The current therapeutic approaches used to manage periodontal disease are primarily aimed at controlling the etiologic agent (biofilm) and do not consider regulating the immune response; thus, new treatment approaches that address this issue need to be developed.

Within this context, statins (drugs used to treat dyslipidemia) have demonstrated a number of beneficial effects against periodontal disease because of the additional properties they possess that are independent of their capacity to lower serum cholesterol<sup>6</sup>. These additional properties are observed because, in addition to inhibiting the enzyme hydroxymethylglutaryl CoA (HMG CoA) reductase, which is responsible for cholesterol formation, statins also inhibit intermediate products, such as isoprenoids, which play a fundamental role in regulating certain proteins that control multiple cell functions<sup>7</sup>.

These reported effects include the following: improving endothelial dysfunction, increasing the stability of atheroma plaques, decreasing oxidative stress and inflammation, inhibiting the thrombogenic response, and immunomodulation<sup>6</sup>.

Among their effects related to the immune response, statins can alter the morphology and motility of leukocytes, endo- and exocytic vesicle transport, phagocytosis and lysis of microorganisms, antigen processing and presentation, lymphocyte activation and proliferation, and secretion of multiple chemokines and cytokines<sup>8</sup>. Other reports have indicated that statins may inhibit major histocompatibility complex class II (MHC II) proteins, which are essential for antigen presentation and T cell activation<sup>9, 10</sup>. They may also modify the actin in the cytoskeleton of antigen-presenting cells, altering antigen endocytosis and, thus, affecting T cell activation and proliferation<sup>11</sup>.

Furthermore, statins are also capable of disrupting the integrity of lipid rafts on the cell membrane, which are important microdomains that ensure the coupling of cell signaling complexes and, thus, can affect the activation of the immune response<sup>11</sup>.

Additionally, statins may affect the differentiation of different T cell subsets, promoting a T helper 2 (Th2) response instead of a T helper 1 (Th1) response, thereby decreasing the levels of pro-inflammatory cytokines important for resolving bacterial infections<sup>11</sup>.

Several studies have reported improvements in clinical status, such as probing depth or the clinical attachment level of patients with periodontal disease, along with molecular changes in certain inflammatory markers, such as interleukin 6 (IL-6), due to the systemic use or topical application of statins<sup>12-14</sup>.

Considering that the immunomodulatory properties of statins may benefit patients with periodontal disease, there is a strong interest in assessing the immunomodulatory effects of statins using dentifrice as a delivery vehicle, a product that is widely used as an adjunct in oral hygiene but has not currently been investigated as a vehicle for statin treatment.

The aim of this *in vitro* study was to evaluate the effects of an atorvastatin-medicated dentifrice on T cell viability and proliferation.

## **Materials and Methods**

This study was conducted in accordance with the ethical considerations of the Declaration of Helsinki (64<sup>th</sup> General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2008) and obtained the approval of the ethics committee of the School of Medicine at the University of the Andes, Santiago, Chile. Additionally, the participants (3 blood donors) signed an informed consent form before participating the study.

### **Preparation of atorvastatin samples**

The experimental samples were prepared in a laboratory of a Chilean pharmacy chain (SALCOBRAND S.A) and included the following: a solution of pure atorvastatin (5 mg/ml), atorvastatin-medicated dentifrice (3.7% p/p), and dentifrice without atorvastatin. The dentifrice base used was composed of menthol (5 mg), sodium fluoride (5 mg), Lutrol gel (250 mg), and base gel (5 g).

### **Collection and preparation of PBMCs**

PBMCs were isolated from heparinized human peripheral blood samples (30 ml) from 3 healthy donors using Ficoll Plus™ (Amersham Biosciences, USA). Briefly, 7 ml of peripheral blood was added to 5 ml of Ficoll Plus™. Then, the sample was centrifuged at 1700 rpm for 20 minutes at room temperature. A whitish intermediate phase composed of PBMCs was collected. Next, the cells were washed with 50 ml of PBS, centrifuged at 1800 rpm for 10 minutes, and re-suspended in complete RPMI 1640 medium (10% fetal bovine serum [FBS], 2 mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, and 100 µg/mL streptomycin).

### **T cell proliferation assay**

PBMCs were stained with Cell Trace™ Violet probe (CTV) (# C34557, Molecular Probes, Massachusetts, USA) following the manufacturer's instructions to assess cell proliferation assay by flow cytometry. PBMCs were cultured in complete RPMI 1640 medium and

stimulated with phytohemagglutinin (PHA; 25 µg/ml). In addition, PBMCs were treated with: atorvastatin solution, atorvastatin-medicated dentifrice at different concentrations (1, 5, 10, 50 and 100 µM), and equivalent amounts of dentifrice without atorvastatin at different concentrations or only medium for 4 days at 37 °C and 5% CO<sub>2</sub>. Finally, the cells were harvested and stained with anti-CD4 antibody conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC). Samples were analyzed on a FACS Canto II flow cytometer (Becton Dickinson), and the percentage of CD4<sup>+</sup> T cell proliferation was analyzed using FCS Express 4 Plus Research Edition software (De Novo Software, Los Angeles, CA).

### ***Cell viability assay***

PBMCs cultures stimulated with PHA (25 µg/ml) and exposed to different atorvastatin concentrations as described above were used to assess cell viability. Cells were stained with 1 µg/ml propidium iodide (PI) and analyzed by flow cytometry as previously described to obtain the percentage of dead cells for each condition.

### ***Statistical analysis***

The data obtained for the variables of CD4<sup>+</sup> T cell proliferation and cell viability were described using medians and interquartile ranges according to each exposure regimen. A Generalized Equation Estimation (GEE) model was used for the analyses between concentration and proliferation and between the concentration and percentage of dead cells within each group, considering that the observations were not independent; the slope with its p-value is reported. A difference was considered significant with a p-value < 0.05. For the evaluation of the slopes between exposition groups, the interaction between group and concentration was explored, generating a model and evaluating the p-value of this interaction. The statistical analysis was performed using Stata 12.1 software (StataCorp, Texas, USA).

### ***Atorvastatin-medicated dentifrice inhibits CD4+ T cell proliferation***

To evaluate the effect of an atorvastatin-medicated dentifrice on CD4+ T cell proliferation, PBMCs obtained from healthy donors were stained with CTV fluorescent dye and stimulated with PHA for 4 days. Images of the different PBMC cultures did not show evidence of a toxic effect; cells had a rounded and bright morphology under a light inverted microscope (Fig. 1).

Flow cytometry was used to analyze the CD4+ T cell proliferation rates under each condition. Fig. 2 shows CD4+ T cells (gate 2) and the proliferation that occurred as CTV dye was diluted (gate 3) on samples not stimulated or stimulated with PHA (25 g µg/ml) after 4 days (Fig.2).

Analysis of the proliferation assays shows that both atorvastatin solution and atorvastatin-medicated dentifrice reduced the percentage of CD4+ T cell proliferation compared with control and dentifrice without atorvastatin. Furthermore, the percentage of CD4+ T cells decreased as the concentrations of the atorvastatin-medicated dentifrice and atorvastatin solution increased (Figure 4). Conversely, the percentage of CD4+ T cells remained similar at the different concentrations of dentifrice without atorvastatin, and these values were very similar to those observed in the control group (Figure 3).

We used a Generalized Equation Estimation (GEE) model for the analysis between concentration and proliferation; then, we compared the slopes for the proliferation variables between the different conditions, as we described in the Methods. We found no differences between the slopes for the atorvastatin solution group and the dentifrice with atorvastatin group (interaction p-value = 0.992), demonstrating that atorvastatin does not lose its immunosuppressive capacity when used in a dentifrice. However, there were differences between the slopes for atorvastatin solution and dentifrice without atorvastatin and between slopes for dentifrice with atorvastatin and dentifrice without atorvastatin (interaction p-value for both <0.0001), demonstrating that atorvastatin

dramatically inhibits CD4+ T cell proliferation and this effect is not associated to dentifrice alone (Table 1).

### **Atorvastatin-medicated dentifrice does not affect cell viability**

To evaluate the effect of an atorvastatin-medicated dentifrice on PBMC viability, we used PI to measure the percentage of dead cells in the different cultures under each condition assessed. We did not observe an increase in the percentage of dead cells (PI<sup>+</sup> cells) after atorvastatin-medicated dentifrice exposure. These data indicate that the use of atorvastatin-medicated dentifrice does not affect cell viability. Slight increases in the percentage of dead cells were observed at the highest concentration of atorvastatin solution (100  $\mu$ M) (Fig. 4). Moreover, the variability slopes between atorvastatin-medicated dentifrice and dentifrice without atorvastatin were not statistically different (p-value = 0.634), as shown in Table 2.

### **Discussion**

This *in vitro* study is the first report to evaluate the effects of atorvastatin using a dentifrice as delivery vehicle on cell viability and CD4+ T cell proliferation.

Our results revealed that there is a dose-dependent decrease in CD4+ T cell proliferation in the cultures treated with atorvastatin-medicated dentifrice, with values that are very similar to those obtained with the atorvastatin solution. It was important to demonstrate that an atorvastatin-medicated dentifrice did not affect cell viability, an aspect that could be relevant for future clinical use as a local treatment for patients with periodontal disease.

Previous studies conducted more than a decade ago showed that statins have anti-proliferative effects in lymphocytes and other cell types<sup>15, 16</sup>. Chakrabarti *et al.* found that lovastatin (a type of statin) inhibits the proliferation induced by the anti-CD3 antibody immobilized on T cells derived from human peripheral blood without affecting cell viability<sup>15</sup>. They attributed this effect to the inhibition of mevalonate production, an important factor for cell cycle progression<sup>15</sup>.



In 2007, Blank *et al.* found that human T cell proliferation and activation were inhibited by pre-incubating PBMCs with atorvastatin at concentrations between 0.2 to 20  $\mu\text{M}$ <sup>17</sup>. In the studies by Chakrabarti *et al.* and Blank *et al.*, the proliferative properties were almost completely restored after applying mevalonic acid<sup>15, 17</sup>.

The immunosuppressive effect of statins has even been compared to the effects of conventional immunosuppressive drugs. One study found that statins have a dose-dependent inhibitory effect on human T cell proliferation, with maximum inhibitory effects observed at 50  $\mu\text{M}$  with atorvastatin and lovastatin and at 100  $\mu\text{M}$  with simvastatin. Moreover, it is noteworthy that the degree of immunosuppression was similar to that observed with conventional immunosuppressants<sup>18</sup>. This inhibitory effect on T cells was observed at a similar concentration in our study.

A recent study evaluated other potential mechanisms underlying the effects of statins on T cells<sup>19</sup>. This study evaluated the effects of atorvastatin on the telomerase activity in CD4+ and CD8+ T cells<sup>19</sup>. Telomerase is an enzyme that catalyzes the replication of telomeres, genome components that are located at the ends of chromosomes and related to the lifespans of cells. Atorvastatin increased the telomerase activity level 6-fold over the original level, with the highest activity at a 0.3  $\mu\text{M}$  atorvastatin concentration after 5 days. The population of CD4+ T cells suffered a greater induction of telomerase activity from atorvastatin stimulation compared to CD8+ T cells (650% vs. 256%). In contrast to our study, this study observed an increase in T cell proliferation from mononuclear cells stimulated with atorvastatin at concentrations up to 0.3  $\mu\text{M}$ , with a significant increase in cell number after 5 days. However, at concentrations of 2-5  $\mu\text{M}$ , atorvastatin inhibited T cell proliferation without inducing cell death, which is consistent with our results<sup>19</sup>.

The inhibitory effect on T cell proliferation caused by statins is a desirable effect in diseases where an exacerbated immune response causes damage to the host, such as what occurs in periodontal disease.

Kwak *et al.* observed that statins directly inhibit MHC-II expression via IFN- $\gamma$  and would therefore repress T cell activation mediated by MHC-II<sup>10</sup>. Additionally, they also found that atorvastatin had the greatest repressor effect on MHC-II among the evaluated statins. MHC-II is required for both antigen presentation and T cell activation via the T cell receptor (TCR), which in turn promotes different responses, such as the release of cytokines that promote T cell proliferation and activation, the activation of antigen-presenting cells (APCs), and B cell antibody production<sup>10</sup>. Additionally, Kuipers *et al.* investigated the mechanisms by which simvastatin reduces the expression of MHC-II molecules in various human cell types<sup>20</sup>. They found that this effect was due to a disruption in the cholesterol-containing microdomains responsible for transporting and concentrating the MHC-II molecules on the cell surface. Furthermore, they demonstrated that statins reduce the cell surface expression of other immunoregulatory molecules, such as MHC-I, CD3, CD4, CD8, CD28, CD40, CD80, CD86, and CD54<sup>20</sup>. Additionally, Gurevich *et al.* suggested that the decreased expression of MHC-II would reduce the number of Th1 cells, which secrete pro-inflammatory cytokines, such as IFN- $\gamma$  and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ )<sup>21</sup>.

Another potential mechanism that may be involved in the decrease in T cell proliferation is the fact that statins affect lipid rafts and two proteins that belong to the GTPase family (Ras/Rho), essentials for TCR signaling; thus, statins may suppress T cell activation and proliferation by regulating TCRs<sup>22</sup>.

Additionally, Weitz-Schmidt *et al.* suggest that statins, such as lovastatin and mevastatin, may selectively block LFA-1, decreasing the adhesion of lymphocytes to intercellular adhesion molecule-1 (ICAM1) and thus affecting T-cell co-stimulation<sup>23</sup>.

The various mechanisms described above potentially explain how statins affect CD4+ T cell proliferation based on their immunomodulatory properties.

Clinically, individuals who suffer psoriasis, a chronic inflammatory disease, may benefit from the immunomodulatory effects of statins<sup>23</sup>. This disease shares certain characteristics with atherosclerosis, which is usually treated with these drugs. Both diseases are mediated

by Th1 cells and exhibit increases in activated T cells expressing Th1 cytokine patterns<sup>24</sup>. Shirinsky *et al.* demonstrated that a 40-mg/day simvastatin exposure regimen results in the clinical improvement in psoriatic lesions, resulting from LFA-1 inhibition and a reduction in proinflammatory cytokine production by Th1<sup>25</sup>.

As previously mentioned, the immunological mechanisms underlying periodontal disease share certain features with chronic inflammatory diseases<sup>26</sup>.

Thus, the effect of statins could also result in clinical improvements in patients with periodontal disease. A study from our group showed that use of dentifrice medicated with 2% of atorvastatin resulted in significant improvements in clinical parameters, such as the mean probing depth, the mean clinical attachment level, bleeding on probing, the gingival index and the periodontal inflamed surface area, in patients with periodontal disease compared to use of a placebo dentifrice<sup>27</sup>.

Clinical studies have reported a 37% reduction in the rate of tooth loss in patients with chronic periodontitis who received statin therapy for at least 1 year<sup>28</sup>. In a double-blind controlled clinical trial, Fajardo *et al.* observed significant improvements in tooth mobility and the distance between the enamel-cementum limit and the alveolar bone in patients with chronic periodontitis who were treated with 20 mg of atorvastatin for 3 months together with mechanical periodontal therapy compared with the placebo<sup>29</sup>. Additionally, Pradeep *et al.* found significant gains in the attachment level after 3, 6 and 9 months of follow-up in patients undergoing mechanical periodontal therapy in addition to a gel treatment containing 1.2% simvastatin compared with those who only received mechanical periodontal therapy<sup>14</sup>. A similar study using a 1.2% atorvastatin gel in addition to scaling and root planning detected greater insertion improvements at 9 months<sup>13</sup>.

Our results revealed similar inhibitory effects on CD4+ T cell proliferation in cultures treated with an atorvastatin solution or atorvastatin-medicated dentifrice, indicating that the immunomodulatory effect produced by atorvastatin is not diminished or modified when it is incorporated within a dentifrice base, such as that used in this study. Furthermore, the fact that the dentifrice without atorvastatin did not alter CD4+ T cell proliferation, with

very similar values to the control culture, supports the idea that the effects on CD4+ T cells are due to the presence of atorvastatin. Additionally, this finding also demonstrates that the dentifrice base used in this study does not alter CD4+ T cell proliferation, indicating that it is an appropriate vehicle for the delivery of this drug.

The relevance of our study is that it assessed the immunomodulatory effect of an atorvastatin-medicated dentifrice, which could be applied topically in clinical practice, allowing its use in higher concentrations at the sites of interest without adverse effects, compared to systemic statin therapy, which has been evaluated in most *in vitro* studies on this topic.

It is also noteworthy that none of the experimental samples significantly affected PBMC viability, indicating that both atorvastatin and the dentifrice base used are nontoxic to PBMCs.

Additionally, the finding that the inhibitory effect of atorvastatin on CD4+ T cell proliferation is dose-dependent, which is consistent with other *in vitro* studies, indicates the need for additional studies to determine the optimal concentration of statins for generating the appropriate T cell response with desirable clinical results. Ideally, the T cell proliferation values obtained need to be analyzed together with clinical effects. It would also be interesting to assess the direct effect of an atorvastatin-medicated dentifrice on CD4+ T cells in affected periodontal tissue (i.e., the soft wall of the periodontal pocket) to further support the results reported in this study.

The capacity to determine the immunomodulatory effects of statins applied topically using a vehicle, such as dentifrice, a medium that is already widely used and incorporated in the oral hygiene habits of the population, may have a significant impact on current oral health research.

Controlled clinical trials are necessary to evaluate the clinical outcome resulting from the immunomodulatory effects of the atorvastatin-medicated dentifrice. Future *in vitro* studies should also be conducted to further evaluate the effects of this drug on the T cell

subpopulations that are currently considered to be critically important in the pathogenesis of periodontal disease, such as Th1, Th2, T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Tregs), because these types of studies would provide a better understanding of the mechanisms underlying the effects of statins on the immune response.

### **Acknowledgments**

This work was supported by grants from the Universidad de los Andes: FAI-MED-IN0GTO201459.

The authors declare that they have no conflicts of interest regarding this study.

1. Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, Gonzaléz OA. Periodontal disease immunology: "double indemnity" in protecting the host. *Periodontol 2000* 2013;62(1):163–202.
2. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2014;64(1):57-80.
3. Ito H, Honda T, Domon H, et al. Gene expression analysis of the CD4+ T-cell clones derived from gingival tissues of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20(6):382–386.
4. Okui T, Aoki-Nonaka Y, Nakajima T, Yamazaki K. The role of distinct T cell subsets in periodontitis—studies from humans and rodent models. *Curr oral. Health Rep* 2014;1(2):114–123.
5. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. *Periodontol 2000* 2007;43(1):14-40.
6. Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005;45(1):89-118.
7. Wang C-Y, Liu P-Y, Liao JK. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. *Trends Mol Med* 2008;14(1):37-44.
8. Higueta EA, Rugeles MT, Montoya CJ. Actividad inmunomoduladora y anti-VIH de las estatinas. *Infectio* 2011;15(2):108–117.
9. Lee SJ, Qin H, Benveniste EN. The IFN- $\gamma$ -induced transcriptional program of the CIITA gene is inhibited by statins. *Eur J Immunol* 2008;38(8):2325-2336.
10. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000;6(12):1399-1402.
11. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol* 2006;6(5):358-370.
12. Lindy O, Suomalainen K, Mäkelä M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: a retrospective study. *BMC Oral Health* 2008;8:16.
13. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical efficacy of Subgingivally delivered 1.2% Atorvastatin in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2013;84(7):871–879.

14. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical effect of subgingivally delivered Simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2010;81(2):214–222.
15. Chakrabarti R, Engleman EG. Interrelationships between mevalonate metabolism and the mitogenic signaling pathway in T lymphocyte proliferation. *J Biol Chem* 1991;266(19):12216-12222.
16. Cuthbert JA, Lipsky PE. Inhibition by 6-fluoromevalonate demonstrates that mevalonate or one of the mevalonate phosphates is necessary for lymphocyte proliferation. *J Biol Chem* 1990;265(30):18568-18575.
17. Blank N, Schiller M, Krienke S, et al. Atorvastatin inhibits T cell activation through 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase without decreasing cholesterol synthesis. *J Immunol* 2007;179(6):3613-3621.
18. Jameel A, Ooi KG-, Jeffs NR, Galatowicz G, Lightman SL, Calder VL. Statin modulation of human T-cell proliferation, IL-1 and IL-17 production, and IFN- $\gamma$  T cell expression: synergy with conventional immunosuppressive agents. *Int J Inflamm* 2013;2013:1–11.
19. Bennaceur K, Atwill M, Al Zhrany N, et al. Atorvastatin induces T cell proliferation by a telomerase reverse transcriptase (TERT) mediated mechanism. *Atherosclerosis* 2014;236(2):312-320.
20. Kuipers HF, Biesta PJ, Groothuis TA, Neefjes JJ, Mommaas AM, van den Elsen PJ. Statins affect cell-surface expression of major histocompatibility complex class II molecules by disrupting cholesterol-containing Microdomains. *Hum Immunol* 2005;66(6):653-665.
21. Gurevich VS, Shovman O, Slutzky L, Meroni PL, Shoenfeld Y. Statins and autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2005;4(3):123-129.
22. Ghittoni R, Patrussi L, Pirozzi K, et al. Simvastatin inhibits T-cell activation by selectively impairing the function of Ras superfamily GTPases. *FASEB J* 2005;19(6):605-607.
23. Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23(10):482-487.
24. Späh F. Inflammation in atherosclerosis and psoriasis: common pathogenic mechanisms and the potential for an integrated treatment approach. *Br J Dermatol* 2008;159(Suppl. 2):10-17.

25. Shirinsky IV, Shirinsky VS. Efficacy of simvastatin in plaque psoriasis: a pilot study. *J Am Acad Dermatol* 2007;57(3):529-531.
26. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol* 2014;35(1):3-11.
27. Rosenberg DR, Andrade CX, Chaparro AP, et al. Short-term effects of 2% Atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: a randomized double-masked Clinical Trial. *J Periodontol* 2015;86(5):623–630.
28. Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2006;77(6):1061–1066.
29. Fajardo ME, Rocha ML, Sánchez-Marin FJ, Espinosa-Chávez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol* 2010;37(11):1016–1022.



**Table 1**

Relationship between concentration and cell proliferation (%CD4+ T cells)

Exposure group	Slope	p-value
Atorvastatin solution	-19.09	< 0.0001*
Dentifrice with atorvastatin	-19.59	< 0.0001*
Dentifrice without atorvastatin	1.61	0.09

\*Significant p-value < 0.05; a generalized equation estimation model was used within each group.

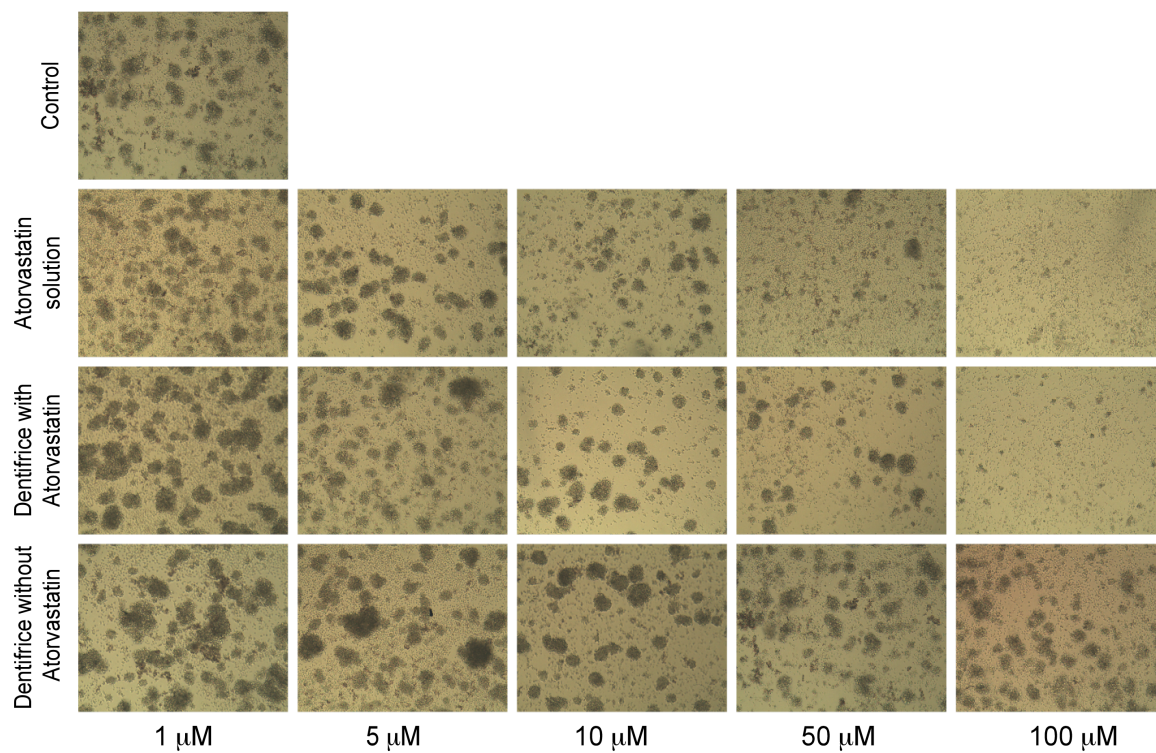
**Table 2**

Relationship between concentration and percentage of dead cells (PI+cells)

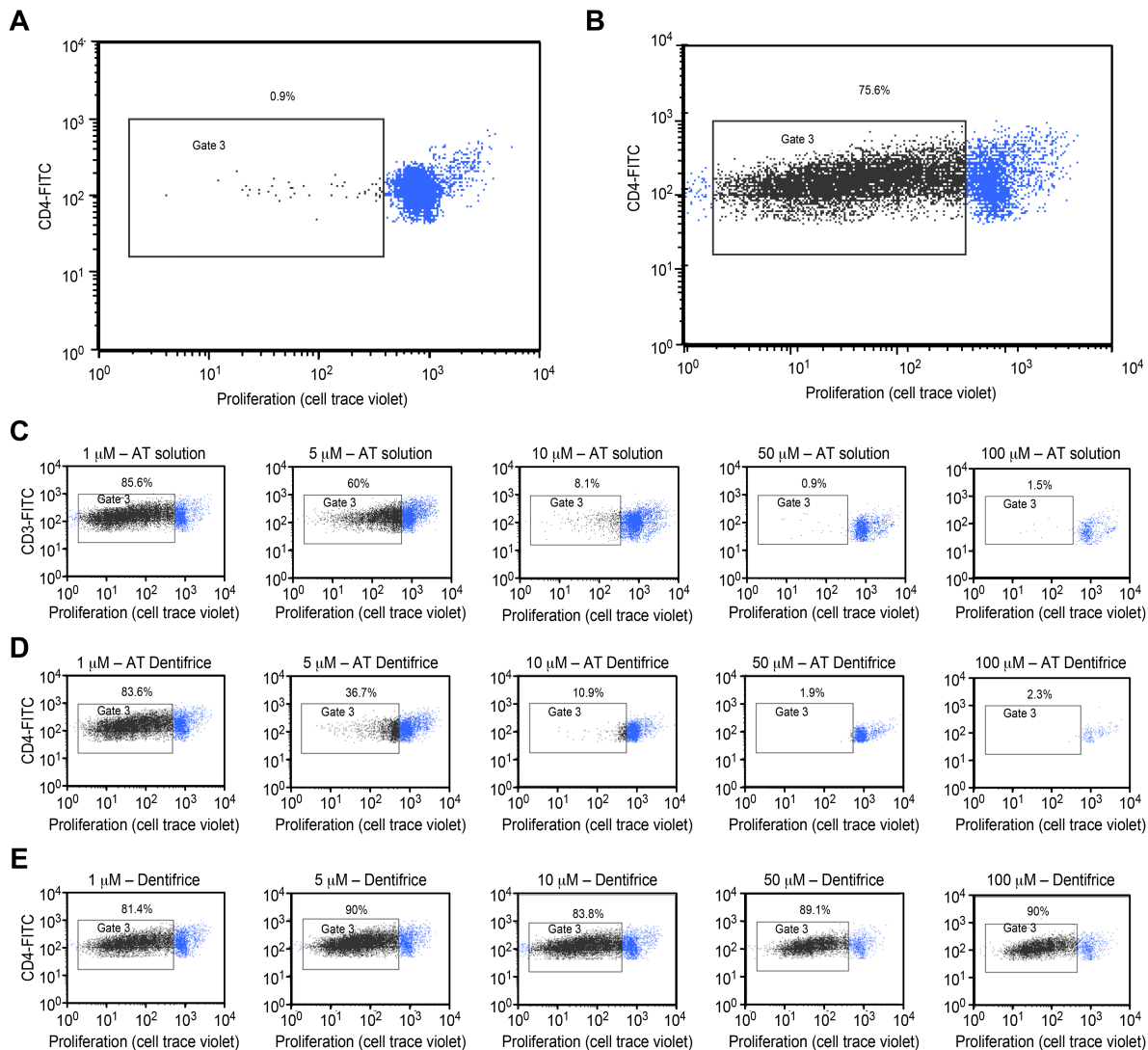
Exposure group	Slope	p-value
Atorvastatin solution	1.87	0.019*
Dentifrice with atorvastatin	1.25	0.103
Dentifrice without atorvastatin	-0.14	0.634

\*Significant p-value < 0.05; a generalized equation estimation model was used within each group.

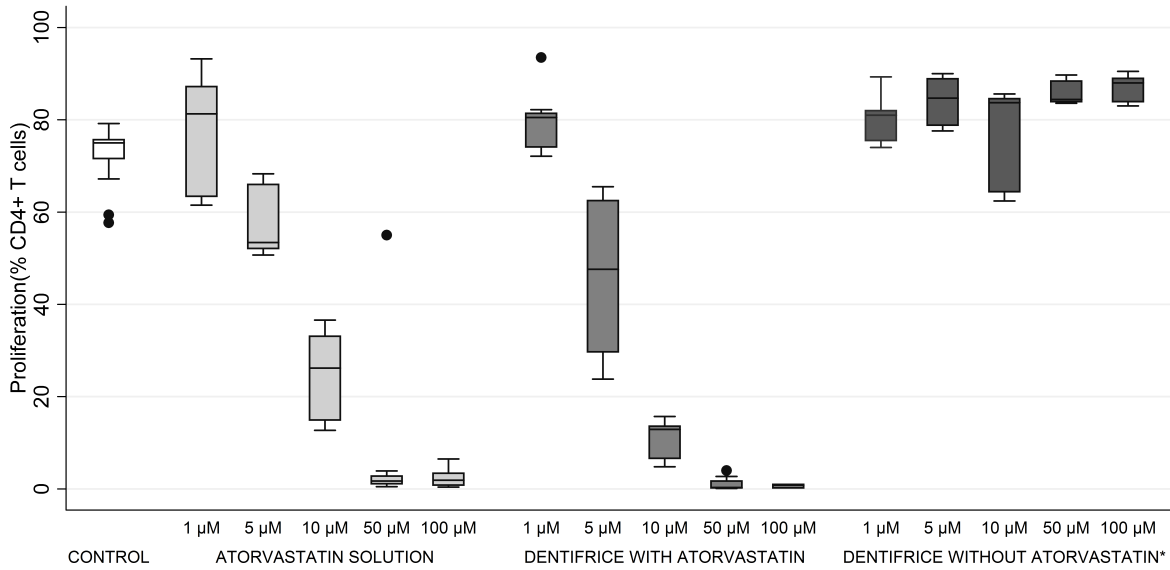
**Figure 1.** Photographs of PBMC cultures at 4 days stimulated by PHA and under the different conditions assessed.



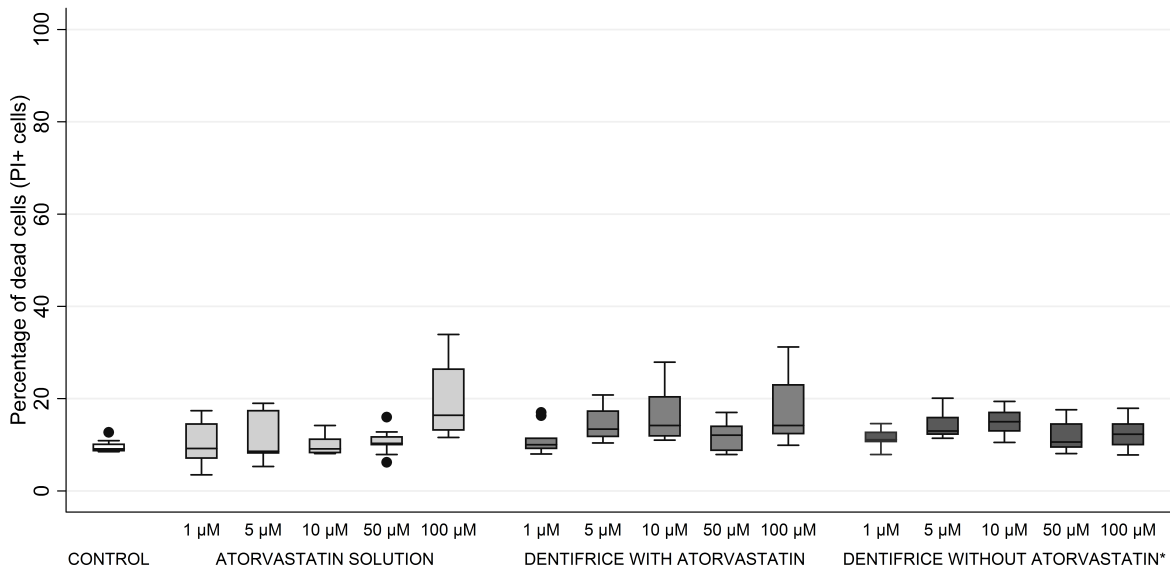
**Figure 2.** Flow cytometry of PBMC cultures under the different conditions assessed. A. Gated CD4+ T cells and the proliferation that occurs as the CTV dye was diluted (gate 3) on samples not stimulated (basal) or stimulated with PHA (25 µg/ml) after 4 days. B. CD4+ T cell proliferation under different concentrations of atorvastatin solution. C. CD4+T cell proliferation after exposition of different concentrations of dentifrice with atorvastatin. D. CD4+T cell proliferation obtained under different concentrations of dentifrice without atorvastatin.



**Figure 3.** Box plots of proliferation (%TCD+4 cells) by concentration and exposure group.



**Figure 4.** Box plots of percentage of dead cells (PI+ cells) by concentration and exposure group.



# A RTÍCULO 3

Short-term effects  
of 2% atorvastatin dentifrice  
as an adjunct to periodontal  
therapy:  
A randomized double-Masked  
Clinical trial

## **7. Artículo 3.**

### **7.1. Descripción:**

Short-term effects of 2% atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: A randomized double-Masked clinical trial.

**Autores:** David R. Rosenberg, Catherine X. Andrade, Alejandra P. Chaparro, Carolina M. Inostroza, Valeria Ramírez, Deborah Violant, José Nart.

**Revista publicada:** Journal of Periodontology (JOP-14-0503.R2).

**Factor de impacto de la Revista en 2014:** 2.57

**Registro NIH ClinicalTrials.gov:** NCT01929135 (ANEXO)

**Fecha de envío:** 30 de Diciembre de 2014

**Fecha de aceptación:** 18 de marzo de 2015 (Ref. PIRO-D-14-00016R1)

**Fecha de Publicación:** Mayo 2015

**Referencia de Publicación:**

ISSN 0022-3492

DOI: 10.1902 / jop 2015. 140503

## 7.2. Resumen y texto principal.

### **Short-Term Effects of 2% Atorvastatin Dentifrice as an Adjunct to Periodontal Therapy: A Randomized Double-Masked Clinical Trial**

David R. Rosenberg,\* Catherine X. Andrade,† Alejandra P. Chaparro,† Carolina M. Inostroza,‡ Valeria Ramirez,§ De´borah Violant,<sup>i</sup> and Jose´ Nartí

**Background:** The pleiotropic effects of statins, such as immunomodulation and anti-inflammatory effects, may also improve periodontal conditions. The aim of the present study is to assess the effectiveness of a dentifrice medicated with 2% atorvastatin in improving clinical periodontal parameters as a complement to non-surgical periodontal treatment (NSPT).

**Methods:** A randomized, double-masked clinical trial was performed with two parallel groups: 1) atorvastatin group (NSPT plus medicated 2% atorvastatin dentifrice) and 2) placebo group (NSPT plus placebo dentifrice). The effectiveness of these treatments was assessed using periodontal measurements obtained at baseline and 1 month later. The measurements were probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), bleeding on probing (BOP), gingival index (GI), and periodontal inflamed surface area (PISA). Multiple linear re-gression models were used to compare outcome variables after adjusting for sex, diabetes, and tobacco use.

**Results:** A total of 36 individuals participated in this study (atorvastatin group, n = 18; placebo group, n = 18). Both groups showed improvements in periodontal parameters. The atorvastatin group showed a decrease of 297.63 mm<sup>2</sup> in PISA (95% confidence interval = 76.04 to 519.23; P = 0.01), which was significantly greater than the reduction observed in the placebo group. There was also a significantly greater reduction in mean PD, percentage of sites with PD  $\pm$ 5 mm, mean CAL, percentage of sites with CAL  $\pm$ 5 mm, BOP, and GI in the atorvastatin group compared with the placebo group.

**Conclusion:** NSPT plus 2% atorvastatin medicated dentifrice was more effective in

improving clinical periodontal parameters than NSPT plus a placebo dentifrice. J Periodontol 2015;86:623-630.

**KEY WORDS**

Chronic periodontitis; clinical trial; dentifrices.

\* Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, University of Los Andes, Santiago, Chile.

† Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, University of Los Andes.

‡ Center of Biology and Oral Regeneration, Faculty of Dentistry, University of Los Andes. § Epidemiology, Faculty of Dentistry, University of Los Andes.

i Department of Periodontology, International University of Catalunya, Barcelona, Spain



The common approach used in the treatment of periodontal disease, based primarily on the control of the etiologic agent (bacterial biofilm), has not been sufficient to reduce the high prevalence of periodontal disease.<sup>1</sup> The emerging understanding regarding the role of host immune response in periodontal tissue breakdown and the specific inflammatory mechanism involved<sup>2-4</sup> have encouraged researchers to explore new strategies in the management of periodontal disease. The presence of microbes associated with the progressive forms of periodontal disease in individuals with no evidence of disease progression suggests that the disease is a product of the immune response and inflammatory processes and not a result of the mere presence of the bacteria. Consequently, in susceptible individuals, the dysregulation of inflammatory and immune pathways leads to chronic inflammation, tissue breakdown, and disease.<sup>4</sup>

Recently, improvements have been reported in the status of periodontal disease associated with the use of statins.<sup>5,6</sup> Statins are effective lipid-lowering agents with additional effects that are beneficial in treating periodontal disease, such as anti-inflammatory properties, stimulation of bone formation, and immunomodulatory actions.<sup>7-9</sup> Various animal studies have demonstrated that statins decrease proinflammatory cytokines and mediators associated with bone loss.<sup>10,11</sup> de Araujo et al.<sup>10</sup> showed that rats with experimental periodontitis (EP) plus 10 mg/kg atorvastatin (a member of the statins) exhibited reverse bone loss caused by EP, decreasing proinflammatory cytokines, such as interleukin-1b (IL-1b) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and reducing the markers of bone breakdown, such as matrix metalloproteinase (MMP-2 and MMP-9) and the receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL). Dalcico et al.<sup>11</sup> observed similar results in rats with EP. Treatment with oral simvastatin reduced the expression of inducible nitric oxide synthase, MMP-1, MMP-8, and RANKL and increased bone morphogenetic protein-2 and osteoprotegerin levels (inductors of bone formation) in the periodontal tissue.<sup>11</sup>

Recently, clinical trials have shown improvement in periodontal clinical parameters

in medically healthy patients with the exception of having chronic periodontitis (CP) using 1.2% atorvastatin or 1.2% simvastatin (1.2 mg/0.1 mL) as a biodegradable controlled-release gel adjunct to scaling and root planing (SRP) in the treatment of CP, observing greater improvement with the use of atorvastatin.<sup>5,6</sup>

Despite the aforementioned evidence regarding the benefits of statins in periodontal disease, there remains a lack of information regarding the best vehicle, most appropriate doses, and confirmation of the true effects of statins in periodontal disease.

Considering that dentifrice is a complement used widely in oral hygiene techniques, dentifrice could be an effective medium with which to release statins, especially atorvastatin, which has demonstrated a greater topical effect.

The aim of the present investigation is to assess the effectiveness of a dentifrice medicated with 2% atorvastatin to improve clinical periodontal parameters in adult patients after non-surgical periodontal treatment (NSPT).

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Study Design and Patients**

The study design incorporated a clinical trial with two parallel groups (1:1). Each group comprised 19 patients ([N = 38 patients] 11 men and 27 women, aged 30 to 58 years; mean age: 45.28 years). The investigation was performed at the Department of Periodontology, University of Los Andes, San Bernardo, Santiago, Chile. Patients were enrolled in the study from June 2013 to August 2013 and were recruited from the Health Care Center, University of Los Andes. The University Ethics Committee approved the study protocol in accordance with the Revised Declaration of Helsinki (64th World Medical Association General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013). Each patient agreed to participate in the study and provided written informed consent. This study is registered at ClinicalTrials.gov as NCT01929135.

The patients accepted for the study met the following inclusion criteria: 1) aged 30

to 60 years; 2) at least 14 teeth (excluding third molars); and 3) CP according to the Page and Eke classification.<sup>12</sup> Patients with diabetes only were included in the study when the disease was considered to be controlled, which was confirmed by laboratory tests and consultation with the treating physician.

The exclusion criteria were as follows: 1) inability to comply with the study protocol; 2) receiving antibiotic therapy or non-steroidal anti-inflammatory drugs during the previous 2 months or using calcium channel blockers, phenytoin, cyclosporine, or any associated drug that might affect gingival tissue; 3) periodontal treatment during the previous 12 months; 4) autoimmune disorders (self-reported); 5) uncontrolled or poorly controlled diabetes; 6) undergoing systemic statin treatment; 7) requiring antibiotic prophylaxis before periodontal treatment; or 8) requiring non-steroidal anti-inflammatory drugs for postoperative pain management after periodontal treatment.

It was estimated that a total of 38 patients would be required for the detection of a difference between groups using a two-tailed  $\alpha$  of 0.05 and a power of 0.90 for a comparison of two means if there was an absolute decrease of 1.2 mm in the clinical attachment level (CAL). Two parallel groups were formed (1:1): 1) one group of 19 patients that received NSPT plus medicated 2% atorvastatin dentifrice and 2) a second group of 19 patients that received NSPT plus non-medicated dentifrice as a placebo.

NSPT consisted of two sessions of SRP of all the teeth until the root surface was considered to be smooth and clean. Patients in both groups had non-previous specific oral hygiene techniques. Therapy was accompanied by instructions for oral hygiene, using the Bass technique, and providing the patients with soft toothbrushes and the appropriate dentifrice. Patients were also instructed on the use of dental floss. Oral hygiene technique including flossing was evaluated at each clinical session, confirming that it was done properly. Twice-daily brushing was indicated with 0.5 mL dentifrice for 2 minutes, followed by the expectoration of excess dentifrice for 10 to 15 seconds, without rinsing or consuming liquids or solid foods for at least 30 minutes following.

After treatment, both groups of patients were contacted via telephone every week by a secretary to record any reactions to the dentifrice and to remind the patients of their next evaluations.

### **Formulation of Medicated and Placebo Dentifrices**

The dentifrices used in this study are manufactured in the laboratory of a known Chilean pharmacy<sup>†</sup> and obtained by prescription. The dentifrice was either medicated with 2% atorvastatin<sup>#</sup> (2 mg atorvastatin with 0.1 mL fluoride dentifrice) or was not medicated (placebo: fluoride dentifrice without atorvastatin).

\* The dentifrices were dosed in 5-mL syringes, with each 0.5-mL measurement indicated to facilitate dispensing of the product and to ensure proper use. Each patient received six syringes, sufficient for 1 month of treatment.

*\*Salcobrand, Santiago, Chile.*

*#Atorvastatin, generic, PharmalSA, Calle Guzman, Chile.*

### **Bias Control**

To control sources of bias, an individual from the Administrative Department of the University of Los Andes (Daniela Carreño, Health Care Center, University of Los Andes) conducted random allocation of the medicated or placebo dentifrices, using a computer-generated random table, before the periodontal clinical evaluation. The researchers (CXA and Carolina Lopez, Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, University of Los Andes) were neither involved in the randomization process nor were they aware of the assigned groups in any of the outcome evaluations. Both the patients and the clinicians were masked to the assignments until the end of the study. The atorvastatin dentifrice and the placebo dentifrice were identical in terms of taste, color, and consistency and were dispensed in the same manner.

### **Intraexaminer Calibration**

Before beginning the study, intraexaminer calibration was achieved by twice making a record of the probing depth (PD), CAL, and bleeding on probing (BOP) in five patients, with a 24-hour interval between the first and second records. All teeth, excluding third molars, were measured by periodontal probing at six sites (mesio-buccal, medio-buccal, disto-buccal, mesio-lingual/palatal, medio-lingual/palatal, and disto-lingual/palatal). PD was defined as the distance from the gingival margin to the base of the clinical pocket for each site. CAL was measured as the distance between the base of the clinical pocket and the cemento-enamel junction (CEJ). BOP was considered to be positive if bleeding was present on probing or at 5 seconds later. Calibration was accepted if the measurements at baseline and after 24 hours were within 1 mm at the 95% level (correlation coefficients between duplicate measurements;  $r = 0.95$ ), indicating that there was no systematic bias in the measurements.

### **Periodontal Evaluation**

Measurements were obtained at baseline and 1 month later (after therapy). The enrolled patients were examined by two calibrated examiners (CXA and Carolina Lopez) using a basic examination instrument kit and a periodontal probe.\*\* The parameters evaluated were the following: 1) periodontal inflamed surface area (PISA)<sup>13</sup>; 2) mean PD; 3) percentage of sites with PD of 0 to 2 mm; 4) percentage of sites with PD of 3 to 4 mm; 5) percentage of sites with PD  $\pm 5$  mm; 6) mean CAL; 7) percentage of sites with CAL of 0 to 2 mm; 8) percentage of sites with CAL of 3 to 4 mm; 9) percentage of sites with CAL  $\pm 5$  mm; 10) BOP; 11) gingival index (GI)<sup>14</sup>; and 12) percentage of clean surfaces of teeth (oral hygienic index [OHI]).<sup>15</sup> \*\* UNC-15 color-coded periodontal probe, Hu-Friedy, Chicago, IL.

PISA was calculated via a spreadsheet<sup>††</sup> using data from CAL, gingival recession, and BOP, as proposed by Nesse et al.<sup>13</sup> †† Excel v.14, Microsoft, Redmond, WA.

PD was defined as the distance from the gingival margin to the base of the clinical pocket for each site. The mean for a full mouth was then calculated and registered simultaneously with the percentage of sites with PD of 0 to 2, 3 to 4, and  $\pm 5$  mm. In

a similar manner, CAL was measured as the distance between the base of the clinical pocket and the CEJ. The mean was calculated for the complete mouth, and the percentages of sites with CAL of 0 to 2, 3 to 4, and  $\geq 5$  mm were also recorded. In addition, the percentage of sites with BOP were recorded. The GI was recorded to assess the severity of gingival inflammation as described by Lo'e,<sup>14</sup> and the OHI was evaluated as described by O'Leary et al.<sup>15</sup>

### **Primary and Secondary Outcome Variables**

The primary outcome was a change in the PISA. The secondary outcomes included the following: 1) PD; 2) percentage of sites with PD of 0 to 2 mm; 3) percentage of sites with PD of 3 to 4 mm; 4) percentage of sites with PD  $\geq 5$  mm; 5) CAL; 6) percentage of sites with CAL of 0 to 2 mm; 7) percentage of sites with CAL of 3 to 4 mm; 8) percentage of sites with CAL  $\geq 5$  mm; 9) BOP; 10) GI; and 11) OHI.

### **Statistical Analyses**

Continuous variables were described by measurements of central tendency and dispersion. Dichotomous variables were tabulated and described by absolute frequencies and percentages according to each group. The delta of the outcome variables was calculated as the difference between measurements before and after intervention. Multiple linear regression models were used to compare the deltas of the outcome variables after adjusting for sex, diabetes, and tobacco use.  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The analysis was performed with statistical software.<sup>‡‡</sup>

<sup>‡‡</sup> *Stata software v.12, StataCorp, College Station, TX*

The CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) flowchart (Fig. 1) shows the number of patients included in this study and the number for whom follow-up was not possible.<sup>16</sup>

A total of 36 individuals completed clinical evaluations at baseline and after 1 month of therapy. Two individuals failed to report at follow-up because of health reasons and domestic problems. The mean – SD ages of the atorvastatin and

placebo groups were 45.7 – 9.1 and 45.4 – 9.1 years, respectively.

In the placebo group, seven females (63.64%) and six males (85.71%) had severe periodontal disease, whereas in the atorvastatin group, the disease was seen in 10 females (71.43%) and four males (100%). The two groups were not equivalent in their proportions according to sex, diabetes, and tobacco use; thus, the outcome variables were adjusted for these variables. The baseline variables of the study patients for each group are exhibited in

Table 1.

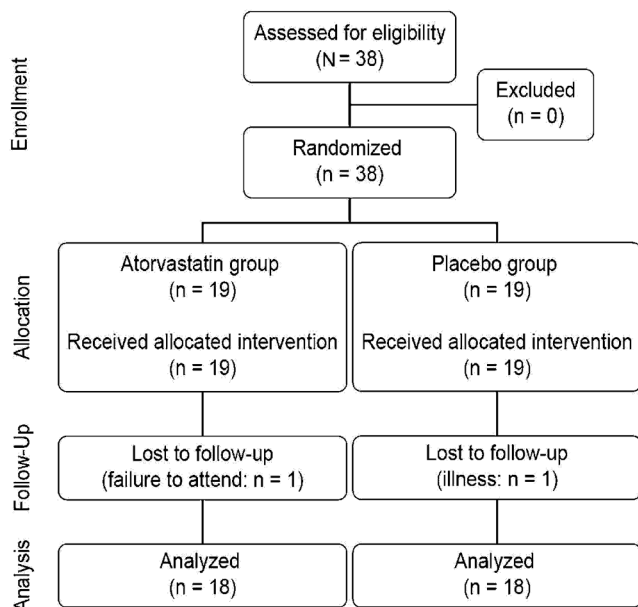


Figure 1: Flowchart of patients enrolled in the RCT.

Table 1. Baseline Variables of Patients by Group (placebo and atorvastatin)

Variable	Placebo (n = 18)		Atorvastatin (n = 18)	
	Number	(%)	Number	(%)
Male	7	(38.9%)	4	(22.2%)
Diabetes	1	(5.6%)	3	(16.7%)
Tobacco use	11	(61.1%)	5	(27.8%)
Moderate periodontitis	5	(27.8%)	4	(22.2%)
Severe periodontitis	13	(72.2%)	14	(77.8%)
PISA (mm <sup>2</sup> )	735.72	(360.28)	1,076.99	(564.91)
PD				
Mean (mm)	2.54	(1.03)	3.72	(0.75)
0 to 2 mm (% of sites)	51.79	(29.23)	27.67	(15.69)
3 to 4 mm (% of sites)	31.69	(20.98)	32.94	(13.5)
≥5 mm (% of sites)	13.75	(18.48)	32.55	(21.38)
CAL				
Mean (mm)	2.45	(0.91)	4.01	(2.46)
0 to 2 mm (% of sites)	60.12	(29.93)	34.23	(43.76)
3 to 4 mm (% of sites)	31.36	(18.77)	26.98	(10.43)
≥5 mm (% of sites)	4.45	(8.24)	36.96	(40.32)
BOP (% of sites)	50.73	(28.64)	83.64	(20.94)
Mean recession (mm)	-0.02	(1.24)	0.03	(1.58)
GI	1.83	(0.39)	1.69	(0.48)
OHI (%)	1.08	(23.26)	0 (0)	

Data are shown as numbers (%) or medians (interquartile ranges).

## RESULTS

### Clinical Evaluation

None of the patients showed any adverse reactions to either of the dentifrice formulations (medicated with 2% atorvastatin or a non-medicated placebo).

### Evaluation Outcome Variables



Figure 2 shows the baseline measurements and post-treatment (1 month later) measurements for both placebo and atorvastatin groups.

Table 2 presents the results of multiple linear regressions, with differences between the placebo and atorvastatin groups for delta variables adjusted for sex, diabetes, and tobacco use (at baseline and at 1 month follow-up).

The following variables showed statistically significant differences, with the decrease being greater in the atorvastatin group compared with the placebo group: 1) PISA; 2) mean PD; 3) percentage of site with PD  $\pm$ 5 mm; 4) mean CAL; 5) percentage of sites with CAL  $\pm$ 5 mm; 6) BOP; and 7) GI.

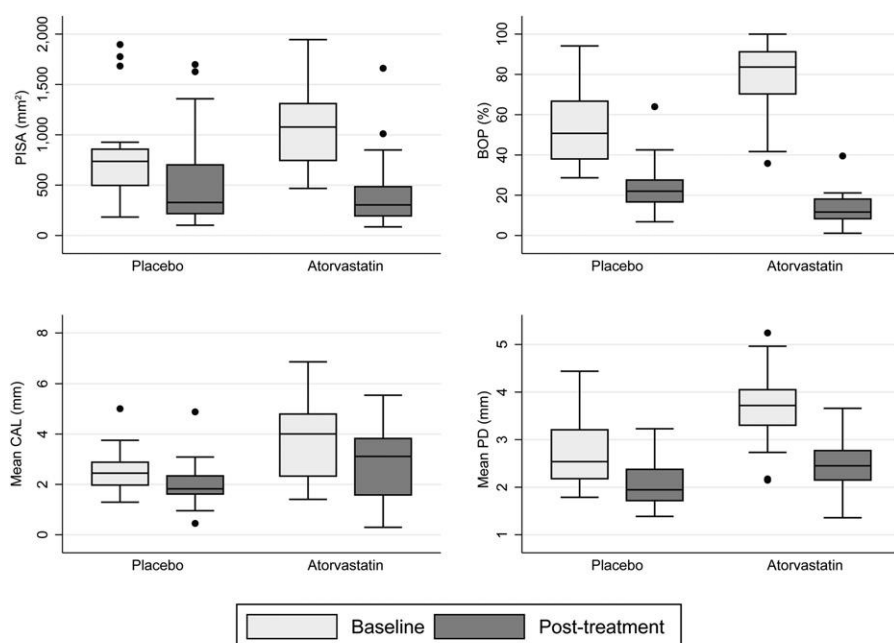


Figure 2 Box plots of baseline and post-treatment measurements for the placebo and atorvastatin groups. The black dots refer to maximum values known as outliers and represent 1.5 times the interquartile range (approximately the 75th percentile).

## DISCUSSION

In the present study, the use of a statin (2% atorvastatin) medicated dentifrice as a complement to NSPT of patients with CP resulted in improved clinical periodontal parameters compared with a placebo group. Improvements were statistically significant for PISA, mean PD, the percentage of sites with PD  $\pm$ 5 mm, mean CAL, the percentage of sites with CAL  $\pm$ 5 mm, BOP, and GI. Both of the groups showed

an improved OHI; however, no statistically significant difference was identified, indicating that both groups maintained comparable levels of oral hygiene throughout the study.

These results are consistent with those of other studies that revealed improvements in periodontal status in patients taking statin medications. However, it is important to note that none of the other studies reported the effects of statins via dentifrice application, and, for this reason, direct comparison between this study and other studies is not possible.<sup>5,6</sup>

Previous reports have shown that systemic statin treatment has protective effects against periodontal diseases.<sup>17,18</sup> Cunha-Cruz et al.<sup>17</sup> showed that regular statin use (at least one statin prescription during each of 3 consecutive years) was associated with a non-significant 37% reduction in tooth-loss rate (relative risk = 0.63; 95% confidence interval [CI] = 0.32 to 1.25) in the ensuing year 4. In addition, Lindy et al.<sup>18</sup> re-reported that patients with periodontitis who were taking statins had 37% fewer pathologic periodontal pockets than patients who were not taking statins ( $P < 0.001$ ), and the periodontal inflammatory burden index was 40% smaller (95% CI = 19.5 to 66.7) in patients taking statins than in those who were not ( $P < 0.001$ ).

In the current study, the effects of statins are evaluated by assessing the PISA, for which a statistically significant decrease of 297.63 mm<sup>2</sup> was found in the atorvastatin group compared with the placebo group. PISA quantifies the amount of inflamed periodontal tissue (re-presented by the surface area of inflamed periodontal epithelium, measured in square millimeters), suggesting that this index quantifies the inflammatory burden posed by periodontitis.<sup>13</sup> This particular parameter of periodontal status has been associated with pathologies such as diabetes in which a dose-response relation with glycemic control (hemoglobin A1c [HbA1c] level) has been observed, and an increase in PISA of 333 mm<sup>2</sup> was observed to be associated with a 1.0 percentage point increase in HbA1c, independent of any influences from other factors.<sup>19</sup> These data revealed PISA to be a relevant indicator of the magnitude of the inflammatory status of periodontal tissue. However, this method does not enable the cause of gingival recession to be

established, although it is important to consider that, in the present study, gingival re-cession is related to the presence of periodontal pockets and clinical attachment loss.

The major reductions in PISA, mean PD, BOP, and GI in the atorvastatin group may clinically reflect the anti-inflammatory effects of the statin because of changes in inflammatory mediator levels, as discussed previously.<sup>20</sup> Albert et al.<sup>21</sup> evaluated the effects of pravastatin on C-reactive protein (CRP) and observed a decrease of 0.02 mg/dL (interquartile range of -0.10 to 0.02), which corresponded to a 14.2% reduction compared with baseline levels ( $P < 0.001$ ). Compared with the placebo group, pravastatin was associated with a 16.9% reduction in median CRP levels ( $P < 0.001$ ). In addition, patients with hypercholesterolemia treated with pravastatin and simvastatin showed reductions in levels of TNF- $\alpha$ <sup>22,23</sup> and IL-1b.<sup>23</sup> Re-search in animal models has supported a direct anti-inflammatory effect of statins. Hernández-Presa et al.<sup>24</sup> showed a reduction in nuclear factor-kB binding activity in peripheral mononuclear cells and decreases in macrophage infiltration, IL-8, and MMP-3 in association with the administration of 5 mg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> simvastatin in rabbits. Moreover, Paumelle et al.<sup>25</sup> showed statins as having acute anti-inflammatory properties through the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ , which inhibits the protein kinase C signaling pathway, thereby regulating inflammatory-response genes. Additionally, the atorvastatin group showed statistically significant differences in percentages of sites with PD  $\geq 5$  mm and CAL  $\geq 5$  mm, indicating a pronounced change in the ex-tension and severity of periodontal pockets compared with the placebo group.

With regard to the topical use of statins in periodontal disease, Pradeep and Thorat<sup>5</sup> investigated the effectiveness of simvastatin in biodegradable controlled-release gel form in addition to SRP in patients with CP. This system showed that, after 6 months, there were significant improvements in the modified sulcus bleeding index (mean – SD, 2.32 – 0.80), PD (4.26 – 1.5 mm), and CAL (4.36 – 1.9 mm) with 1.2% simvastatin compared with a placebo.<sup>5</sup> These authors also observed a decrease in intrabony defects assessed by radiology.<sup>5</sup> Similar results have been obtained in susceptible patients, such as tobacco smokers and patients with

diabetes with CP, after SRP plus the administration of 1.2% simvastatin gel directly into pockets.<sup>26,27</sup>

The atorvastatin used in this study is a lipophilic statin that appears to be more effective than other statins, such as simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin, in reducing low-density lipoprotein and total cholesterol.<sup>28</sup> Recently, Pradeep et al.<sup>6</sup> showed the effectiveness of 1.2% atorvastatin in biodegradable controlled-release gel as adjunct to SRP in patients with CP. Atorvastatin at 1.2% showed a slight improvement at 6 months compared with results obtained in a previous study using 1.2% simvastatin. The periodontal bone defect filling was 34.05% with the use of atorvastatin and 32.54% with simvastatin; the decrease in PD was 3.40 – 0.56 mm (mean – SD) with atorvastatin and 1.20 – 1.24 mm with simvastatin; and the decrease in CAL was 4.20 – 0.60 mm (mean – SD) with atorvastatin and 1.63 – 1.99 mm with simvastatin.<sup>5,6</sup> These findings may indicate that atorvastatin application could possibly have greater anti-inflammatory effects.

In the present study, four patients had diabetes, one in the placebo group and three in the atorvastatin group. Diabetes is considered a risk and modifying factor for periodontitis, especially when it is poorly or not controlled.<sup>29</sup> Conversely, periodontal disease can also affect diabetes and its complications.<sup>29</sup> In this study, only patients with well-controlled diabetes were included, which was confirmed by laboratory tests and the corresponding interconsultation with the treating physician. Considering the high prevalence of diabetes in the population and the potential benefits of periodontal therapy to the general health of a person with diabetes, these patients were not excluded from the study.

A previous study evaluated the effect of irrigation of periodontal pockets with a 1.2% simvastatin gel compared with placebo gel, in addition to SRP in patients with type 2 diabetes. They observed that the group receiving simvastatin gel presented a greater reduction in PD, CAL, and improved bone filling.<sup>27</sup> This background shows the potential use of topic statins as a complement to conventional periodontal treatment of high-risk patients.

Another group of patients that have increased susceptibility to periodontal disease are smokers. In this study, 11 smokers are included in the placebo group and five in the atorvastatin group. Smoking is considered the main modifying risk factor for peri-odontitis.<sup>30</sup> Some of the mechanisms involved are oxidative stress and immune dysfunction.<sup>30</sup> Clinically, smokers have elevated bone resorption, and conventional periodontal therapy does not give good and predictable long-term results.<sup>30</sup> Considering this background and the potential benefits re-ported for statins at both the immunoinflammatory and bone metabolism levels, it is reasonable and highly likely that this type of patient will benefit from the use of statin applied topically as a complement to NSPT.

Considering both conditions as potential con-founding factors, in this study, statistical adjustment is performed when results are analyzed. Consequently, well-controlled double-masked randomized clinical trials (RCTs) should be performed to establish the potential use and effectiveness of this complementary therapeutic approach in patients with increased susceptibility.

One limitation of the present design lies in having only one control evaluation (at 1 month). However, this follow-up period is key, because it is within the recommended time for reevaluation of NSPT,<sup>31</sup> allowing for the evaluation of the effects of atorvastatin-medicated dentifrice as a complement to the NSPT prior to making a decision with respect to further surgical maneuvers and thus avoiding costly treatments. Further studies that investigate the long-term effects of this therapeutic approach are very relevant.

Topical application of statins could have the added benefit of decreasing some adverse effects such as those that occur with antibiotics or antiseptics.<sup>32</sup> Myopathy and hepatotoxicity are two of the adverse effects of statins reported in the literature,<sup>33</sup> both of which may be prevented by using a local delivery system, thereby decreasing the concentration of drugs in the bloodstream and, simultaneously, maintaining tighter control over the drug than is possible with systemic drug use. The delivery system (statin-medicated dentifrice) proposed by this study could have an enormous effect because it is feasible that it might be

used successfully by a large pro-portion of the population, with the advantages of low cost and easy application. This delivery system might also be used not only as a complement to therapy but also for prevention and maintenance. The benefits obtained from this delivery system could be-come particularly important when treating high-risk periodontal patients such as tobacco smokers, patients with diabetes and other susceptible patients with altered immunologic responses.

**Table 2.**

Adjusted Difference Between the Placebo and Atorvastatin Groups for Delta Variables (at baseline and 1-month follow-up)

Delta Variable	Constant	Coefficient	P	95% CI	
PISA (mm <sup>2</sup> )	296.19	297.63	0.01*	76.04 to 519.23	
PD					
Mean (mm)	0.86	0.45	0.02*	0.08 to 0.83	
0 to 2 mm (% of sites)	-28.07	-4.61	0.34	-14.23 to 5.01	
3 to 4 mm (% of sites)	15.19	-6.21	0.32	-18.63	to 6.2
±5 mm (% of sites)	10.10	13.43	0.002*	5.52	to 21.34
CAL					
Mean (mm)	0.42	0.47	0.001*	0.22 to 0.72	
0 to 2 mm (% of sites)	-11.47	-3.61	0.31	-10.7	to 3.49
3 to 4 mm (% of sites)	10.93	-3.02	0.42	-10.61 to 4.57	
±5 mm (% of sites)	0.89	7.11	0.01*	1.61	to 12.61
BOP (% of sites)	34.12	32.66	<0.001*	19.7	to 45.63
Mean recession (mm)	0.43	-0.01	0.95	-0.3 to 0.28	
GI	0.69	0.41	0.03*	0.03	to 0.79
OHI	-44.29	1.31	0.91	-21.66 to 24.28	

CI = confidence interval. Adjusted for sex, tobacco use, and diabetes (multiple linear regression). \* P <0.05.

## CONCLUSIONS

The authors observed that the use of a dentifrice medicated with 2% atorvastatin

as a complement to NSPT was more effective in improving clinical periodontal parameters in patients with CP compared with the use of a placebo dentifrice in conjunction with identical periodontal therapy. Although longer-term, multicenter, controlled RCTs are required to confirm these observations, this finding suggests a possible new direction for the management of periodontal disease.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This research was funded by the University of los Andes, Mons. Alvaro del Portillo 12455, Las Condes, Santiago, Chile. and Chilean Production Development Corporation Grant 13IDL1-18270, Moneda 921, Santiago, Chile. The authors report no conflicts of interest related to this study.

## **REFERENCES**

1. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000* 2012;58:10-25.
2. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Periodontol* 2013;84(Suppl. 4): S1-S7.
3. Ebersole JL, Dawson DR 3rd, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, Gonzale´z OA. Periodontal disease immunology: ‘‘Double indemnity’’ in protecting the host. *Periodontol 2000* 2013;62:163-202.
4. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000* 2014;64:57-80.
5. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: A randomized clinical trial. *J Periodontol* 2010;81:214-222.
6. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical efficacy of subgingivally delivered 1.2% atorvastatin in chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2013;84:871-879.
7. Blanco-Colio LM, Tun˜o´n J, Martı´n-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int* 2003;63:12-23.

8. Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Dis* 2006;12:85-101.
9. Mach F. Statins as immunomodulatory agents. *Circulation* 2004;109(21 Suppl 1):II15-II17.
10. de Araujo Júnior RF, Souza TO, de Moura LM, et al. Atorvastatin decreases bone loss, inflammation and oxidative stress in experimental periodontitis. *PLoS One* 2013;8:e75322.
11. Dalcico R, de Menezes AMA, Deocleciano OB, et al. Protective mechanisms of simvastatin in experimental periodontal disease. *J Periodontol* 2013;84:1145-1157.
12. Page RC, Eke PI. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* 2007; 78(Suppl. 7):1387-1399.
13. Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FKL, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: Quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol* 2008;35:668-673.
14. Löe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol* 1967;38(Suppl. 6): 610-616.
15. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43:38.
16. Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT). Available at: <http://www.consort-statement.org>. Accessed April 16, 2014.
17. Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin use and tooth loss in chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2006;77:1061-1066.
18. Lindy O, Suomalainen K, Maäkela M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retro-spective study. *BMC Oral Health* 2008;8:16.
19. Nesse W, Linde A, Abbas F, et al. Dose-response relationship between periodontal inflamed surface area and HbA1c in type 2 diabetics. *J Clin Periodontol* 2009;36:295-300.
20. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation* 2001;103:1933-1935.
21. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. PRINCE Investigators. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: The pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): A randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001;286:64-70.



22. Solheim S, Seljeflot I, Arnesen H, Eritsland J, Eikvar L. Reduced levels of TNF alpha in hypercholesterolemic individuals after treatment with pravastatin for 8 weeks. *Atherosclerosis* 2001;157:411-415.
23. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:427-431.
24. Hernández-Presa MA, Ortego M, Tuño'n J, et al. Simvastatin reduces NF-kappaB activity in peripheral mononuclear and in plaque cells of rabbit atheroma more markedly than lipid lowering diet. *Cardiovasc Res* 2003;57:168-177.
25. Paumelle R, Blanquart C, Briand O, et al. Acute antiinflammatory properties of statins involve peroxi-some proliferator-activated receptor-alpha via inhibition of the protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 2006;98:361-369.
26. Rao NS, Pradeep AR, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Simvastatin local drug delivery in smokers with chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Aust Dent J* 2013;58:156-162.
27. Pradeep AR, Rao NS, Bajaj P, Kumari M. Efficacy of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: A randomized double-masked controlled clinical trial. *J Periodontol* 2013; 84:24-31.
28. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study). *Am J Cardiol* 1998; 81:582-587.
29. Chee B, Park B, Bartold PM. Periodontitis and type II diabetes: A two-way relationship. *Int J Evid Based Healthc* 2013;11:317-329.
30. Nociti FH Jr., Casati MZ, Duarte PM. Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol* 2000 2015;67: 187-210.
31. Segelnick SL, Weinberg MA. Reevaluation of initial therapy: When is the appropriate time? *J Periodontol* 2006;77:1598-1601.
32. Quirynen M, Teughels W, De Soete M, van Steenberghe D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: Microbiological

aspects. *Periodontol* 2000 2002; 28:72-90.

33. Spalvieri M, Oyola M. Statins: Incidence of adverse effects (in Spanish). *Acta Bioquímica Clínica Latinoam* 2011;45:727-738.

**Correspondence:** Dr. David Rosenberg, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, University of Los Andes, Monsenor Alvaro del Portillo 12455, Las Condes, Santiago, Chile. Fax: 56-2-24322017; e-mail: drosenberg@uandes.cl.

*Submitted September 4, 2014; accepted for publication January 5, 2015.*

# D

## ISCUSIÓN

## 8. DISCUSIÓN

Los enfoques terapéuticos actuales para el tratamiento de la enfermedad periodontal, incluyen desde raspado, alisado y pulido radicular hasta cirugía en algunos casos (105). Sin embargo, las estatinas podrían proporcionar un enfoque adicional en la terapia periodontal, debido a las propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y de formación ósea que poseen.

Distintos tipos de estudio se han centrado en investigar el efecto de las estatinas en los tejidos periodontales. Como resultado de esta revisión, se tuvo acceso a 2 estudios *in vitro*, 11 estudios en animales y 17 estudios en humanos, de los cuales, 10 son ensayos clínicos, 5 son transversales y 2 estudios son de cohorte.

En general los estudios se centraron en determinar el efecto de la administración de estatinas, tanto de forma sistémica como local, en parámetros periodontales clínicos y radiográficos. Además, algunos estudios determinan el efecto de las estatinas sobre factores de crecimiento óseos, metaloproteinasas, RANK, RANKL, OPG, citoquinas proinflamatorias y sobre el estrés oxidativo.

Estudios *in vitro* realizados en células de ligamento periodontal humanas demuestran que SMV en dosis bajas, promueve la actividad de fosfatasa alcalina, la proliferación celular y la diferenciación osteoblástica de estas células, lo que indica la sensibilidad de las células del tejido conectivo a la SMV. Por otro lado, en fibroblastos gingivales humanos se encontró que SMV y ATV no alteraban de manera significativa las moléculas RANKL y OPG.

Estudios en animales crearon distintos tipos de defectos para evaluar el efecto de las estatinas en los tejidos periodontales. La periodontitis inducida por ligadura en relación al cuello de piezas dentarias, fue producida por la mayoría de los estudios. Este método permite a los microorganismos subgingivales acumularse, y se ha observado que 3 días de inducción es suficiente para promover la inflamación y destrucción periodontal (84,106). Jin y colaboradores por su parte utilizaron la inducción de periodontitis a través

de lipopolisacáridos de Aa. Por otro lado, se evaluó el efecto de las estatinas en la reabsorción del hueso alveolar en alvéolos de piezas extraídas y en defectos de furca. Es importante destacar que ninguno de los estudios reportó efectos adversos en los animales tratados con estatinas.

Algunos estudios en animales utilizaron como vehículo para las estatinas el copolímero PLGA (ácido poliláctico / ácido poliglicólico), este sistema de liberación controlada puede reducir la frecuencia de administración del fármaco y acelerar la actividad de formación ósea (13,85). Otro vehículo utilizado fue el gel, sin embargo, Morris y colaboradores reportan que la retención de este era difícil en los perros debido a que el gel tendía a extruir a partir de los defectos (87).

Los resultados de los estudios en animales sugieren que la administración local y sistémica de SMV en defectos periodontales, disminuye la pérdida de inserción y pérdida ósea, aumentando la formación ósea, observándose mayor cantidad de osteoblastos y osteocitos en los grupos tratados. Por otro lado, la aplicación sistémica de ATV en periodontitis inducida en animales, disminuye la pérdida de hueso alveolar y aumenta la densidad radiográfica. Además, Wu y colaboradores observaron que SMV de aplicación local aumenta la DMO. Por último, Morris y colaboradores demostraron que SMV aumenta el espesor de reborde desdentado, pero la altura ósea de los defectos intraóseos y de furcación no presentan cambios beneficiosos. Esto puede deberse posiblemente a la extrusión del gel que se produjo en estos defectos.

Varios estudios en animales pueden explicar el mecanismo por el cual las estatinas mejoran la pérdida ósea. Liu y colaboradores sugieren que la administración de SMV-PLGA, puede aumentar el nivel de expresión de tres factores de crecimiento osteoinductivos (TGF $\beta$ 1, BMP-2, VEGF) y, por lo tanto, promover la posterior formación de hueso nuevo en la cavidad del un diente extraído. Por su parte, estudios observaron que la aplicación de SMV sistémica redujo la expresión MMP-1-8-9, RANK y RANKL, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  y produjo el aumento de los niveles de IL-10, OPG y BMP-2 en el tejido periodontal (11,90), además, dosis de 30 mg / kg de SMV aumentaron la actividad fosfatasa alcalina. Balli y colaboradores encontraron que la aplicación de ATV tanto sistémica como local aumenta el VEGF y disminuyen MMP-9, pero la aplicación local tuvo mejores

resultados. Por último ATV sistémica (10 mg), redujo la expresión de COX-2, MMPs-2 y 9, RANK, RANKL, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , y aumentó los niveles de OPG (91). Por otro lado, la periodontitis inducida experimentalmente en animales, condujo a estrés oxidativo en los tejidos periodontales, el cual se redujo con el uso de SMV y ATV (11,91).

Entre los estudios analizados en humanos, con administración sistémica de estatinas, se obtuvo un ensayo clínico aleatorizado controlado doble ciego (Fajardo y colaboradores 2010). El ensayo clínico con asignación al azar es el método más fiable para determinar la eficacia de una intervención terapéutica (21). Este estudio posee un nivel 1 + de evidencia y un grado de recomendación A, lo que significa que existe adecuada evidencia científica para recomendarlo. En él, la ATV disminuyó la movilidad dental y la distancia entre cresta ósea alveolar y la unión cemento esmalte en pacientes con periodontitis moderada. La movilidad dental es proporcional a la cantidad de hueso que forma la cresta ósea alveolar, por lo tanto, al lograr una recuperación ósea, se disminuye la movilidad (94). Por otro lado, no se observó una mejora significativa de la DMO. Como limitaciones, este estudio presenta un desequilibrio en la distribución de género en favor de las mujeres, corto tiempo de la terapia, y el pequeño tamaño de la muestra. Además, probablemente sería más apropiado evaluar los niveles de los cambios en la pérdida ósea en pacientes con periodontitis severa.

Por otro lado Saver y colaboradores (2007) continuaron el estudio de Cunha-Cruz y colaboradores (2006) el cual presentaba algunas limitaciones ya que poseía una baja muestra y la incapacidad para controlar consumo de tabaco. Saver y colaboradores aumentaron el tamaño de la muestra y controlaron el uso de tabaco y diabetes. Este estudio no encontró ninguna sugerencia de que las estatinas aumenten o disminuyan la pérdida de dientes. El diseño longitudinal del estudio, que abarca 7 años de seguimiento, permite observar las asociaciones del uso de estatinas a corto y largo plazo con la pérdida de dientes. Sin embargo presenta como sesgo el ser un estudio observacional. Además, el pequeño número de usuarios de estatinas en altas dosis, impide determinar un efecto protector de esta terapia en dosis mayores, por otro lado, sólo un pequeño porcentaje de pacientes utilizaron estatinas de manera continua por un largo periodo, lo que impidió evaluar los efectos potenciales de las estatinas a largo plazo. Finalmente, se

trataron todas las estatinas como equivalentes, lo que imposibilita determinar un efecto limitado a una estatina en particular.

Estudios transversales también analizan el efecto de la administración sistémica de estatinas en los parámetros clínicos periodontales. Por un lado Lindy y colaboradores (2008) demuestran que tanto SMV como ATV reducen los sacos periodontales y la carga inflamatoria. Sin embargo, los resultados del estudio de Saxlin y colaboradores (2009) sugieren que las estatinas actúan sobre el periodonto, dependiendo de la condición inflamatoria este, debido a que en sujetos sin sangrado gingival, ni placa bacteriana las estatinas se asociaban a un aumento de la probabilidad de profundizar sacos periodontales. A diferencia del primer estudio Saxlin y colaboradores (2009) excluye a los pacientes que presentan el factor de riesgo de tabaco que se sabe reduce el sangrado gingival (107). Además, se excluyen pacientes con artritis reumatoide, que con frecuencia consumen otros medicamentos como inmunomoduladores y antiinflamatorios. Sin embargo, no se puede excluir totalmente la posibilidad de fumadores no declarados o enfermedades no diagnosticadas, los cuales podrían tener algún efecto sobre la asociación entre la medicación con estatinas y la infección periodontal (64). Por otro lado, Suresh y colaboradores (2013) demuestran el efecto antiinflamatorio de las estatinas, al encontrar una disminución de IL-1 $\beta$  en el fluido gingival crevicular (FGC) de los consumidores de estatinas(95). Los niveles de mediadores inflamatorios en el FGC se han considerado como marcador de la progresión subclínica y la gravedad de la periodontitis (108), por ende una reducción en estos niveles, se considera beneficioso. Estos estudios presentan un nivel de evidencia 3 y un grado de recomendación C, lo cual se considera una limitación, ya que la recomendación es favorable, pero no concluyente (Tabla 18).

Todos los estudios de aplicación sistémica de estatinas analizados, realizaron mediciones del estado periodontal utilizando parámetros muy similares. En general se evaluó: 1) índice de placa (Silness and Løe, 1964), 2) índice gingival (Løe and Silness,1963), 3) profundidad de sondaje (PS). Además, Lindy y colaboradores utilizan el índice de carga inflamatoria periodontal (PIBI), el cual consiste en la suma de el numero de sitios con periodontitis moderada con la ponderada de los sitios con periodontitis severa.

En relación al uso de estatinas y el metabolismo óseo, existen en la literatura resultados contradictorios con respecto al beneficio de estas sobre el tejido óseo de pacientes con fracturas (51). Una de las razones para los resultados contradictorios podría ser que al realizar una administración sistémica, las estatinas están diseñadas para ser metabolizadas primero en el hígado y sólo un pequeño porcentaje de la droga llega a las células óseas. Es por esto que ensayos clínicos aleatorizados se han concentrado en el efecto de la estatinas administradas localmente y su papel potencial en la terapia regenerativa periodontal.

Se obtuvieron 4 ensayos clínicos aleatorizados de aplicación local tanto de SMV como ATV en una concentración de 1.2%(1,97,98,103,104), los cuales presentan un nivel de evidencia 1 + (Tabla 19). Estos demuestran una mejoría en los parámetros clínicos de sangrado al sondaje, profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica. Rath y colaboradores (2012) fue el único que no encontró diferencias significativas en NIC. Los estudios también demuestran un aumento de relleno óseo en piezas con periodontitis o defectos de furcación. La aplicación de ATV demostró ser ligeramente más eficaz en el aumento del relleno óseo. La ATV es una estatina lipofílica y parece tener un efecto más potente de preservación ósea en comparación con las estatinas hidrófilos tales como pravastatina (97). Por otra parte, Rath y colaboradores, demuestran que la aplicación local de SMV reducen significativamente los niveles de IL-6 en el epitelio del surco (96). Por último, se encontró que las concentraciones de SMV en el FGC alcanzan su punto máximo a las 2 horas después de la aplicación, pero se mantienen hasta el día 30 (1). El carácter unicéntrico de estos estudios disminuye su validez externa, ya que para que esta sea mayor se requieren estudios multicéntricos donde participen múltiples instituciones sanitarias, pacientes de diversas procedencias y de diferentes estilos de práctica clínica (9). Todos los estudios realizaron mediciones periodontales muy similares, tales como índice de placa (Silness and Løe, 1964), índice de sangrado del surco modificado (mSBI), PS y NIC. Además, utilizaron radiografía digital estandarizada con bloques de mordida individualizados y técnica de ángulo paralelo para evaluar los defectos óseos.

Las ventajas de la administración local de fármacos es obtener altas concentraciones en el sitio diana con una dosis reducida, menor número de aplicaciones, y una alta



aceptabilidad del paciente, en comparación con un régimen sistémico, la administración local puede ofrecer beneficios importantes en términos de las reacciones adversas y el cumplimiento del paciente (97). Para conseguir efectos terapéuticos de fármacos aplicados por vía tópica se requiere la capacidad de atravesar membranas biológicas. Las diferentes polaridades de los fármacos determinan su capacidad de acceder al sitio receptor. Es por esto que estatinas lipofílicas, tales como SMV y ATV, poseen una mayor capacidad de atravesar las membranas celulares por difusión pasiva, por lo que alcanzan su objetivo de mejor manera (109).

Los vehículos utilizados para la administración local de fármacos, deben ser biocompatibles, tener una cinética de biodegradación predecible y ser de fácil fabricación (110). La mayoría de los estudios, utilizaron la metilcelulosa, la cual es considerada como un material de baja toxicidad, no irritante y que no produce reacciones alérgicas (1).

La concentración de 1,2% de SMV y ATV utilizada en los ensayos clínicos, permitió lograr una viscosidad adecuada, para obtener un gel fluido que pasara fácilmente a través de la jeringa. Las agujas utilizadas fueron de un pequeño calibre para lograr una mayor dispersión en el sitio afectado (1,97). La forma ideal de aplicación de droga local es la forma de gel, la cual permite una aplicación sencilla, rápida y generalizada en todas las áreas afectadas. Además, debe poseer una disponibilidad prolongada y en suficientes concentraciones inhibitorias mínimas durante varios días (105).

Por otro lado, existen estudios que evalúan la asociación entre la hiperlipidemia, la enfermedad periodontal, y el impacto del uso de estatinas en el periodonto. Dos estudios de intervención no aleatorizados, evaluaron esta relación en pacientes que recibieron tratamiento con estatinas (99,101). La muestra fue relativamente pequeña debido a la eliminación de individuos con posibles factores de confusión como fumadores, intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus y otras condiciones que se cree están involucradas en el desarrollo tanto de la enfermedad periodontal como de hiperlipidemia. Estos estudios concluyen que la combinación de la terapia periodontal y el tratamiento antilipémico puede proporcionar efectos beneficiosos en la inflamación y el control metabólico de la hiperlipidemia a través de las disminuciones de las citoquinas

proinflamatorias en suero. Por otra parte, ambos demostraron una disminución de parámetros periodontales como índice de placa, índice gingival y BOP. Además, Fentoglu Ö, Özdem y colaboradores (2012), observaron una disminución estadísticamente significativa en los niveles de IL-6 en el FGC a los 3 meses en el grupo tratado con ATV. El análisis de transparencia de estos estudios según la lista de comprobación TREND (21), demuestra sesgos ya que ninguno de los dos estudios determina el método de muestreo, la forma de determinar el tamaño muestral, ni los lugares donde se efectuó el registro de datos. Tampoco presentan los métodos utilizados para reducir los sesgos potenciales por no haber distribuido la muestra de forma aleatoria, ni mencionan el cegamiento de los participantes. En la discusión, los estudios no consideran la posibilidad de extrapolación de los resultados, ni las debilidades del estudio.

Recientemente, un estudio doble ciego, aleatorizado, multicéntrico, mediante fluorodesoxiglucosa-tomografía por emisión de positrones y tomografía computada (FDG-PET/TC), cuyo uso es relativamente nuevo en la evaluación de la enfermedad periodontal, demostró que altas dosis de ATV (80 mg) reducen tanto la inflamación periodontal, como la inflamación carotidea (111). Observándose que una reducción de la inflamación periodontal, conduce a una reducción de mediadores pro-inflamatorios liberados por el tejido periodontal, en la circulación sistémica, lo que a su vez puede conducir a una mayor reducción en la inflamación aterosclerótica. Sin embargo, en este estudio no se puede excluir la posibilidad de que las estatinas afecten tanto al periodonto, como a la inflamación arterial de forma independiente. Además, no se permite determinar la eficacia del tratamiento de dosis baja de estatinas, debido a que todos los pacientes estaban en tratamiento con dosis baja de estatinas al inicio del estudio. Otros estudios observacionales, también se centraron en este tema, según Meisel y colaboradores, las estatinas al disminuir c-LDL y PCR, pueden prevenir cualquier aumento en los parámetros periodontales, como pérdida de inserción, ocasionado por estos. Además, Sangwan y colaboradores, sugieren que los pacientes con hiperlipidemia tenían un estado periodontal más pobre que aquellos que son normolipidémico, sin embargo, los consumidores de estatinas presentaron parámetros periodontales similares a los normolipidémicos, lo que supone un papel protector de las estatinas. Este papel

puede deberse en primer lugar por la disminución de los lípidos en suero causado por las estatinas, lo cual beneficiaría a los tejidos periodontales, ya que se ha encontrado asociación entre niveles elevados de lípidos y un estado periodontal deficiente (112), esto se puede explicar, debido a que un estado hiperlipidémico precipita un estado proinflamatorio (113,114), el cual se vería disminuido con el uso de estatinas. En segundo lugar, la mejora de los parámetros periodontales se podría explicar, por una acción antiinflamatoria directa, por los ya mencionados efectos pleiotrópicos. Sin embargo, al ser estudios transversales, no se puede establecer la causalidad de la hiperlipidemia o de las estatinas en las condiciones periodontales. Por lo demás, tampoco se tomo en cuenta la duración total del uso de estatinas en cada paciente. Es importante destacar que todos los estudios realizaron medición de parámetros periodontales en toda la boca a excepción de Meisel y colaboradores, que solo realizó estas en la mitad de la boca. Además, realizaron mediciones de IP (Silness and Løe, 1964), IG (Løe and Silness, 1963), IG, BOP, PS y NIC, de manera similar

Finalmente, en esta revisión se tuvo acceso a dos ensayos clínicos aleatorizados controlados que estudian el efecto de la administración local de estatinas en factores de riesgo para enfermedad periodontal, los cuales poseen nivel de evidencia 1 + (Tabla 18). Se define como factor de riesgo a cualquier característica del individuo, aspecto de comportamiento o exposición ambiental, confirmado por medio de estudios longitudinales bien controlados, que cuando están presentes, incrementan la probabilidad de que ocurran las enfermedad periodontal, y si están ausentes, reducen la probabilidad de que se conviertan en un elemento más de la cadena causal (115). El tabaco es el factor de riesgo modificable más significativo. Afecta la prevalencia y progresión de las periodontitis cuya severidad depende de la dosis (115). Por otro lado la diabetes mellitus mal controlada (tipo I y tipo II) es el factor de riesgo que tiene más influencia en el desarrollo y progresión de las periodontitis (115). Los resultados obtenidos en estudios de pacientes con diabetes tipo 2 y tabaquismo, indican que el efecto del tratamiento con 1.2% SMV obtuvo mejoría en parámetros periodontales clínicos y radiográficos, demostrando los efectos antiinflamatorios y el rol en la formación ósea que poseen las estatinas. Aunque, al comparar los resultados con el primer estudio realizado por Pradeep y colaboradores (1), estos fueron menores a los obtenidos en pacientes que

presentaban sólo periodontitis crónica, lo que se explica por el efecto de estos factores de riesgo en la enfermedad periodontal. Sin embargo, estos estudios son de carácter unicéntrico por lo que se disminuye su validez externa, además, es necesario llevar a cabo estudios a largo plazo para determinar el efecto el efecto clínico, histológico y radiográfico de las estatinas sobre la regeneración ósea en pacientes fumadores y diabéticos.

Para conocer la fiabilidad de los resultados de los estudios clínicos de administración sistémica y tópica de estatina, se determinaron los potenciales sesgos. Estos presentaron un bajo riesgo de sesgo en la generación de la secuencia de asignación, ya que en todos los estudios se realizó una asignación aleatoria a los pacientes que recibían tratamiento con estatina o placebo. Sin embargo, en todos los estudios el riesgo de sesgo de selección por ocultación de la asignación fue poco claro, debido a que no describían el método utilizado para la ocultación. El cegamiento de los pacientes fue especificado sólo en algunos estudios. Para los demás el riesgo de sesgo de realización por cegamiento de los participantes fue poco claro. Todos los estudios describieron el cegamiento de los evaluadores de los resultados, excepto el estudio de Rath y colaboradores, donde esta característica no fue descrita, presentando un alto riesgo de sesgo de detección. Todos los artículos describen los resultados de todos los parámetros analizados, incluidos los abandonos y las exclusiones del análisis, por lo que no presentan riesgo de sesgo de desgaste. Finalmente, para todos los estudios el riesgo de sesgo por notificación fue poco claro, ya que fue difícil determinar los resultados no notificados, debido a que no se tiene acceso al protocolo del estudio (20). Además, para poder evaluar la metodología de un ensayo clínico aleatorizado (ECA) es preciso que se describan detalladamente, con exactitud y con transparencia, su diseño, ejecución, análisis y resultados. La lista de la declaración CONSORT 2010 (18) se utilizó para evaluar los ECA presentes en esta revisión. En general, la mayoría de los estudios presentan diferencias con la pauta, debido a que no especifican como se determinó el tamaño muestral, tampoco determinan la forma de ocultación de la asignación, ni quien generó la secuencia de asignación aleatoria, quién seleccionó a los participantes y quién asignó los participantes a las intervenciones. Dentro del los resultados, algunos estudios no

presentan el recomendado diagrama de flujo, además, la mayoría de los estudios no están registrados y no presentan información sobre el acceso al protocolo completo.

Para la evaluación de los estudios observacionales se utilizó la pauta de la declaración STROBE (19). En general los estudios no especifican como se determinó el tamaño de la muestra, no refieren las medidas adoptadas para afrontar fuentes potenciales de sesgo, ni explican el tratamiento de datos ausentes. Con respecto a los resultados, la mayoría no describe las razones de la pérdida de participantes en cada fase, ni utilizan diagrama de flujo, tampoco discuten la posibilidad de generalizar los resultados.

Es importante destacar que todos los estudios seleccionados, tanto ensayos clínicos, como estudios observacionales fueron aprobados por los comités de ética correspondiente. Además, en todos los estudios se especifica la utilización del consentimiento informado a excepción de los estudios retrospectivos como Cunha-Cruz, Saver y Lindy. Por su parte, todos los estudios en animales fueron aprobados por los diferentes comités de cuidado animal.

# C ONCLUSIONES

## 9. Conclusiones

El análisis de la evidencia científica demuestra que las estatinas podrían proporcionar una nueva dirección en el campo de la terapia periodontal. Se justificaría su uso, ya que controlarían la variable inmunológica, que aun no se considera en la terapéutica convencional. Las estatinas poseen propiedades anti-inflamatorias, que disminuyen citoquinas pro-inflamatorias involucradas en enfermedad periodontal, tales como IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , además, disminuye metaloproteinasas que juegan un papel importante en la destrucción periodontal (MMPs-1-2-8-9). Adicionalmente las estatinas participan en el metabolismo óseo, principalmente sobre factores de crecimiento osteoinductivos (TGF $\beta$ 1, BMP-2, VEGF) y la fosfatasa alcalina. Tales propiedades se traducen en una mejora de parámetros periodontales clínicos y radiográficos en los diferentes estudios analizados.

Además, estudios demuestran la potencial aplicación tópica de estos fármacos (principalmente las estatinas de tipo lipofílicas como simvastatina y atorvastatina). Es por esto que concluimos que se justificaría plenamente considerar su aplicación tópica, como un tratamiento adicional complementario, para la prevención en pacientes de alto riesgo periodontal, para potenciar la resolución y cura de defectos periodontales y como estrategia de mantenimiento para evitar recidivas. La administración local, resulta ideal ya que ofrece altas concentraciones en el sitio objetivo, disminuyendo las desventajas de un régimen sistémico como reacciones adversas y cumplimiento del paciente.

Sin embargo, son necesarios desarrollos de formas farmacéuticas tópicas, probadamente eficaces y activas sobre las células inmunes. Además, son necesarios estudios in vitro e in vivo que determinen la dosis y el vehículo ideal, para la administración local de estatinas. Y finalmente se necesitarán ensayos clínicos controlados aleatorizados adecuadamente diseñados, para evaluar los beneficios potenciales de la estatinas en la terapia periodontal.

Por último, se ha establecido una fuerte asociación entre la hiperlipidemia y la enfermedad periodontal, por lo que las estatinas aplicadas en forma tópica con fines

periodontales, podrían tener impacto favorable en la salud del individuo, al reducir también, los niveles lipídicos en la sangre.



# R REFERENCIAS BIBLIGRÁFICAS

**10. REFERENCIAS**

1. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. febrero de 2010;81(2):214-22.
2. MG Newman. Carranza Periodontología Clínica. 9 º. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004. 1085 p.
3. Carrillo de Albornoz Sainz A, García Kass A, Bascones Martínez A. Papel de la IL-6 y TNF-alfa en la enfermedad periodontal. *Av En Periodoncia E Implantol Oral*. agosto de 2006;18(2):83-9.
4. Lindy O, Suomalainen K, Mäkelä M, Lindy S. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: A retrospective study. *BMC Oral Health*. 2008;8:16.
5. Pinheiro PG. Efeito antiinflamatório da atorvastatina na periodontite induzida por ligadura em ratos [Internet]. 2009 [citado 8 de abril de 2013].
6. Ramos-Esquivel A, León-Céspedes C. Efectos no hipolipemiantes de las estatinas. *Acta Médica Costarric*. octubre de 2007;49(4):182-9.
7. Mennickent C S, Bravo D M, Calvo M C, Avello L M. Efectos pleiotrópicos de las estatinas. *Rev Médica Chile*. junio de 2008;136(6):775-82.
8. Gómez-Fernández P. Estatinas y efectos beneficiosos. *Med Clin Barc*. 2005;125(15):578-9.
9. Echeverri D, Buitrago L, Montes FR. Efectos pleiotrópicos de las estatinas. *Características Farm Útiles En Prev Trat Regresión Enferm Cardiovasc Rev Col Cardiol*. 2005;12(3):95-102.
10. Sánchez G. Efectos no hipolipemiantes ni cardiovasculares de las estatinas. *Acta Med Colomb* [Internet]. 2007 [citado 7 de abril de 2013];32(3).

11. Dalcico R, de Menezes AMA, Deocleciano OB, Oriá RB, Vale ML, Ribeiro RA, et al. Protective Mechanisms of Simvastatin in Experimental Periodontal Disease. *J Periodontol*. 26 de noviembre de 2012;1-14.
12. Balli U, Cayir Keles G, Ozkan Cetinkaya B, Mercan U, Ayas B, Erdogan D. Assessment of VEGF and MMP-9 in the Periodontium of Rats Treated with Atorvastatin. *J Periodontol*. 7 de mayo de 2013;1-12.
13. Liu C, Wu Z, Sun H. The Effect of Simvastatin on mRNA Expression of Transforming Growth Factor- $\beta$ 1, Bone Morphogenetic Protein-2 and Vascular Endothelial Growth Factor in Tooth Extraction Socket. *Int J Oral Sci*. junio de 2009;1(2):90-8.
14. Richard Harvey PC, Denise Ferrier. *Bioquímica*. 4<sup>o</sup> edición. Lippincott's Williams & Wilkins; 2007. 219-242 p.
15. Brunton L, Lazo J, Parker K. *Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. McGraw-Hill Interamericana; 2007. 948-953 p.
16. Jan Lindhe. *Periodontología Clínica E Implantología Odontológica*. 4<sup>o</sup> edición. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005. 157-187 p.
17. Harbour R, Miller J. A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ*. 11 de agosto de 2001;323(7308):334-6.
18. Cobos-Carbó A, Augustovski F. Declaración CONSORT 2010: actualización de la lista de comprobación para informar ensayos clínicos aleatorizados de grupos paralelos. *Med Clínica*. julio de 2011;137(5):213-5.
19. Douglas G Altman ME. Declaración de la iniciativa Strobe (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology): Directrices para la comunicación de estudios observacionales. *Rev Esp Salud Pública* ISSN 1135-5727 Vol 82 N<sup>o</sup> 3 2008 Pags 251-259. 2013;
20. Higgins J, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. March 2011. Version 5.1.0.

21. Vallvé C, Artés M, Cobo E. Estudios de intervención no aleatorizados (TREND). *Med Clínica*. 2005;125(1):38-42.
22. Primo J. Niveles de evidencia y grados de recomendación (I/II). Hospital de Sagunto, Valencia.; 2003.
23. Armitage GC, Research, Science and Therapy Committee of the American Academy of Periodontology. Diagnosis of periodontal diseases. *J Periodontol*. agosto de 2003;74(8):1237-47.
24. Armitage G. Diagnóstico y clasificación de las enfermedades periodontales. *Periodontol 2000*. 2005;9:9-21.
25. Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ, CDC Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck (University of North Carolina, Chapel Hill, USA), Gordon Douglass (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washin. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res*. octubre de 2012;91(10):914-20.
26. Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W, et al. Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol*. octubre de 2010;81(10):1403-10.
27. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2000;27(10):722-32.
28. Ishikawa I, Nakashima K, Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S, et al. Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997;14(1):79-111.
29. Bascones A, González Moles MA. Mecanismos inmunológicos de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Av En Periodoncia E Implantol Oral*. diciembre de 2003;15(3):121-38.

30. Almasri A, Wisithphrom K, Windsor LJ, Olson B. Nicotine and Lipopolysaccharide Affect Cytokine Expression From Gingival Fibroblasts. *J Periodontol.* marzo de 2007;78(3):533-41.
31. Liu R, Desta T, Raptis M, Darveau RP, Graves DT. *P. gingivalis* and *E. coli* Lipopolysaccharides Exhibit Different Systemic but Similar Local Induction of Inflammatory Markers. *J Periodontol.* julio de 2008;79(7):1241-7.
32. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2001;25:8-20.
33. Graves D. Cytokines That Promote Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol.* agosto de 2008;79(8s):1585-91.
34. De Menezes AMA, de Souza GFP, Gomes AS, de Carvalho Leitão RF, de Albuquerque Ribeiro R, de Oliveira MG, et al. S-Nitrosoglutathione Decreases Inflammation and Bone Resorption in Experimental Periodontitis in Rats. *J Periodontol.* abril de 2012;83(4):514-21.
35. Cochran DL. Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. *J Periodontol.* agosto de 2008;79(8s):1569-76.
36. Berker E, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Blocking Proinflammatory Cytokine Release Modulates Peripheral Blood Mononuclear Cell Response to *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.* septiembre de 2013;84(9):1337-45.
37. Ohlrich E, Cullinan M, Seymour G. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009;54:S2-S10.
38. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 17 de abril de 1998;93(2):165-76.
39. Ejeil A-L, Igondjo-Tchen S, Ghomrasseni S, Pellat B, Godeau G, Gogly B. Expression of Matrix Metalloproteinases (MMPs) and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs) in Healthy and Diseased Human Gingiva. *J Periodontol.* febrero de 2003;74(2):188-95.

40. Séguier S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is Collagen Breakdown During Periodontitis Linked to Inflammatory Cells and Expression of Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Human Gingival Tissue? *J Periodontol.* octubre de 2001;72(10):1398-406.
41. Hernández P, Mäntylä P, Tervahartiala T, Sorsa T, Hernández M. Análisis de MMPs en fluidos orales en el diagnóstico complementario de las enfermedades periodontales. *Rev Clínica Periodoncia Implantol Rehabil Oral.* diciembre de 2012;5(3):150-3.
42. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, et al. Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association? A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 18 de abril de 2012;CIR.0b013e31825719f3.
43. Carramolino-Cuéllar E, Tomás I, Jiménez-Soriano Y. Relationship between the oral cavity and cardiovascular diseases and metabolic syndrome. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal.* 13 de octubre de 2013;
44. Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H, et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res.* febrero de 2010;45(1):116-22.
45. Paraskevas S, Huizinga JD, Loos BG. A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *J Clin Periodontol.* abril de 2008;35(4):277-90.
46. Piñón P, Kaski JC. [Inflammation, atherosclerosis and cardiovascular disease risk: PAPP-A, Lp-PLA2 and cystatin C. New insights or redundant information?]. *Rev Esp Cardiol.* marzo de 2006;59(3):247-58.
47. Ramirez JH. ¿Es la enfermedad periodontal un factor de riesgo cardiovascular? Revisión de la evidencia experimental y clínica. *Rev Estomatol Salud [Internet].* 1 de septiembre de 2005 [citado 8 de noviembre de 2013];13(2).

48. Kamil W, Al Habashneh R, Khader Y, Al Bayati L, Taani D. Effects of nonsurgical periodontal therapy on C-reactive protein and serum lipids in Jordanian adults with advanced periodontitis. *J Periodontal Res.* octubre de 2011;46(5):616-21.
49. García-Sabina A, Gulín-Dávila J, Sempere-Serrano P, González-Juanatey C, Martínez-Pacheco R. Consideraciones específicas en la prescripción e intercambio terapéutico de estatinas. *Farm Hosp.* marzo de 2012;36(2):97-108.
50. Carrascosa CF, Galán AM, Taix MF. Estatinas: eficacia, seguridad e indicaciones. *Inf Ter Sist Nac Salud.* 2004;28(4):89-100.
51. Horiuchi N, Maeda T. Statins and bone metabolism. *Oral Dis.* marzo de 2006;12(2):85-101.
52. Madrazo Ríos JM, Madrazo Machado AM. Papel de los lípidos y lipoproteínas en la aterogénesis. *Rev Cuba Med.* diciembre de 2005;44(5-6):0-0.
53. Delgado-Roche L, Martínez-Sánchez G. Nuevos enfoques sobre la función de las lipoproteínas plasmáticas en las enfermedades de origen aterotrombótico. *Rev Cuba Farm.* junio de 2010;44(2):245-58.
54. Molina MT, Vázquez CM, Ruiz Gutiérrez V. Metabolismo del colesterol. Su regulación a nivel hepático e intestinal. *Grasas Aceites [Internet].* 30 de agosto de 1991 [citado 29 de agosto de 2013];v.42(4).
55. Higuera EA, Rugeles MT, Montoya CJ. Actividad inmunomoduladora y anti-VIH de las estatinas. *Infectio [Internet].* 12 de septiembre de 2011 [citado 6 de mayo de 2013];15(2).
56. Díaz Rodríguez Á, Serrano Cumplido A, Fierro González D, Rodríguez Arroyo LA, García-Norro Herreros F-J, de Abajo Olea S, et al. Pitavastatina: una nueva alternativa en el tratamiento de la dislipemia. *Clínica E Investig En Arterioscler.* enero de 2012;24(1):30-9.
57. Arguedas Quesada JA. Actualización en farmacoterapia: la farmacología de las estatinas. Primera parte. *Rev Costarric Cardiol.* abril de 2002;4(1):13-21.

58. Galán Martínez L. Estatinas, una nueva opción terapéutica en diversos tipos de enfermedades. *Rev Cuba Farm.* 2009;43(4):102-13.
59. Paumelle R, Blanquart C, Briand O, Barbier O, Duhem C, Woerly G, et al. Acute Antiinflammatory Properties of Statins Involve Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  via Inhibition of the Protein Kinase C Signaling Pathway. *Circ Res.* 17 de febrero de 2006;98(3):361-9.
60. Nachtigal P, Kopecky M, Solichova D, Zdansky P, Semecky V. The changes in the endothelial expression of cell adhesion molecules and iNOS in the vessel wall after the short-term administration of simvastatin in rabbit model of atherosclerosis. *J Pharm Pharmacol.* febrero de 2005;57(2):197-203.
61. Niwa S, Totsuka T, Hayashi S. Inhibitory effect of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on the expression of adhesion molecules on human monocyte cell line. *Int J Immunopharmacol.* noviembre de 1996;18(11):669-75.
62. Takeuchi S, Kawashima S, Rikitake Y, Ueyama T, Inoue N, Hirata K, et al. Cerivastatin suppresses lipopolysaccharide-induced ICAM-1 expression through inhibition of Rho GTPase in BAEC. *Biochem Biophys Res Commun.* 5 de marzo de 2000;269(1):97-102.
63. Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H. Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis.* mayo de 2002;162(1):179-85.
64. Saxlin T, Suominen-Taipale L, Knuutila M, Alha P, Ylöstalo P. Dual effect of statin medication on the periodontium. *J Clin Periodontol.* diciembre de 2009;36(12):997-1003.
65. Blanco-Colio LM, Tuñón J, Martín-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int.* enero de 2003;63(1):12-23.
66. Hernández-Presa MA, Martín-Ventura JL, Ortego M, Gómez-Hernández A, Tuñón J, Hernández-Vargas P, et al. Atorvastatin reduces the expression of cyclooxygenase-2 in a rabbit model of atherosclerosis and in cultured vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* enero de 2002;160(1):49-58.



67. Camila Fernandez Benito. Estres oxidativo de polimorfonucleares neutrófilos en presencia de cobre:Estudio experimental in vitro. Universidad de los Andes; 2012.
68. Merx MW, Liehn EA, Graf J, Sandt A van de, Schaltenbrand M, Schrader J, et al. Statin Treatment After Onset of Sepsis in a Murine Model Improves Survival. *Circulation*. 7 de mayo de 2005;112(1):117-24.
69. Niessner A, Steiner S, Speidl WS, Pleiner J, Seidinger D, Maurer G, et al. Simvastatin suppresses endotoxin-induced upregulation of toll-like receptors 4 and 2 in vivo. *Atherosclerosis*. diciembre de 2006;189(2):408-13.
70. Hackam DG, Mamdani M, Li P, Redelmeier DA. Statins and sepsis in patients with cardiovascular disease: a population-based cohort analysis. *Lancet*. 4 de febrero de 2006;367(9508):413-8.
71. Almog Y, Shefer A, Novack V, Maimon N, Barski L, Eizinger M, et al. Prior statin therapy is associated with a decreased rate of severe sepsis. *Circulation*. 17 de agosto de 2004;110(7):880-5.
72. Kruger P, Fitzsimmons K, Cook D, Jones M, Nimmo G. Statin therapy is associated with fewer deaths in patients with bacteraemia. *Intensive Care Med*. enero de 2006;32(1):75-9.
73. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*. 3 de diciembre de 1999;286(5446):1946-9.
74. Sugiyama M, Kodama T, Konishi K, Abe K, Asami S, Oikawa S. Compactin and Simvastatin, but Not Pravastatin, Induce Bone Morphogenetic Protein-2 in Human Osteosarcoma Cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 19 de mayo de 2000;271(3):688-92.
75. Maeda T, Matsunuma A, Kawane T, Horiuchi N. Simvastatin Promotes Osteoblast Differentiation and Mineralization in MC3T3-E1 Cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 26 de enero de 2001;280(3):874-7.

76. Maeda T, Matsunuma A, Kurahashi I, Yanagawa T, Yoshida H, Horiuchi N. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *J Cell Biochem.* 2004;92(3):458-71.
77. Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. Statins Augment Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Osteoblastic Cells via Inhibition of Protein Prenylation. *Endocrinology.* 2 de enero de 2003;144(2):681-92.
78. Staal A, Frith JC, French MH, Swartz J, GÜngör T, Harrity TW, et al. The Ability of Statins to Inhibit Bone Resorption Is Directly Related to Their Inhibitory Effect on HMG-CoA Reductase Activity. *J Bone Miner Res.* 2003;18(1):88-96.
79. Ayukawa Y, Okamura A, Koyano K. Simvastatin promotes osteogenesis around titanium implants. A histological and histometrical study in rats. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15(3):346-50.
80. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current Perspectives on Statins. *Circulation.* 18 de enero de 2000;101(2):207-13.
81. Prieto D JC. El perfil de seguridad de las estatinas. *Rev Médica Chile.* noviembre de 2001;129(11):1237-40.
82. Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin J-P. Simvastatin promotes cell metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells. *J Periodontol.* febrero de 2005;76(2):295-302.
83. Stein SH, Dean IN, Rawal SY, Tipton DA. Statins regulate interleukin-1 $\beta$ -induced RANKL and osteoprotegerin production by human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* agosto de 2011;46(4):483-90.
84. Vaziri H, Naserhojjati-Roodsari R, Tahsili-Fahadan N, Khojasteh A, Mashhadi-Abbas F, Eslami B, et al. Effect of simvastatin administration on periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *J Periodontol.* agosto de 2007;78(8):1561-7.

85. Wu Z, Liu C, Zang G, Sun H. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg*. febrero de 2008;37(2):170-6.
86. Seto H, Ohba H, Tokunaga K, Hama H, Horibe M, Nagata T. Topical administration of simvastatin recovers alveolar bone loss in rats. *J Periodontal Res*. junio de 2008;43(3):261-7.
87. Morris MS, Lee Y, Lavin MT, Giannini PJ, Schmid MJ, Marx DB, et al. Injectable simvastatin in periodontal defects and alveolar ridges: pilot studies. *J Periodontol*. agosto de 2008;79(8):1465-73.
88. Goes P, Lima AP, Melo IM, Rêgo RO, Lima V. Effect of Atorvastatin in radiographic density on alveolar bone loss in wistar rats. *Braz Dent J*. 2010;21:193-8.
89. Chen S, Yang J-Y, Zhang S-Y, Feng L, Ren J. Effects of simvastatin gel on bone regeneration in alveolar defects in miniature pigs. *Chin Med J (Engl)*. diciembre de 2011;124(23):3953-8.
90. Jin J, Zhang X, Lu Z, Li Y, Lopes-Virella MF, Yu H, et al. Simvastatin inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and reduces alveolar bone loss in experimental periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2013;n/a-n/a.
91. De Araujo RF, Souza TO, de Moura LM, Torres KP, de Souza LB, Alves M do SCF, et al. Atorvastatin Decreases Bone Loss, Inflammation and Oxidative Stress in Experimental Periodontitis. *PLoS ONE* [Internet]. 10 de octubre de 2013 [citado 8 de noviembre de 2013];8(10).
92. Cunha-Cruz J, Saver B, Maupome G, Hujoel PP. Statin Use and Tooth Loss in Chronic Periodontitis Patients. *J Periodontol*. junio de 2006;77(6):1061-6.
93. Saver BG, Hujoel PP, Cunha-Cruz J, Maupomé G. Are statins associated with decreased tooth loss in chronic periodontitis? *J Clin Periodontol*. marzo de 2007;34(3):214-9.

94. Fajardo ME, Rocha ML, Sánchez-Marin FJ, Espinosa-Chávez EJ. Effect of atorvastatin on chronic periodontitis: a randomized pilot study. *J Clin Periodontol*. noviembre de 2010;37(11):1016-22.
95. Suresh S, Narayana S, Jayakumar P, Sudhakar U, Pramod V. Evaluation of anti-inflammatory effect of statins in chronic periodontitis. *Indian J Pharmacol*. 2013;45(4):391-4.
96. Rath Avita, Mahendra J, Thomas L, Sandhu Manmeet, Namasi A, T R. A Clinical, radiological and IL-6 evaluation of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of chronic periodontitis. *Int J Drug Deliv*. 12 de septiembre de 2012;4(1):70-81.
97. Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. Clinical Efficacy of Subgingivally Delivered 1.2% Atorvastatin in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol*. 2 de octubre de 2012;
98. Pradeep AR, Priyanka N, Kalra N, Naik SB, Singh SP, Martande S. Clinical Efficacy of Subgingivally Delivered 1.2-mg Simvastatin in the Treatment of Individuals With Class II Furcation Defects: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol*. diciembre de 2012;83(12):1472-9.
99. Fentoğlu Ö, Sözen T, Öz S, Kale B, Sönmez Y, Öztürk Tonguç M, et al. Short-term effects of periodontal therapy as an adjunct to anti-lipemic treatment. *Oral Dis*. 2010;16(7):648-54.
100. Meisel P, Kohlmann T, Wallaschofski H, Kroemer HK, Kocher T. Cholesterol, C-Reactive Protein, and Periodontitis: HMG-CoA-Reductase Inhibitors (Statins) as Effect Modifiers. *ISRN Dent*. 2011;2011:1-7.
101. Fentoğlu Ö, Kırzioğlu F, Özdem M, Koçak H, Sütçü R, Sert T. Proinflammatory cytokine levels in hyperlipidemic patients with periodontitis after periodontal treatment. *Oral Dis*. 2012;18(3):299-306.
102. Sangwan A, Tewari S, Singh H, Sharma RK, Narula SC. Periodontal Status and Hyperlipidemia: Statin Users Versus Non-Users. *J Periodontol*. enero de 2013;84(1):3-12.

103. Pradeep AR, Rao NS, Bajaj P, Kumari M. Efficacy of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized double-masked controlled clinical trial. *J Periodontol.* enero de 2013;84(1):24-31.
104. Rao N, Pradeep A, Bajaj P, Kumari M, Naik S. Simvastatin local drug delivery in smokers with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Aust Dent J.* 2013;58(2):156-62.
105. Elavarasu S, Suthanthiran TK, Naveen D. Statins: A new era in local drug delivery. *J Pharm Bioallied Sci.* agosto de 2012;4(Suppl 2):S248-S251.
106. Achong R, Nishimura I, Ramachandran H, Howell TH, Fiorellini JP, Karimbux NY. Membrane Type (MT)1-Matrix Metalloproteinase (MMP) and MMP-2 Expression in Ligature-Induced Periodontitis in the Rat. *J Periodontol.* abril de 2003;74(4):494-500.
107. Bergström J, Preber H. Tobacco use as a risk factor. *J Periodontol.* mayo de 1994;65(5 Suppl):545-50.
108. Offenbacher S, Barros S, Mendoza L, Mauriello S, Preisser J, Moss K, et al. Changes in gingival crevicular fluid inflammatory mediator levels during the induction and resolution of experimental gingivitis in humans. *J Clin Periodontol.* abril de 2010;37(4):324-33.
109. Bracht L, Caparroz-Assef SM, Magon TF dos S, Ritter AMV, Cuman RKN, Bersani-Amado CA. Topical anti-inflammatory effect of hypocholesterolaemic drugs. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(7):971-5.
110. Gilding DK, Reed AM. Biodegradable polymers for use in surgery—polyglycolic/poly(lactic acid) homo- and copolymers: 1. *Polymer.* diciembre de 1979;20(12):1459-64.
111. Subramanian S, Emami H, Vucic E, Singh P, Vijayakumar J, Fifer KM, et al. High Dose Atorvastatin Reduces Periodontal Inflammation: A Novel Pleiotropic Effect of Statins. *J Am Coll Cardiol [Internet].* [citado 8 de noviembre de 2013];

112. Nibali L, D'Aiuto F, Griffiths G, Patel K, Suvan J, Tonetti MS. Severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case-control study. *J Clin Periodontol*. noviembre de 2007;34(11):931-7.
113. Stapleton PA, Goodwill AG, James ME, Brock RW, Frisbee JC. Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies. *J Inflamm Lond Engl*. 2010;7:54.
114. Thomas CE, Jackson RL, Ohlweiler DF, Ku G. Multiple lipid oxidation products in low density lipoproteins induce interleukin-1 beta release from human blood mononuclear cells. *J Lipid Res*. marzo de 1994;35(3):417-27.
115. Alvear FE, Vélez ME, Botero L. Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. *Rev Fac Odontol Univ Antioquia [Internet]*. 2 de diciembre de 2010 [citado 6 de noviembre de 2013];22(1).

**A**NEXOS

## 11. ANEXOS

### 11.1. ANEXO I. Aprobación de la Comisión Académica de Doctorado.



**Sr. David Rosenberg MESSINA**

Benvolgut Sr.

Per la present, li comunico que la Comissió Acadèmica del Doctorat en odontologia, en la seva sessió del **23 de novembre del 2012**, i un cop estudiada la seva sol·licitud ha acordat:

S'acorda admetre al Sr. David Rosenberg Messina al Període de Recerca del Doctorat en Odontologia.

S'acorda aprovar el Projecte de Tesi titulat "Asociación entre consumo de estatinas y estado periodontal: estudio de cohorte" i nomenar el Dr. José Nart i la Dra. Deborah Violant com a Directors de la Tesi.

Adicionalment, s'informa que la normativa de la UIC estableix que cal obtenir una avaluació favorable del Comitè d'Ètica en la Recerca, abans de la posada en marxa de la investigació. Haurà d'aportar aquest informe quan l'obtingui.

Aprofito l'avinentesa per saludar-la cordialment,



Dra Montserrat Mercadé i Bellido  
Coordinadora Comissió Acadèmica de Doctorat en Odontologia  
Facultat d'Odontologia

Sant Cugat del Vallès, 23 de novembre del 2012



## 11.2. ANEXO II. CER proyecto de tesis.



### CARTA DE CONFORMITAT DEL CER PER A PROJECTES AVALUATS I APROVATS PER UN CEIC

Codi de l'estudi: PER-ECL-2012-07

Versió del protocol: 1.0

Data de la versió: 17/12/12

Títol: "Asociación entre consumo de estatinas y estado periodontal: estudio de cohorte"

Sant Cugat del Vallès, 15 de gener de 2013

**Investigador:** David Rosenberg Messina

**Títol de l'estudi:** "Asociación entre consumo de estatinas y estado periodontal: estudio de cohorte"

Benvolgut (da),

Valorat el projecte presentat, el CER de la Universitat Internacional de Catalunya, considera que, des del punt de vista ètic, reuneix els criteris exigits per aquesta institució i, per tant, ratifica l'aprovació dels CEICs aportada, d'acord amb el reglament vigent.

Em permeto recordar-li que si en el procés d'execució es produís algun canvi significatiu en els seus plantejaments, hauria de ser sotmès novament a la revisió i aprovació del CER.

Quedo a disposició per a qualsevol dubte o aclaració al respecte.

Atentament,



*Dr. Josep Argemí*  
**President CER-UIC**

### 11.3. ANEXO III. Descripción de la patente y registro de la PCT.

#### **DESCRIPCIÓN:**

**Título de la invención:** Use of statins for periodontal disease and bone regeneration.

**Nombre del inventor:** David Rosenberg Messina

**Oficina de registro de patentes:** International Bureau of the World Intellectual Property Organization (RO/IB).

**Archivo de Referencia:** P81431562013

**Registro de PCT:** PCT/IB2013/056791

**Fecha de prioridad:** 22 de Agosto de 2012.

#### **Solicitudes de patente en Fase Nacional para CHILE:**

Solicitud N° 0160-2015

Fecha Presentación: 22 de enero de 2015

#### **Solicitudes de patente en Fase Nacional para ESTADOS UNIDOS:**

U.S. Patent Application Serial No. 14/417,106

Filed: January 23, 2015

#### **Solicitudes de patente en Fase Regional para EUROPA:**

Solicitud N° 13 830 936.4

Filed: February 18, 2015

The present invention discloses topical compositions comprising at least one statin as the main active compound for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration. The topical compositions are formulated for example, but not limited to, as toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, dental floss, gel for being applied in dental trays, concentrated gel for irrigation of periodontal pockets, fluid (for example in blisters), powder, powder or liquid for preparing a solution, and gel. The present invention also discloses method for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration, comprising administering the topical compositions in the different formulations to a subject in need thereof.

#### TECHNICAL FIELD

The present invention is related to the use of topical compositions comprising statins as the main active compound in different formulations for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration.

#### SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention discloses topical compositions comprising at least one statin as the main active compound for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease, wounds and ulcers of the mouth, and for bone regeneration.

The topical compositions for primary prevention or treatment of periodontal disease, and ulcers and wounds of the mouth, are formulated for example, but not limited to, as toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, and dental floss.

The topical compositions for complementing standard treatment of periodontal disease are formulated for example, but not limited to, as gel for being applied in dental trays, and concentrated gel for irrigation of periodontal pockets.

The topical compositions for bone regeneration are formulated for example, but not limited to, fluid (for example in blisters), powder, powder or liquid for preparing a solution, and gel.

The present invention also discloses method for primary prevention or treatment of periodontal disease, treatment of ulcers and wounds of the mouth, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration, comprising administering the topical compositions in the different formulations to a subject in need thereof.

#### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The present invention discloses topical compositions comprising statins as the main active compound for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration.

In one embodiment, topical compositions of the present invention comprise at least one statin selected among, but not limited to: lovastatin, pravastatin, simvastatin, fluvastatin, cerivastatin, and atorvastatin or pharmaceutical acceptable salts thereof. Topical compositions of the present invention can also comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, vehicles, additives, excipients, solvents, adjuvants, dyes, flavourings, sweetenings, binders, emollients, fillers, lubricants, preservatives, diluents, thickeners, salts for influencing osmotic pressure, buffers, disintegrants, glidants, wettings, humectants, abrasive agents, surfactants, therapeutic agents (such as anticavities, antiplaque, agents for reducing hypersensitivity, and bleaching agents), or combinations thereof.

In a preferred embodiment, the topical compositions of the present invention are used for primary prevention or for treatment of human or animal periodontal disease. In one embodiment, the topical compositions of the present invention for primary prevention or treatment of periodontal disease are formulated for example, but not limited, as

toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, and dental floss with at least one statin as the main active agent. In another embodiment, when the topical compositions of the present invention are used for primary prevention or for treatment of animal periodontal disease, the topical compositions can also be incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

In another preferred embodiment, the topical compositions of the present invention are used as complement for the standard treatment of human or animal periodontal disease. In one embodiment, the topical compositions of the present invention used as complement for the standard treatment of periodontal disease are formulated for example but not limited, as concentrated gel for being applied in dental trays and as concentrated gel for irrigation of periodontal pockets with at least one statin as the main active agent. In another embodiment, when the topical compositions of the present invention are used as complement for the standard treatment of animal periodontal disease, the topical compositions can also be incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

In another preferred embodiment, the topical compositions of the present invention are used in human or animal bone regeneration, for example, but not limited, as a concentrated composition with at least one statin as the main active agent, formulated as fluid (for example in blisters), as powder, as powder or liquid for preparing a solution, and as gel. All this formulations are intended for direct application in bone defects or for application through a vehicle with graft materials, membranes and endo-osseous dental implants. In one embodiment the compositions are used for dental bone defects for example, but not limited, from trauma, tumor lesions, cysts, malformations. In another embodiment, the compositions are used in traumatology, for example, but not limited, for surgery for hip implants, osteosynthesis of fractures, spinal surgery (grafts, and fixation in vertebrae, etc.). In another embodiment, when the topical compositions of the present

invention are used in animal bone regeneration, the topical compositions can also be incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

Providing methods for primary prevention or treatment of human or animal periodontal disease is also an objective of the present invention. The method for primary prevention or for treatment of human or animal periodontal disease comprises administering a topical composition selected from, but not limited to, toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, and dental floss with at least one statin as the main active agent to a subject in need thereof. In another embodiment, when the method for primary prevention or for treatment is for animal periodontal disease, then the method can also comprises administering a topical composition incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

Providing methods for complementing the standard treatment of human or animal periodontal disease is also an objective of the present invention. The method for complementing the standard treatment of human or animal periodontal disease comprises administering a topical composition selected from, but not limited to, concentrated gel for being applied in dental trays and as concentrated gel for irrigation of periodontal pockets with at least one statin as the main active agent to a subject in need thereof. In another embodiment, when the method for complementing the standard treatment is for animal periodontal disease, then the method can also comprises administering a topical composition incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

Providing methods for human or animal bone regeneration is also an objective of the present invention. The method for human or animal bone regeneration comprises administering a topical composition selected from, but not limited to fluid (for example in blisters), as powder, as powder or liquid for preparing a solution, and as gel with at least one statin as the main active agent to a subject in need thereof. In another embodiment, when the method is for animal bone regeneration, then the method can also comprises administering a topical composition incorporated for example, but not limited to, into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed, such as, for example, but not limited to, cookies and pellet. In a preferred embodiment, the animals are dogs and cats.

## INDUSTRIAL APPLICABILITY

The present invention is related to the use of compositions comprising statins as the main active compound in different formulations, applicable in dentistry and medicine, particularly for primary prevention or treatment of periodontal disease, for complementing standard treatment of periodontal disease and for bone regeneration.

## CLAIMS

1. A topical composition for primary prevention or treatment of human or animal periodontal disease, oral lesions and mucosal wounds, wherein the composition comprise at least one statin.
2. A topical composition for primary prevention or treatment according to claim 1, wherein the at least one statin is selected among lovastatin, pravastatin, simvastatin, fluvastatin, cerivastatin, and atorvastatin or pharmaceutical acceptable salts thereof.
3. A topical composition for primary prevention or treatment according to claim 2, wherein the composition can also comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, vehicles, additives, excipients, solvents, adjuvants, dyes, flavourings, sweetenings, binders, emollients, fillers, lubricants, preservatives, diluents, thickeners, salts for influencing osmotic pressure, buffers, disintegrants, glidants, wettings, humectants, abrasive agents, surfactants, therapeutic agents (such as anticavities, antiplaque, agents for reducing hypersensitivity, and bleaching agents), or combinations thereof.

4. A topical composition for primary prevention or treatment according to claim 3, wherein the composition is formulated as toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, and dental floss with at least one statin as the main active agent.
5. A topical composition for primary prevention or treatment according to claim 4, wherein the composition is a toothpaste comprising 2% Atorvastatin.
6. A topical composition for primary prevention or treatment according to claim 2, wherein the composition can be incorporated into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed as cookies and pellet when the composition is used for treating animals.
7. A topical composition for complementing standard treatment of human or animal periodontal disease, wherein the composition comprise at least one statin.
8. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 7, wherein the at least one statin is selected among lovastatin, pravastatin, simvastatin, fluvastatin, cerivastatin, and atorvastatin or pharmaceutical acceptable salts thereof.
9. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 8, wherein the composition can also comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, vehicles, additives, excipients, solvents, adjuvants, dyes, flavourings, sweetenings, binders, emollients, fillers, lubricants, preservatives, diluents, thickeners, salts for influencing osmotic pressure, buffers, disintegrants, glidants, wetting agents, humectants, abrasive agents, surfactants, therapeutic agents (such as anticavities, antiplaque, agents for reducing hypersensitivity, and bleaching agents), or combinations thereof.
10. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 9, wherein the composition is formulated as toothpaste, mouthwash, tablets to dissolve in the mouth, elements or devices for intraoral slow-release of statins, and dental floss with at least one statin as the main active agent.
11. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 10, wherein the composition is a toothpaste comprising 2% Atorvastatin.
12. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 8, wherein the composition is formulated concentrated gel for being applied in dental trays and as concentrated gel for irrigation of periodontal pockets with at least one statin as the main active agent.



13. A topical composition for complementing standard treatment according to claim 7, wherein the composition can be incorporated into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed as cookies and pellet when the composition is used for treating animals.
14. A topical composition for human or animal bone regeneration, wherein the composition comprise at least one statin.
15. A topical composition for human or animal bone regeneration according to claim 14, wherein the at least one statin is selected among lovastatin, pravastatin, simvastatin, fluvastatin, cerivastatin, and atorvastatin or pharmaceutical acceptable salts thereof.
16. A topical composition for human or animal bone regeneration according to claim 15, wherein the compositions is formulated as a concentrated composition, as fluid, as powder, as powder or liquid for preparing a solution, as gel, intended for direct application in bone defects or for application through a vehicle with graft materials, membranes and endo-osseous dental implants.
17. A topical composition for human or animal bone regeneration according to claim 14, wherein the composition can be incorporated into beef, pork, lamb, chicken and/or turkey bones, cartilages or any substance the animal can chew, or into animal feed as cookies and pellet when the composition is used for treating animals.
18. A method for primary prevention or treatment of human or animal periodontal disease, wherein the method comprises administering the topical composition according to claim 1 to 6 to a subject in need thereof.
19. A method for complementing standard treatment of human or animal periodontal disease, wherein the method comprises administering the topical composition according to claim 7 to 13 to a subject in need thereof.
20. A method for human or animal bone regeneration, wherein the method comprises administering the topical composition according to claim 14 to 17 to a subject in need thereof.

P81431562013

1/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

<b>0</b>	<b>For receiving Office use only</b>	
<b>0-1</b>	International Application No.	
<b>0-2</b>	International Filing Date	
<b>0-3</b>	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
<b>0-4</b>	<b>Form PCT/RO/101 PCT Request</b>	
<b>0-4-1</b>	Prepared Using	<b>PCT-SAFE Version 3.51.059.235 MT/FOP 20130701/0.20.5.21</b>
<b>0-5</b>	<b>Petition</b> The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
<b>0-6</b>	<b>Receiving Office (specified by the applicant)</b>	<b>International Bureau of the World Intellectual Property Organization (RO/IB)</b>
<b>0-7</b>	<b>Applicant's or agent's file reference</b>	<b>P81431562013</b>
<b>I</b>	<b>Title of Invention</b>	<b>USE OF STATINS FOR PERIODONTAL DISEASE AND BONE REGENERATION</b>
<b>II</b>	<b>Applicant</b>	
<b>II-1</b>	This person is	<b>Applicant only</b>
<b>II-2</b>	Applicant for	<b>All designated States</b>
<b>II-4</b>	Name	<b>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</b>
<b>II-5</b>	Address	<b>San Carlos de Apoquindo 2200 Las Condes 7620001 Santiago Chile</b>
<b>II-6</b>	State of nationality	<b>CL</b>
<b>II-7</b>	State of residence	<b>CL</b>
<b>II-10</b>	e-mail	<b>clarazucchino@gmail.com</b>
<b>II-10(a)</b>	E-mail authorization The receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority are authorized to use this e-mail address, if the Office or Authority so wishes, to send notifications issued in respect of this international application:	<b>exclusively in electronic form (no paper notifications will be sent)</b>

P81431562013

2/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

<b>III-1</b>	<b>Applicant and/or inventor</b>	
III-1-1	This person is	<b>Inventor only</b>
III-1-3	Inventor for	
III-1-4	Name (LAST, First)	<b>ROSENBERG MESSINA, David Rafael</b>
III-1-5	Address	<b>Camino Otoñal 1382, Casa D Las Condes 7591296 Santiago Chile</b>
<b>IV-1</b>	<b>Agent or common representative; or address for correspondence</b>	
	The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	<b>Agent</b>
IV-1-1	Name	<b>MORALES Y BESA LTDA</b>
IV-1-2	Address	<b>Av. Isidora Goyenechea 3477 Piso 19, Las Condes 7550106 Santiago Chile</b>
IV-1-3	Telephone No.	<b>+56 2 24727038</b>
IV-1-4	Facsimile No.	<b>+56 2 24727001</b>
IV-1-5	e-mail	<b>bribbeck@moralesybesa.cl</b>
IV-1-5(a)	E-mail authorization ) The receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority are authorized to use this e-mail address, if the Office or Authority so wishes, to send notifications issued in respect of this international application:	<b>as advance copies followed by paper notifications</b>
<b>IV-2</b>	<b>Additional agent(s)</b>	
IV-2-1	Name(s)	<b>additional agent(s) with same address as first named agent RIBBECK, Bárbara; MOLINA JALIL, José Antonio</b>
<b>V</b>	<b>DESIGNATIONS</b>	
<b>V-1</b>	<b>The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.</b>	
<b>VI-1</b>	<b>Priority claim of earlier national application</b>	
VI-1-1	Filing date	<b>22 August 2012 (22.08.2012)</b>
VI-1-2	Number	<b>61/692,087</b>
VI-1-3	Country	<b>US</b>

P81431562013

3/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

<b>VI-2</b>	<b>Priority document request</b> The International Bureau is requested to obtain from a digital library a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s), using, where applicable, the access code(s) indicated:	<b>VI-1 Access code:</b>	
<b>VI-3</b>	<b>Incorporation by reference :</b> where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.		
<b>VII-1</b>	<b>International Searching Authority Chosen</b>	<b>United States Patent and Trademark Office (USPTO) (ISA/US)</b>	
<b>VIII</b>	<b>Declarations</b>	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	1	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	1	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	1	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	1	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	

P81431562013

4/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-1-1	<b>Declaration: Identity of the Inventor</b> Declaration as to the identity of the inventor (Rules 4.17(i) and 51bis.1(a)(i))	<b>In relation to this international application</b>
	Name (LAST, First) Address	<b>ROSENBERG MESSINA, David Rafael of          Camino Otoñal 1382, Casa D Las Condes          7591296          Chile          is the inventor of the subject matter          for which protection is sought by way of          this international application</b>

P81431562013

5/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-2-1	<p><b>Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent</b>          Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:          Name (LAST, First)</p>	<p><b>In relation to this international application</b></p> <p><b>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:</b></p>
VIII-2-1(i v)		<p><b>an assignment from ROSENBERG MESSINA, David Rafael to UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, dated 20 August 2012 (20.08.2012)</b></p>

P81431562013

6/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-3-1	<p><b>Declaration: Entitlement to claim priority</b>          Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii))          Name</p>	<p><b>In relation to this international application</b></p> <p><b>UNIVERSIDAD DE LOS ANDES</b>  <b>is entitled to claim priority of earlier application No. 61/692,087 by virtue of the following:</b></p>
VIII-3-1(i v)		<p><b>an assignment from ROSENBERG MESSINA, David Rafael to UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, dated 20 August 2012 (20.08.2012)</b></p>

P81431562013

7/8

PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

VIII-4-1	<p><b>Declaration: Inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)</b>          Declaration of Inventorship (Rules 4.17(iv) and 51bis.1(a)(iv)) for the purposes of the designation of the United States of America:</p>	<p>I hereby declare that I believe I am the original inventor or an original joint inventor of a claimed invention in the application.</p> <p>This declaration is directed to the international application of which it forms a part.</p> <p>I hereby declare that the above-identified international application was made or authorized to be made by me.</p> <p>I hereby acknowledge that any willful false statement made in this declaration is punishable under 18 U.S.C. 1001 by fine or imprisonment of not more than five (5) years, or both.</p>
VIII-4-1-1-1	Name (LAST, First)	ROSENBERG MESSINA, David Rafael
VIII-4-1-1-2	Residence: (city and either US state, if applicable, or country)	Santiago, Chile
VIII-4-1-1-3	Mailing Address:	Camino Otoñal 1382, Casa D Las Condes 7591296 Santiago Chile
VIII-4-1-1-4	Inventor's Signature: (The signature must be that of the inventor, not that of the agent)	/David Rosenberg/
VIII-4-1-1-5	Date:	21 August 2013 (21.08.2013)



P81431562013

8/8

**PCT REQUEST**

Print Out (Original in Electronic Form)

<b>IX</b>	<b>Check list</b>	<b>Number of sheets</b>	<b>Electronic file(s) attached</b>
IX-1	Request (including declaration sheets)	<b>8</b>	✓
IX-2	Description	<b>30</b>	✓
IX-3	Claims	<b>3</b>	✓
IX-4	Abstract	<b>1</b>	✓
IX-5	Drawings	<b>1</b>	✓
IX-7	TOTAL	<b>43</b>	
	<b>Accompanying Items</b>	<b>Paper document(s) attached</b>	<b>Electronic file(s) attached</b>
IX-8	Fee calculation sheet	-	✓
IX-9	Original separate power of attorney	-	✓
IX-18	PCT-SAFE physical media	-	-
IX-20	Figure of the drawings which should accompany the abstract	<b>1</b>	
IX-21	Language of filing of the international application	<b>English</b>	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative	<b>(PKCS7 Digital Signature)</b>	
X-1-1	Name (LAST, First)	<b>RIBBECK, Bárbara</b>	
X-1-2	Name of signatory		
X-1-3	Capacity (if such capacity is not obvious from reading the request)		

**FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY**

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	<b>ISA/US</b>
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

**FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY**

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

11.4. ANEXO IV. Publicación de Ensayo Clínico en clinical trials.gov (NIH, USA).

Short-term Effect of 2% Atorvastatin Dentifrice in Periodontal Status. - Full Text View - ClinicalTrials.gov

19-04-17 20:37

ClinicalTrials.gov

Try our beta test site

**IMPORTANT:** Listing of a study on this site does not reflect endorsement by the National Institutes of Health. Talk with a trusted healthcare professional before volunteering for a study. [Read more...](#)

Trial record 2 of 15 for: "statins" AND "periodontitis"

[Previous Study](#) | [Return to List](#) | [Next Study](#)

Short-term Effect of 2% Atorvastatin Dentifrice in Periodontal Status.

**This study has been completed.**

**Sponsor:**  
Universidad Los Andes, Chile

**Collaborator:**  
Corporación de Fomento de la Producción, Chile

**Information provided by (Responsible Party):**  
Dr. David Rosenberg, Universidad Los Andes

**ClinicalTrials.gov Identifier:**  
NCT01929135

First received: August 18, 2013  
Last updated: July 25, 2014  
Last verified: July 2014  
[History of Changes](#)

[Full Text View](#) | [Tabular View](#) | [Study Results](#) | [Disclaimer](#) | [How to Read a Study Record](#)

**Purpose**

Periodontal disease (PD) is an inflammatory, infectious and destructive condition of the tissues surrounding the teeth. However, even if bacteria are required to initiate periodontal disease, the immune response is responsible for most of the destruction of the periodontal tissues. **Statins** may be used to control the immune response to periodontal pathogens, a factor that has not yet been managed clinically and even less massively.

Recently it has been reported the pharmacological effectiveness of topically used **statins**. For periodontal disease, at least four well conducted clinical trials have been published using a topically **statin** formula for pocket irrigation in adult populations with chronic periodontal disease, observing surprising clinical results in all of them (with clinical and statistical significance) and no adverse reactions.

The purpose of the present study is assess the effectiveness of a medicated 2% atorvastatin dentifrice, as complement to non-surgical conventional periodontal treatment. Clinical examination will be made at the beginning and after one month of treatment.

<a href="#">Condition</a>	<a href="#">Intervention</a>	<a href="#">Phase</a>
Chronic <b>Periodontitis</b>	Drug: Medicated 2% atorvastatin dentifrice Drug: Non-medicated dentifrice	Phase 2

Study Type: Interventional  
Study Design: Allocation: Randomized  
Intervention Model: Parallel Assignment  
Masking: Double Blind (Participant, Investigator)  
Primary Purpose: Treatment

Official Title: Short-term Effect of 2% Atorvastatin Dentifrice as an Adjunct to Periodontal Therapy: A Randomized Double-blind Clinical Trial.

**Resource links provided by NLM:**

[Drug Information](#) available for: [Atorvastatin](#) [Atorvastatin calcium](#) [Atorvastatin calcium trihydrate](#)

[U.S. FDA Resources](#)

**Further study details as provided by Universidad Los Andes, Chile:**

**Primary Outcome Measures:**

- Change in Periodontal Inflammation Surface Area (PISA) [ Time Frame: baseline and 1 month later of intervention ]  
PISA will be computed through an Excel spreadsheet, using data of clinical attachment level, gingival recession and bleeding on probing.  
Change in PISA: baseline measure minus 1 month later measure.

**Secondary Outcome Measures:**

- Change in Mean Pocket Depth (PD) [ Time Frame: baseline and 1 month later ]  
The PD will be defined as the distance from the free gingival margin to the bottom of the pocket. For each tooth will be conducted periodontal probing at 6 sites (mesiobuccal, mediobuccal, distobuccal, mesiolingual / palatal, mediolingual / palatal, distolingual/ palatal). Change in mean PD: baseline measure minus 1 month later measure.
- Change in Clinical Attachment Level (CAL) [ Time Frame: baseline and 1 month after intervention ]  
The Clinical Attachment Level (CAL) is defined as the distance from the cement-enamel junction to the fornix of the pocket. For each tooth will be performed periodontal probing at 6 sites (mesiobuccal, mediobuccal, distobuccal mesiolingual / palatal mediolingual / distolingual palatal / lingual). Change in CAL: baseline measure minus 1 month later measure.
- Change in Bleeding on Probing Index (BOP) [ Time Frame: baseline and 1 month after intervention ]  
The bleeding on probing index (BOP) will be determined by assigning + to the presence of bleeding on vestibular / palatine probing of the tooth examined and with a sign - the absence. Later the + signs will be summed and divided by the number of sites examined. Change in BOP: baseline measure minus 1 month later measure.
- Change in Gingival Index [ Time Frame: baseline and 1 month after intervention ]  
Determined as score assigned to each site evaluated respect to clinical criteria as followed: Score Criteria: 0. No inflammation
  - Mild inflammation, slight change in color, slight edema, no bleeding on probing.
  - Moderate inflammation, moderate glazing, redness, bleeding on probing.
  - Severe inflammation, marked redness and hypertrophy, ulceration, tendency to spontaneous bleeding.
 Then was calculated a score for each sextant summed the score and divided by the number of examined sites. Later was summed each sextant score and divided by sextant evaluated. The change was calculated as baseline measure minus 1 month later measure.

Enrollment: 38  
 Study Start Date: May 2013  
 Study Completion Date: June 2014  
 Primary Completion Date: January 2014 (Final data collection date for primary outcome measure)

<u>Arms</u>	<u>Assigned Interventions</u>
<b>Experimental: Medicated 2% atorvastatin dentifrice</b> A group of 19 patients received non surgical periodontal therapy accompanied by instruction for oral hygiene, using a medicated 2% atorvastatin dentifrice 2 times a day for two minutes each time, for 30 days.	<b>Drug: Medicated 2% atorvastatin dentifrice</b> Non surgical periodontal therapy accompanied by medicated 2% atorvastatin dentifrice (20 mg per ml) 2 times a day for two minutes each time, for 30 Other Name: medicated dentifrice with atorvastatin
<b>Placebo Comparator: Non-medicated dentifrice</b> A group of 19 patients received non surgical periodontal therapy accompanied by instruction for oral hygiene, using a non-medicated dentifrice as placebo 2 times a day for two minutes each time, for 30 days.	<b>Drug: Non-medicated dentifrice</b> Non surgical periodontal therapy accompanied by non medicated dentifrice 2 times a day for two minutes each time, for 30 days. Other Name: Placebo dentifrice

**Detailed Description:**

A medicated 2% atorvastatin dentifrice (2 mg x every 0.1 ml of dentifrice) will be prepared for dental brushing. It will be used as a base a fluoride dentifrice, to which will be added atorvastatin in the prescribed amount. Medicated prototypes and placebos will be dosed in 5 ml syringes indicating each 0.5 ml measures to facilitate dispensing the product and ensure proper use. Thus, each syringe will be for 10 doses of toothpaste (10 brushings). 6 syringes will be provided to each patient, so that they have enough for a month of treatment, during which they will have to brush 2 times a day.

Sample size:

A clinical trial with two parallel groups (1:1) will be conducted, where there will be 2 groups of 19 patients each. The estimated sample size was based on the difference in attachment level achieved in the study Goodson et al (Goodson, Haffajee, Socransky, Kent, Teles, Hasturk, Bogren, Van Dyke, Wennstrom, Lindhe. Control of periodontal infections: A randomized controlled trial I. The primary outcome attachment gain and pocket depth reduction at Treated sites. J Clin Periodontol 2012, 39: 526-536), with a power of 90%, a significance level of 0.05 two-tailed.

Treatments and protocols:

Patients will be treated at the Department of Periodontology of Health Care Center, Universidad de Los Andes in San Bernardo, Santiago, Chile.

The two groups will undergo non-surgical periodontal therapy consisting of scaling and root planning of all tooth groups.

Therapy will be supplemented with oral hygiene instruction, indicating patients to brush with the dentifrice that will be provided, 2 times a day for two minutes each time. Then they will be told to spit the dentifrice excesses during 30 seconds, but not to rinse their teeth, or consume liquids or solid foods for at least 30 minutes. A group of 19 patients will receive the medicated 2% atorvastatin dentifrice while the other group of 19 patients will receive dentifrice without the drug to act as a placebo.

The record of the application of statins will be done by a professor at the Faculty of Dentistry, before periodontal clinical evaluation, in order not to influence the researcher.

The allocation to each group will be random and there will be a sequence concealment.

Analysis Plan:

Continuous variables will be described by measures of central tendency and dispersion. Dichotomous variables will be tabulated and described by absolute frequencies and percentages according to each group. The delta of the outcome variables will be calculated as the difference between measurements before and after intervention. Multiple linear regression models will be used to compare the deltas of outcome variables after adjusting for gender, diabetes and tobacco use. A p value of <0.05 is considered statistically significant. The analysis will be performed with Stata software (version 12; Stata Corporation, Lakeway Drive, College Station, Texas, USA).

**Eligibility**

Ages Eligible for Study: 35 Years and older (Adult, Senior)  
Sexes Eligible for Study: All  
Accepts Healthy Volunteers: No

**Criteria**

Inclusion Criteria:

- Patients included in the study will be those fully agreeing to participate by signing an informed consent, which has been submitted to and approved, together with the study protocol by the Ethics Committee of the Faculty of Dentistry of Universidad de Los Andes.
- The target population consists of 38 adult patients who consult the Service of Periodontology at the Universidad de Los Andes.
- The eligible population are those that meet the following criteria:
  - a. more than 35 years of age.
  - b. with at least 14 natural teeth in mouth (excluding third molars).
  - c. have some degree of periodontal disease.

Exclusion Criteria:

- Will be excluded those who:
  - a. Relate migration plans.
  - b. Presence of limiting disease for the understanding and execution of the study or are hospitalized.
  - c. Received periodontal treatment in the last year.
  - d. Completed antibiotic therapy or Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) in the last two weeks.
  - e. Are using calcium channel blockers, phenytoin, cyclosporine or any associated drug that may affect gingival tissue.
  - f. Have autoimmune pathology.

- g. Require antibiotic prophylaxis for periodontal treatment.
- h. Patients requiring treatment with NSAIDs for postoperative pain control after the procedure done.
- i. Patients on statin therapy for dyslipidemia.
- j. Pregnant patients.

### ▶ Contacts and Locations

Choosing to participate in a study is an important personal decision. Talk with your doctor and family members or friends about deciding to join a study. To learn more about this study, you or your doctor may contact the study research staff using the Contacts provided below. For general information, see [Learn About Clinical Studies](#).

Please refer to this study by its ClinicalTrials.gov identifier: NCT01929135

#### Locations

##### Chile

- Centro de Salud Universidad de los Andes, San Bernardo  
Santiago, Región Metropolitana, Chile
- CIBRO Universidad de los Andes  
Santiago, Región Metropolitana, Chile

#### Sponsors and Collaborators

- Universidad Los Andes, Chile
- Corporación de Fomento de la Producción, Chile

#### Investigators

Principal Investigator: David R Rosenberg, DDS, MDS Universidad de los Andes

### ▶ More Information

Responsible Party: Dr. David Rosenberg, Associate Professor of the Faculty of Dentistry, Universidad Los Andes  
 ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT01929135](#) [History of Changes](#)  
 Other Study ID Numbers: CORFO-13IDL1-18270  
 Study First Received: August 18, 2013  
 Results First Received: May 23, 2014  
 Last Updated: July 25, 2014

Keywords provided by Universidad Los Andes, Chile:

Periodontal Disease  
 Chronic **Periodontitis**  
 Atorvastatin

**Statins**  
**Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A Reductase Inhibitors**  
 Dentifrice

Additional relevant MeSH terms:

Chronic **Periodontitis**  
**Periodontitis**  
**Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors**  
 Periodontal Diseases  
 Mouth Diseases  
 Stomatognathic Diseases  
 Atorvastatin Calcium

Anticholesteremic Agents  
 Hypolipidemic Agents  
 Antimetabolites  
 Molecular Mechanisms of Pharmacological Action  
 Lipid Regulating Agents  
 Enzyme Inhibitors

ClinicalTrials.gov processed this record on April 19, 2017

11.5. ANEXO V. Registro de recepción para revisión en Journal of Dental Research  
artículo: Association between the use of statins and periodontal status: A review.

Journal of Dental Research

Journal of  
Dental Research

**ASSOCIATION BETWEEN THE USE OF STATINS AND  
PERIODONTAL STATUS: A REVIEW**

Journal:	<i>Journal of Dental Research</i>
Manuscript ID	JDR-17-0449
Manuscript Type:	Clinical Review
Date Submitted by the Author:	26-Apr-2017
Complete List of Authors:	Rosenberg, David; Universidad de los Andes, Santiago, Chile, Department of Oral and Maxillofacial Surgery Vega, María Paz; Universidad de los Andes, Santiago, Chile, Department of Periodontology Chaparro, Alejandra; Universidad de los Andes, Biology and Regeneration Oral Center (CIBRO) Kernitsky, Jeremy; Universidad de los Andes, Santiago, Chile, Department of Periodontology Andrade, Catherine; Universidad de los Andes, Santiago, Chile, Department of Periodontology Violant, Déborah; Universitat Internacional de Catalunya, Department of Periodontology Nart, José; Universitat Internacional de Catalunya, Department of Periodontology
Keywords:	Periodontal disease(s)/periodontitis, Drug delivery, Systematic reviews and evidence-based medicine
Abstract:	Background: Statins are drugs used for the treatment of dyslipidemia. However, statins have multiple actions, including anti-inflammatory and immunomodulatory effects, as well as the ability to stimulate new bone formation. Such features could be beneficial for periodontal pathology therapy. Methods: A literature review was conducted using filtered electronic databases (Cochrane and Trip) and unfiltered databases (Medline/PubMed, Scielo and Google Scholar). The articles chosen were controlled and randomized clinical trials that performed local delivery of statins to humans and assessed the effects of immunomodulation and bone regeneration on periodontal disease between 2010 and 2016. All of the studies were blind or double-blind and were written in English. Results: The inclusion criteria were applied to a total of 79 identified articles, and 10 studies were ultimately chosen. The results show that an injected dose of statins or the local delivery of atorvastatin (ATV) leads to a significant improvement in clinical and radiographic periodontal parameters. Moreover, rosuvastatin (RSV) induced stronger beneficial effects when administered systemically, whereas ATV and simvastatin (SMV) had better results following topical delivery. Conclusions: Statins can affect periodontal status, increasing the gain in

<http://mc.manuscriptcentral.com/jdr>

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

	clinical attachment and decreasing gingival bleeding, probing depth and the magnitude of bone defects. For this reason, statins represent an excellent support measure for conventional periodontal therapy. Specifically, positive effects are seen for local delivery of statins as an adjunct treatment to scaling and root planing (SRP) at doses of 1.2 to 2%. Statins could be administered through topical delivery via direct injection in the periodontal pocket or by brushing with medicated dentifrices. More studies with appropriate designs should be conducted to evaluate the short- and long-term clinical benefits of statins in patients with periodontal pathology. These studies should determine the appropriate dose, timing, side effects and ideal vehicles for delivery.

SCHOLARONE™  
Manuscripts

For Peer Review

<http://mc.manuscriptcentral.com/jdr>

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**ASSOCIATION BETWEEN THE USE OF STATINS AND PERIODONTAL STATUS: A  
REVIEW**

David R. Rosenberg, MSc \*, María Paz Vega, DDS†, Alejandra Chaparro, MSc†, Jeremy R.  
Kernitsky, DDS †, Catherine X. Andrade, DDS †, Déborah Violant, PhD §; José Nart, PhD §

\*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, University of the Andes,  
Santiago, Chile

†Department of Periodontology, School of Dentistry, University of the Andes, Santiago, Chile

§Department of Periodontology, Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain

**Corresponding author:** Dr. David Rosenberg, Department of Oral and Maxillofacial Surgery,  
Faculty of Dentistry, Universidad de los Andes, Santiago, Chile; Av. Monseñor Álvaro del  
Portillo 12455, Las Condes - Santiago, Chile; Telephone: +56 9 75171583; Fax number: +56 2  
24322017; E-mail address: drosenberg@uandes.cl

**Abstract Word Count:** 294

**Word count:** 3,815

**Number of figures and tables:** 6



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**Summary:** Local application of statins can affect the periodontal status by increasing the gain in clinical attachment and decreasing gingival bleeding, probing depth and the magnitude of bone defects. More studies with appropriate designs should be conducted to evaluate the short- and long-term clinical benefits of statins in patients with periodontal pathology. These studies should determine the appropriate dose, timing, side effects and ideal vehicles for delivery.

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**ABSTRACT**

**Background:** Statins are drugs used for the treatment of dyslipidemia. However, statins have multiple actions, including anti-inflammatory and immunomodulatory effects, as well as the ability to stimulate new bone formation. Such features could be beneficial for periodontal pathology therapy.

**Methods:** A literature review was conducted using filtered electronic databases (Cochrane and Trip) and unfiltered databases (Medline/PubMed, Scielo and Google Scholar). The articles chosen were controlled and randomized clinical trials that performed local delivery of statins to humans and assessed the effects of immunomodulation and bone regeneration on periodontal disease between 2010 and 2016. All of the studies were blind or double-blind and were written in English.

**Results:** The inclusion criteria were applied to a total of 79 identified articles, and 10 studies were ultimately chosen. The results show that an injected dose of statins or the local delivery of atorvastatin (ATV) leads to a significant improvement in clinical and radiographic periodontal parameters. Moreover, rosuvastatin (RSV) induced stronger beneficial effects when administered systemically, whereas ATV and simvastatin (SMV) had better results following topical delivery.

**Conclusions:** Statins can affect periodontal status, increasing the gain in clinical attachment and decreasing gingival bleeding, probing depth and the magnitude of bone defects. For this reason, statins represent an excellent support measure for conventional periodontal therapy. Specifically, positive effects are seen for local delivery of statins as an adjunct treatment to scaling and root planing (SRP) at doses of 1.2 to 2%. Statins could be administered through topical delivery via direct injection in the periodontal pocket or by brushing with medicated dentifrices. More studies with appropriate designs should be conducted to evaluate the short- and long-term clinical

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

benefits of statins in patients with periodontal pathology. These studies should determine the appropriate dose, timing, side effects and ideal vehicles for delivery.

**Key words:** Statins; Periodontitis; Drug delivery; Drugs and periodontium; Systematic review

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**INTRODUCTION**

Periodontal disease is highly prevalent. According to a study that estimated the prevalence, severity and extent of periodontitis in the adult population of the United States, more than 47% of individuals presented with this condition (Eke *et al.*, 2012). The prevalence of periodontal disease is even higher in Chile. A study conducted in 2010 demonstrated that 93.45% of individuals between 35 and 44 years of age showed an attachment loss  $\geq 3$  mm in at least one site. This prevalence is greater in adults between 65 and 74 years of age, who showed an attachment loss  $\geq 3$  mm in 97.58% of cases (Gamonal *et al.*, 2010).

Periodontitis etiology is attributed to specific microorganisms located subgingivally in the gingival sulcus. These microorganisms stimulate an excessive immune-inflammatory response in susceptible hosts. Several proinflammatory molecules and cytokines are synthesized and released during this response, stimulating the destruction of periodontal tissue (Newman, 2004; Carrillo *et al.*, 2006; Pradeep and Thorat, 2010).

Statins are inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase and have become one of the most prescribed drugs in the world (Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007). The prevalence of their use is due to their ability to treat dyslipidemia and to prevent cardiovascular diseases (Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007; Lindy *et al.*, 2008). Currently, two subtypes of statins are available: natural statins, such as simvastatin (SMV), and synthetic statins, such as atorvastatin (ATV) (Horiuchi and Maeda, 2006). The properties of statins differ in terms of lipophilicity and hydrophilicity, which are characteristics that affect their ability to pass across cell membranes non-selectively via passive diffusion (Lindy *et al.*, 2008). Lipophilic statins, such as SMV and ATV, move easily across the cell membrane. In contrast, the transport

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

mechanism of hydrophilic statins, such as rosuvastatin (RSV), specifically facilitate the entry into hepatic cells (Lindy *et al.*, 2008).

In addition to their primary hypolipidemic action, the following pleiotropic properties are known, which are independent of the cholesterol-lowering action (Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007): 1) anti-inflammatory and immunomodulatory, 2) antithrombotic and antiproliferative, and 3) decrease of endothelial dysfunction, oxidative stress, etc. (Gómez-Fernández, 2005; Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007; Mennickent *et al.*, 2008). As statins inhibit the activation of inflammatory response mediators, such as interleukin 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), and tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), it has been suggested to use these drugs to treat different inflammatory and autoimmune diseases (Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007). Statins decrease the levels of metalloproteinases (MMPs) 1/2/8/9 (Paumelle *et al.*, 2006) and the inducible nitric oxide synthase (iNOS) enzyme (Nachtigal *et al.*, 2005). All of these actions are attributed to the capacity of statins to modulate signal transduction pathways that activate proinflammatory transcription factors, such as nuclear factor kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$   $\beta$ ) (Paumelle *et al.*, 2006). Moreover, statins can promote the differentiation of osteoblasts by stimulating bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) (Dalcico *et al.*, 2013) and vascular endothelial growth factor (VEGF), helping to stimulate the formation of bone tissue (Figure 1) (Balli *et al.*, 2014).

[FIGURE 1 HERE]

Osteoblasts differentiate in response to several factors, including VEGF. When expressed in osteoblasts, VEGF induces alkaline phosphatase activity and improves responsiveness to

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

parathyroid hormone (PTH) (Maeda *et al.*, 2003). On the other hand, BMP-2 is one of the most potent inductors and stimulators of osteoblast differentiation and bone formation. BMP-2 not only stimulates osteoprogenitor cells to differentiate into osteoblasts but also induces non-osteogenic cells to differentiate into osteoblast lineage cells (Yamaguchi *et al.*, 2000). Statins increase the transcription of BMP-2 and VEGF in osteoblasts by inhibiting protein prenylation, thereby promoting bone formation (Maeda *et al.*, 2003).

Due to the pleiotropic, non-hypolipidemic effects of statins, these drugs could potentially be used as coadjuvant therapeutic agents for periodontal disease management. By employing either systemic or local delivery systems, recent studies have explored the biological mechanisms that may be involved in the anti-inflammatory effects of statins on periodontal tissue (Liu *et al.*, 2009; Dalcico *et al.*, 2013; Balli *et al.*, 2014). In this way, the conventional periodontal treatment approach could be augmented with statins to decrease periodontal inflammation (Pinheiro, 2009) and promote bone tissue formation (Lindy *et al.*, 2008).

*In vitro* studies performed in human periodontal ligament cells demonstrate that low doses of SMV stimulate alkaline phosphatase activity, cell proliferation and osteoblast differentiation, suggesting the sensitivity of connective tissue cells to SMV (Yazawa *et al.*, 2005). The mechanisms by which statins reduce bone loss can be explained by results demonstrating that the local delivery of SMV increases the expression of three osteoinductive growth factors (TGFβ1, BMP-2, and VEGF). Therefore, statins can promote the formation of new bone (Liu *et al.*, 2009). Furthermore, other studies have shown that the application of systemic SMV or ATV decreases the expression of receptor activator of *NF-κ* β (RANK) and the receptor activator of *NF-κ* β ligand (RANKL) in conjunction with an increase of osteoprotegerin (OPG) levels (Dalcico *et al.*, 2013; de Araújo Júnior *et al.*, 2013). Balli *et al.* (2014) determined

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

that systemic or local delivery of ATV increases VEGF levels. In addition, statins can help to i) decrease free radical release and oxidative stress (Dalcico *et al.*, 2013; de Araújo Júnior *et al.*, 2013); ii) lower the expression of MMPs 1/8/9, IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$ ; and iii) increase the expression of IL-10 (Dalcico *et al.*, 2013; Jin *et al.*, 2014).

The aim of this review is to evaluate the scientific evidence, and quality thereof, regarding the local delivery of statins, particularly SMV, ATV and RSV, with a focus on how they could complement conventional periodontal therapy.

## MATERIAL AND METHODS

The literature search was conducted using filtered electronic databases (Cochrane and Meta-search (Trip)), and unfiltered databases (Medline/PubMed, Scielo and Google Scholar).

In addition, a manual review was performed of the “*Journal of Periodontology*”, the “*Journal of Clinical Periodontology*” and “*Periodontology 2000*”, as well as the references mentioned in the selected articles.

The following combinations of Boolean connectors with MeSh terms were used for the electronic search: (*statins* OR *simvastatin* OR *atorvastatin* OR *rosuvastatin*) AND (*periodontitis* OR “*periodontal disease*” OR “*periodontal therapy*”). Because the search results contained articles that assessed the use of statins in apical periodontitis, the Boolean term NOT was used to exclude such studies. The articles that were obtained as full text in the journals and databases subscribed to by the Library of Universidad de los Andes were compiled. Then, the following inclusion criteria were considered: i) the article was written in English between 2010 and 2016; ii) the study described a controlled and randomized clinical trial that was blinded or double-blinded; and iii) the study administered statins via local delivery as an adjunct to scaling and root

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

planing (SRP) in patients with chronic periodontitis who were healthy, smokers or diabetic. Studies combining statins with other bone regeneration techniques were excluded. The articles written in Chinese or other languages were excluded from this review. In the first search, 79 articles were found; however, 10 were ultimately chosen after applying the inclusion criteria (Figure 2).

[FIGURE 2 HERE]

**RESULTS**

Recently, several randomized clinical trials have been published that study the effect of statins in patients with chronic periodontitis (Pradeep and Thorat, 2010; Pradeep *et al.*, 2012, 2013a, 2013b, 2015, 2016; Rath *et al.*, 2012; Rao *et al.*, 2013; Rosenberg *et al.*, 2015; Kumari *et al.*, 2017). In general, these studies have demonstrated the effectiveness of topical delivery by injection within periodontal pockets of 3 classes of statins: SMV, ATV and RSV. These statins are generally administered at doses of 1.2%. Only ATV was delivered at a higher concentration (2%), using a dentifrice as an adjunct treatment to SRP at the same time as the intervention. The main results of these studies are discussed below.

Pradeep & Thorat studied the local delivery of SMV in 60 generally healthy patients between 25 and 45 years of age with chronic periodontitis. The patients were randomly allocated into two treatment groups, and SRP was performed for both groups. Group 1 was then treated with a placebo gel, while group 2 was treated with 0.1 ml of 1.2% SMV gel (1.2 mg/0.1 ml) delivered into the periodontal pockets (one site per subject) using a syringe with a blunt cannula. The clinical parameters were measured at baseline and at 1, 2, 4 and 6 months. The radiographic



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

evaluation of intrabony defects was performed at baseline and at 6 months after the intervention using a standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique. In addition, gingival crevicular fluid (GCF) samples were collected from drug-delivery sites in 6 randomly selected patients from group 2 (Table 1). The results showed a significant improvement in clinical parameters (modified sulcus bleeding index (mSBI), probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL)) 6 months after treatment in both groups ( $p = 0.001$ ). The mSBI decreased by  $2.32 \pm 0.80$  points in group 2, whereas this decrease was  $0.50 \pm 0.68$  points for group 1. The decrease in PD was  $1.20 \pm 1.24$  mm and  $4.26 \pm 1.59$  mm in groups 1 and 2, respectively. In addition, a  $4.36 \pm 1.92$  mm increase in CAL was observed in the group treated with SMV versus  $1.63 \pm 1.99$  mm in the placebo group. The intrabony defect showed a significantly greater decrease in size ( $p < 0.001$ ) in the SMV group ( $1.41 \pm 0.74$  mm or 32.54%) compared to the placebo group ( $0.09 \pm 0.58$  mm or 2.16%). Moreover, it was established that the SMV concentration in GCF reached its maximum level 2 hours after application ( $11.43 \pm 0.027$   $\mu\text{g/ml}$ ), but SMV remained for 30 days after application ( $0.22 \pm 0.19$   $\mu\text{g/ml}$ ) (Pradeep and Thorat, 2010).

[TABLE 1 HERE]

Rath *et al.* (2012) analyzed the effect of subgingivally delivered 1.2% SMV in a group of generally healthy patients with chronic periodontitis. After SRP, the patients were divided into 2 treatment groups: 30 patients were allocated into the placebo group, and 30 were treated with 0.1 ml SMV gel at a concentration of 1.2% (1.2 mg/0.1 ml). The clinical periodontal parameters were recorded at baseline (before SRP) and at 60, 90 and 180 days. The assessment of the

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

intrabony defects was performed radiographically at baseline and at 180 days. In addition, IL-6 levels were analyzed by RT-PCR using cells obtained from the gingival sulcus at baseline and after 90 days (Table 1). The results are consistent with SMV improving clinical and radiographic parameters. The mSBI decreased significantly by  $2.5 \pm 0.6$  ( $p < 0.05$ ) 180 days after SMV treatment. The probing depth was significantly reduced by 4 mm ( $p < 0.05$ ) in the SMV treated group compared with the placebo group. However, no significant difference was found in the CAL gain between the groups. The intrabony defect showed a significantly greater improvement in the SMV group at 180 days, decreasing by 0.57 mm ( $p < 0.02$ ). In addition, the results showed a significant decrease in IL-6 levels 90 days after drug application ( $p = 0.0001$ ) (Rath *et al.*, 2012).

Pradeep *et al.* (2013) evaluated the efficacy of subgingivally delivered 1.2% ATV gel as an adjunct to SRP for the treatment of intrabony defects (Table 1). The mSBI showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the group treated with ATV at 3, 6 and 9 months. Furthermore, the results indicated that ATV significantly decreased the PD and improved the CAL gain at 3, 6 and 9 months ( $p < 0.001$ ). The intrabony defect decreased significantly ( $p < 0.001$ ) at both 6 and 9 months in the ATV group ( $1.60 \pm 0.24$  mm at 6 months;  $1.70 \pm 0.24$  mm at 9 months) compared to the placebo group ( $0.13 \pm 0.25$  mm at 6 months;  $0.08 \pm 0.26$  mm at 9 months). In addition, the sites treated with ATV showed a significant vertical radiographic bone defect fill after 6 and 9 months ( $34.05 \pm 5.79\%$  and  $35.49 \pm 5.50\%$ , respectively,  $p < 0.001$ ). In this study, the bone fill was slightly greater than that obtained previously by Pradeep and Thorat (2010) (32.54% at 6 months). Therefore, ATV was slightly more effective than SMV (Pradeep *et al.*, 2013a).

The clinical and radiographic (bone fill) effect of locally delivered 1.2% SMV as an adjunct to SRP for treating grade II vestibular furcation defects in mandibular molars was studied

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

by Pradeep *et al.* (2012) In addition to the conventional clinical measurements, the relative vertical attachment level (RVAL) was considered, which was determined by measuring between the LAC and the base of the periodontal pocket, as was the relative horizontal attachment level (RHAL), which was calculated using a *Nabers* probe. The radiographic evaluation of intrabony defects was performed with a computer-aided program by measuring the distance between the furcation fornix and the base of the defect (Table 1). A significant decrease ( $p < 0.05$ ) in bleeding on probing (BOP) was found in the SMV-treated group at 6 months. The mean PD decrease at 6 months was  $1.30 \pm 1.0$  mm and  $4.05 \pm 1.31$  mm for the control and SMV groups, respectively ( $p = 0.001$ ). A significant increase ( $p = 0.001$ ) in mean RVAL and RHAL in the SMV group was observed. Furthermore, the mean percentage of the bone fill in the SMV group was significantly higher (25.16%) than that in the control group (1.54%) 6 months after treatment ( $p = 0.001$ ).

Rosenberg *et al.* (2015) used a new method for locally delivering statins. Specifically, a dentifrice medicated with 2 mg of ATV or a placebo dentifrice was used to complement non-surgical periodontal treatment. Twice-daily teeth brushing for one month was prescribed to both groups (Table 1). The treatment efficacy was assessed by periodontal measurements obtained at the beginning of the study and at 1 month post-therapy. Significant clinical improvements were obtained in the total inflamed periodontal area ( $p = 0.01$ ), mean PD ( $p = 0.02$ ), percentage of sites with  $PD \geq 5$  mm ( $p = 0.002$ ), mean CAL ( $p = 0.001$ ), percentage of sites with  $CAL \geq 5$  mm ( $p = 0.01$ ), BOP ( $p < 0.001$ ) and gingival index ( $p = 0.03$ ) in the ATV group (Rosenberg *et al.*, 2015).

Pradeep *et al.* (2015) analyzed the effect of RSV (Table 1). At 6 months after treatment, the RSV-treated group showed a significant improvement ( $p = 0.000$ ) in the mSBI, with a decrease in PD and a gain in CAL. Furthermore, a larger decrease in the mean intrabony defect

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

( $p=0.000$ ) was observed (Pradeep *et al.*, 2015). Complementing this research, Pradeep *et al.* (2016) compared the efficacy of local delivery of 1.2 mg of ATV, RSV or placebo gels for the treatment of intrabony defects in patients with chronic periodontitis. A re-application of the gels was performed after 6 months to increase the bioavailability of the drug at the site. The mean reductions in the mSBI and PD, the gain in the CAL, and the reduction in the intrabony defect depth were significantly higher in the statin group than in the placebo gel group ( $p < 0.001$ ). At the same time, RSV treatment showed a larger beneficial effect than ATV at 6 and 9 months (Pradeep *et al.*, 2016). Table 2 shows a comparative analysis of the different clinical and radiographic periodontal parameters based on the use of the three types of statins that were topically delivered at the periodontal level.

[TABLE 2 HERE]

Another important point is to determine the efficacy of the local delivery of SMV in patients with additional risk factors for periodontal disease, such as diabetes or smoking.

Pradeep *et al.* (2013) recruited 38 patients with ages between 30 and 50 years with a diagnosis of type 2 diabetes and chronic periodontitis. After performing SRP, 1.2% SMV or a placebo gel was subgingivally delivered to multiple posterior sites. The group treated with SMV showed a significantly greater decrease in mSBI ( $p < 0.05$ ) and PD compared to the placebo group, as well a significant CAL gain ( $p < 0.001$ ). At 6 and 9 months, the intrabony defect was significantly smaller ( $p < 0.001$ ) in the SMV group ( $1.38 \pm 0.73$  mm and  $1.62 \pm 0.71$  mm, respectively) compared to the non-treated group ( $0.19 \pm 0.37$  mm and  $0.23 \pm 0.49$  mm, respectively), and a significant increase in the bone fill was observed in the SMV group ( $27.63 \pm$

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

13.14% and  $32.64 \pm 12.90\%$ , respectively) compared to the placebo group ( $3.40 \pm 8.14\%$  and  $4.22 \pm 9.75\%$ , respectively) ( $p < 0.001$ ) (Table 3) (Pradeep *et al.*, 2013b).

[TABLE 3 HERE]

The effect of SMV local delivery in 40 smokers aged between 30 and 40 years was evaluated by Rao *et al.* (2013) similarly to previous studies (Table 3). A significant decrease of mSBI and PD was found in the SMV treated group at 3, 6 and 9 months after the drug delivery. In addition, a significant gain in the CAL ( $p < 0.001$ ) was observed. At 6 and 9 months, assessments of the radiographic parameters in the SMV treated group revealed that the intrabony defect was significantly reduced ( $1.17 \pm 0.45$  mm and  $1.51 \pm 0.47$  mm, respectively) and a significant vertical defect fill had occurred ( $24.90 \pm 8.98\%$  and  $32.37 \pm 10.23\%$ , respectively) ( $p < 0.001$ ) (Rao *et al.*, 2013). Following the same methodology, Kumari *et al.* (2017) administered 1.2% ATV to 66 smokers (Table 3) and obtained a significant improvement in several clinical parameters, such as mSBI, PD and CAL ( $p < 0.05$ ). Furthermore, an intrabony defect reduction of  $1.44 \pm 0.41$  mm and  $1.53 \pm 0.40$  mm was observed at 6 and 9 months, respectively, in the ATV group, while the placebo group gained  $0.14 \pm 0.09$  mm and  $0.15 \pm 0.13$  mm, respectively ( $p < 0.001$ ) (Kumari *et al.*, 2017). Table 4 shows the results of statin delivery in patients with risk factors for periodontal disease, showing that the improvement in clinical and radiographic parameters is smaller than the improvement found in patients without associated risk factors.

[TABLE 4 HERE]

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**DISCUSSION**

Because statins have anti-inflammatory and immunomodulatory effects, as well as the ability to promote bone formation, they could be useful adjuvants to conventional periodontal therapy.

Initially, studies that tested statins in this context used two types (SMV and ATV), at a concentration of 1.2%, with the results demonstrating that both statins improve the clinical parameters of bleeding on probing, probing depth and loss of clinical attachment (Pradeep and Thorat, 2010; Pradeep *et al.*, 2012, 2013a, 2013b; Rao *et al.*, 2013). However, Rath *et al.* (2012) did not find significant differences in CAL gain. Previous studies also demonstrated greater bone fill in regions with periodontitis or furcation defects. The delivery of ATV proved to be slightly more effective than SMV regarding bone fill increases. ATV is a lipophilic statin that appears to have a more potent bone-sparing effect than hydrophilic statins, such as pravastatin (Pradeep *et al.*, 2013a). Alternatively, Rath *et al.* (2012) demonstrated that locally delivered SMV significantly reduced IL-6 levels in the sulcus epithelium. Moreover, it was found that the concentration of SMV in the GCF peaks 2 hours after application, although the drug is present for 30 days (Pradeep and Thorat, 2010).

Continuing with their research, Pradeep *et al.* (2015) used a new type of statin, RSV, demonstrating positive clinical and radiographic effects on periodontal tissues; notably, these effects were significantly greater than those of ATV. This superiority could be explained by a greater anti-inflammatory action of RSV. Specifically, this drug inhibits endothelial cell synthesis of P-selectin, which is produced in response to pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 (Stalker *et al.*, 2001; Pradeep *et al.*, 2016). The lack of sustainability in the release of these agents over long periods of time was addressed by Pradeep *et al.* (2016), who performed re-

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

delivery at 6 months and observed even greater clinical benefits. However, Rosenberg *et al.* (2015) proposed a novel delivery system through a medicated dentifrice with 2% ATV. This technique could provide significant benefits given its advantages of easy application and low cost, which would facilitate access to these treatments for much of the population. This system might be used not only as a complement to periodontal therapy but also for the prevention and maintenance of this therapy (Rosenberg *et al.*, 2015).

The advantages of local drug delivery are obtaining high concentrations at the target site with a lower dose, requiring fewer applications, and achieving high patient acceptability. Compared to systemic regimens, local delivery can offer important benefits in terms of adverse effects and patient adherence (Pradeep *et al.*, 2013a). To achieve therapeutic effects, topically delivered drugs must have the ability to cross biological membranes. The polarities of the drugs determine their ability to access receptor sites. In this regard, lipophilic statins, such as SMV and ATV, have a greater ability to cross cell membranes by passive diffusion and thereby reach their target (Bracht *et al.*, 2011). In contrast, hydrophilic statins, such as RSV, require specific transporters to enter cells (Pradeep *et al.*, 2015).

The vehicles used for local delivery of drugs should be biocompatible, have predictable biodegradation kinetics and be easy to fabricate (Gilding and Reed, 1979). Local drug delivery using a gel allows simple, rapid and generalized application to all affected areas. Moreover, local delivery techniques should provide long bioavailability at sufficient minimum inhibitory concentrations for several days (Elavarasu *et al.*, 2012).

Lastly, this review described three randomized controlled clinical trials that studied the effect of locally delivered statins on patients with risk factors for periodontal disease. Smoking is the most significant modifiable risk factor, affecting the prevalence and progression of

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

periodontal disease in a dose-dependent manner (Alvear *et al.*, 2010). Poorly controlled diabetes *mellitus* (type I and type II) is the most influential risk factor for the development and progression of periodontitis (Alvear *et al.*, 2010). The results obtained in studies with patients with type II diabetes and smoking show that treatment with 1.2% SMV or ATV produces an improvement in the clinical and radiographic periodontal parameters. These results demonstrate the anti-inflammatory effects of these statins and their role in bone formation. However, when comparing these results with the those of the first study conducted by Pradeep and Thorat (2010), the effects were less pronounced than those obtained in patients with only chronic periodontitis (i.e., without other risk factors). These differences can be explained by the effect of such risk factors on periodontal disease (Tables 2 and 4).

## CONCLUSION

Analysis of the available scientific evidence demonstrates that statin administration may represent a new approach and a valuable tool as an adjunct to periodontal therapy. Local delivery proved to be ideal given that it provides high concentrations at the target site and decreases the disadvantages of systemic delivery, such as adverse reactions and low patient compliance. Moreover, with local delivery, effective concentrations are maintained up to 30 days after application. We consider topically delivered statins as an adjunct treatment for the prevention of periodontal disease in high-risk patients. Such a treatment strategy enhances the resolution of periodontitis, reverses the associated defects, and represents a form of periodontal maintenance. However, additional appropriately designed studies are necessary to assess the potential benefits of statins in periodontal therapy and to determine the ideal dose and vehicle for delivery.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**Acknowledgments**

The authors declare that they did not received any financial support.

The authors declare that they have no conflicts of interest regarding this study.

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**REFERENCES**

Alvear FE, Vélez ME, Botero L. 2010. Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. *Rev Fac Odontol Univ Antioq.* 22:109-116.

Balli U, Keles GC, Cetinkaya BO, Mercan U, Ayas B, Erdogan D. 2014. Assessment of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in the periodontium of rats treated with atorvastatin. *J Periodontol.* 85(1):178–187. doi:10.1902/jop.2013.130018.

Bracht L, Caparroz-Assef SM, Magon TF, Ritter AM, Cuman RK, Bersani-Amado CA. 2011. Topical anti-inflammatory effect of hypocholesterolaemic drugs. *J Pharm Pharmacol.* 63(7):971–975.

Carrillo de Albornoz Sainz A, García Kass A, Bascones Martínez A. 2006. Papel de la IL-6 y TNF-alfa en la enfermedad periodontal. *Av En Periodoncia E Implantol Oral.* 18(2):83-89.

Dalcico R, de Menezes AMA, Deocleciano OB, Oriá RB, Vale ML, Ribeiro RA, Brito GA. 2013. Protective mechanisms of simvastatin in experimental periodontal disease. *J Periodontol.* 84(8):1145–1157.

de Araújo Júnior RF, Souza TO, de Moura LM, Torres KP, de Souza LB, Alves Mdo S, Rocha HO, de Araújo AA. 2013. Atorvastatin decreases bone loss, inflammation and oxidative stress in experimental periodontitis. *PLOS ONE.* 8(10):e75322. doi:10.1371/journal.pone.0075322.

Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ, CDC. Periodontal disease surveillance workgroup: James Beck. (Chapel Hill, USA): University of North Carolina (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washington.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res.* octubre de 2012;91(10):914-920.

Elavarasu S, Suthanthiran TK, Naveen D. 2012. Statins: a new era in local drug delivery. *J Pharm Bioallied Sci.* 4(Suppl 2):S248-S251.

Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W, Carvajal P, Arteaga O. 2010. Clinical attachment loss in Chilean adult population: first Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol.* 81(10):1403-1410.

Gilding DK, Reed AM. 1979. Biodegradable polymers for use in surgery— polyglycolic/poly(actic acid) homo- and copolymers. *Polymer.* 20(12):1459-1464.

Gómez-Fernández P. 2005. [Statins and beneficial effects]. *Med Clin (Barc).* 125(15):578–579. doi:10.1157/13080660.

Horiuchi N, Maeda T. 2006. Statins and bone metabolism. *Oral Dis.* 12(2):85-101.

Jin J, Zhang X, Lu Z, Li Y, Lopes-Virella MF, Yu H, Haycraft CJ, Li Q, Kirkwood KL, Huang Y. 2014. Simvastatin inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and reduces alveolar bone loss in experimental periodontal disease. *J Periodontal Res.* 49(4):518-526.

Kumari M, Martande SS, Pradeep AR. 2017. Subgingivally delivered 1.2% atorvastatin in the treatment of chronic periodontitis among smokers: a randomized, controlled clinical trial. *J Investig Clin Dent.* 8(2). DOI: 10.1111/jicd.12213.

Lindy O, Suomalainen K, Mäkelä M, Lindy S. 2008. Statin use is associated with fewer periodontal lesions: a retrospective study. *BMC Oral Health.* 8:16.

Liu C, Wu Z, Sun HC. 2009. The effect of simvastatin on mRNA expression of transforming growth factor-beta1, bone morphogenetic protein-2 and vascular endothelial growth factor in tooth extraction socket. *Int J Oral Sci.* 1(2):90-98.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Maeda T, Kawane T, Horiuchi N. 2003. Statins augment vascular endothelial growth factor expression in osteoblastic cells via inhibition of protein prenylation. *Endocrinology*. 144(2):681-692.

Mennickent CS, Bravo DM, Calvo MC, Avello LM. 2008. [Pleiotropic effects of statins]. *Rev Med Chil*. 136(6):775-782.

Nachtigal P, Kopecky M, Solichova D, Zdansky P, Semecky V. 2005. The changes in the endothelial expression of cell adhesion molecules and iNOS in the vessel wall after the short-term administration of simvastatin in rabbit model of atherosclerosis. *J Pharm Pharmacol*. 57(2):197-203.

Newman MG. 2004. *Carranza Periodontología Clínica*. México: McGraw-Hill Interamericana.

Paumelle R, Blanquart C, Briand O, Barbier O, Duhem C, Woerly G, Percevault F, Fruchart JC, Dombrowicz D, Glineur C, *et al*. 2006. Acute antiinflammatory properties of statins involve peroxisome proliferator-activated receptor-alpha via inhibition of the protein kinase C signaling pathway. *Circ Res*. 98(3):361-369.

Pinheiro PG. Efeito antiinflamatório da atorvastatina na periodontite induzida por ligadura em ratos. 2009; <http://www.repositorio.ufc.br:8080/ri/handle/123456789/1863>.

Pradeep AR, Garg V, Kanoriya D, Singhal S. 2016. 1.2% rosuvastatin versus 1.2% atorvastatin gel local drug delivery and redelivery in treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Periodontol*. 87(7):756-762.

Pradeep AR, Karvekar S, Nagpal K, Patnaik K, Guruprasad CN, Kumaraswamy KM. 2015. Efficacy of locally delivered 1.2% rosuvastatin gel to non-surgical treatment of patients

1  
2  
3 with chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Periodontol.*  
4  
5 86(6):738-745.  
6  
7  
8 Pradeep AR, Kumari M, Rao NS, Martande SS, Naik SB. 2013a. Clinical efficacy of  
9  
10 Subgingivally delivered 1.2% Atorvastatin in chronic periodontitis: a randomized  
11  
12 controlled clinical trial. *J Periodontol.* 84(7):871–879.  
13  
14 Pradeep AR, Priyanka N, Kalra N, Naik SB, Singh SP, Martande S. 2012. Clinical efficacy of  
15  
16 Subgingivally delivered 1.2-mg simvastatin in the treatment of individuals with Class II  
17  
18 furcation defects: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 83(12):1472-1479.  
19  
20 Pradeep AR, Rao NS, Bajaj P, Kumari M. 2013b. Efficacy of subgingivally delivered  
21  
22 simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a  
23  
24 randomized double-masked controlled clinical trial. *J Periodontol.* 84(1):24-31.  
25  
26 Pradeep AR, Thorat MS. 2010. Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the  
27  
28 treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol.*  
29  
30 81(2):214-222.  
31  
32  
33 Ramos-Esquivel A, León-Céspedes C. 2007. Efectos no hipolipemiantes de las estatinas. *Acta*  
34  
35 *Médica Costarric.* 49:182-189.  
36  
37  
38 Rao NS, Pradeep AR, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. 2013. Simvastatin local drug delivery in  
39  
40 smokers with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Aust Dent J.*  
41  
42 58(2):156–162.  
43  
44  
45 Rath A, Mahendra J, Thomas L, Sandhu M, Namasi A, Ramkrishna T. 2012. A clinical,  
46  
47 radiological and IL-6 evaluation of subgingivally delivered simvastatin in the treatment  
48  
49 of chronic periodontitis. *Int J Drug Deliv.* 4:70-81.  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Rosenberg DR, Andrade CX, Chaparro AP, Inostroza CM, Ramirez V, Violant D, Nart J. 2015.

Short-term effects of 2% atorvastatin dentifrice as an adjunct to periodontal therapy: a randomized double-masked clinical trial. *J Periodontol.* 86(5):623-630.

Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R. 2001. A new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, exerts

anti-inflammatory effects on the microvascular endothelium: the role of mevalonic acid.

*Br J Pharmacol.* 133(3):406-412.

Yamaguchi A, Komori T, Suda T. 2000. Regulation of osteoblast differentiation mediated by

bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. *Endocr Rev.* 21(4):393-411.

Yazawa H, Zimmermann B, Asami Y, Bernimoulin JP. 2005. Simvastatin promotes cell

metabolism, proliferation, and osteoblastic differentiation in human periodontal ligament

cells. *J Periodontol.* 76(2):295-302.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

**Figure legends**

Figure 1: Statins increase the transcription of BMP-2 and VEGF, promoting osteoblast differentiation. Furthermore, statins inhibit the activation of proinflammatory transcription factors, such as *NF-κ* β, and decrease the levels of MMPs 1/2/8/9, IL-1 β, IL-6, TNF- α, and iNOS.

Figure 2: Flow chart of the methodological process for selecting articles for the review.

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° Patients; Type of Statins/Dose	Delivery of form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep & Thorat (2010)	60 25-45 years;  SMV 1.2 mg/0.1 ml in methylcellulose gel	Only one subgingival injection with a syringe with a blunt cannula (one site per subject)	Generally healthy. Moderate chronic periodontitis: 5 to 6 mm PD and 4 to 6 mm CAL. Severe chronic periodontitis: PD ≥ 7 mm or CAL 6 to 9 mm. Vertical bone loss ≥ 3 mm	Periodontal treatment or antibiotic treatment in the last 6 months. Allergy to SMV. Systemic statins therapy. Aggressive periodontitis. Smoking, alcoholism, diabetes mellitus (DM), immunosuppression, pregnancy, breastfeeding	Modified sulcus bleeding index (mSBI). Plaque index (PI) full mouth and specific site. Probing depth (PD). Clinical attachment level (CAL) Metrics were recorded at baseline (before the SRP) and at 1, 2, 4 and 6 months. The concentration of SMV in the GCF at baseline and at 2, 4, 6, and 24 hours, as well as at 2, 7, 14, 21, and 30 days	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects were measured by software (vertical distance between the alveolar bone crest and the base of the defect) at baseline and at 6 months

Table 1: Methodology of studies regarding locally delivered statins in humans.



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° Patients; Type of Statins/Dose	Delivery of form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Rath <i>et al.</i> (2012)	60 25-45 years;  SMV 1.2 mg/0.1 ml in methylcellulose gel	Only one subgingival injection with a syringe with a blunt cannula (one site per subject)	Generally healthy. Generalized chronic periodontitis PD > 5 mm and radiographic evidence of vertical bone loss of 3 mm in at least 1 site. Capacity to maintain oral hygiene after the initial treatment phase.	Allergy to SMV. Systemic treatment with statins. Aggressive periodontitis. Smoking. History of antibiotic or periodontal therapy in the last 6 months.	mSBI Plaque index (PI) PD CAL Recorded at the baseline (before the SRP) and at 60, 90 and 180 days. IL-6- mRNA was analyzed at the baseline and at 90 days by PCR	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects measured by software (vertical distance between the alveolar bone crest and the base of the defect) at baseline and at 180 days

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° Patients; Type of Statins/Dose	Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep <i>et al.</i> (2012)	60 30-50 years; ATV 1.2 mg/0.1 ml in methylcellulose gel	Only one subgingival injection with a blunt cannula (one site per subject)	Generally healthy. Severe chronic periodontitis: PD ≥ 5 mm and CAL ≥ 4 mm. Vertical bone loss ≥ 3 mm	Periodontal antibiotic treatment in the last 6 months. Allergy to ATV/statins. Therapy with systemic statins. Aggressive periodontitis, smoking, alcoholism, DM, immunosuppression, pregnancy or breastfeeding.	mSBI and PI for full mouth and specific sites. CAL. Recorded at baseline (before the SRP) and at 3, 6 and 9 months.	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects measured by software (vertical distance between the alveolar bone crest and the base of the defect) at baseline and 6 and 9 months

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° of Patients; Type of Statins/Dose	Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep <i>et al.</i> (2012)	66 30-50 years;  SMV 1.2 mg/0.1 ml in methylcellulose gel	Only one injection at furcation sites with a syringe with a blunt cannula	Chronic periodontitis and grade II vestibular furcation defects in first and second vital mandibular molars, with radiolucent image in the zone of the furcation in the periapical radiograph. PD of 3 mm.	Periodontal antibiotic treatment in the last 6 months. Known systemic disease. Allergy to SMV. Therapy with systemic statins. Aggressive periodontitis, smoking, alcoholism. DM, immunosuppression, pregnancy or breastfeeding. Pieces with gingival recession, endodontically treated, grade III furcation and grade 2 mobility	or mSBI. PI for full mouth and specific site before the SRP. PD. Relative vertical attachment level (RVAL) and relative horizontal attachment level (RHAL). Considered at baseline (after the SRP) and at 3 and 6 months.	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects measured by software (distance between the furcation fornix and the base of the defect) at baseline and at 6 months.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° Patients; Type of Statins/Dose	Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables
Rosenberg <i>et al.</i> (2015)	36 30-58 years;  2 mg of ATV with 0.1 ml of fluoride dentifrice.	Six syringes of 5 ml for one month	30 to 60 years of age. At least 14 teeth (excluding third molars). Chronic periodontitis (Page & Eke classification). Controlled diabetes (confirmed by laboratory tests and consultation with treating physician).	Inability to comply with the study protocol. Therapy with antibiotics or non-steroidal anti- inflammatory drugs in the last 2 months. Use of calcium channel blockers, phenytoin, cyclosporine or any associated drug that might affect the gingival tissue. Periodontal treatment during the last 12 months. Autoimmune disorders (self-reported). Uncontrolled or poorly controlled diabetes. Systemic treatment with statins. Patients who required antibiotic prophylaxis prior to the periodontal treatment or NSAIDs for the pain after periodontal treatment.	PISA (at baseline). Mean PD. Percentage of sites with PD of 0 to 2 mm. Percentage of sites with PD of 3 to 4 mm. Percentage of sites with PD ≥ 5 mm. Mean CAL. Percentage with sites with CAL of 0 to 2 mm. Percentage of sites with CAL of 3 to 4 mm. Percentage of sites with CAL ≥ 5 mm. BOP. Gingival index. Oral hygiene index at baseline and one month after therapy.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	N° Patients; Type Statin/Dose	of Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep <i>et al</i> (2015)	65 25-55 years;  1.2 mg/0.1 ml RSV in methylcellulose gel.	Only one injection in periodontal pocket with a syringe with a blunt cannula (one site per subject)	Generally in healthy. Moderate periodontitis (PD of 5 to 6 mm, CAL of 4 to 6 mm). Vertical bone loss $\geq$ 3 mm. At least 20 teeth without periodontal treatment in the last 6 months. Without antibiotic therapy.	Treatment with systemic statins. Known or suspected allergy to the RSV group. Another type of periodontitis. Smoking, alcoholism, or immunosuppression. Pregnancy or breastfeeding	mSBI. PI for full mouth and specific site. PD. CAL. Metrics recorded at baseline (before the SRP) and at 1, 3, 4 and 6 months.	Vertical distance from the alveolar bone crest to the base of the defect at baseline and at 6 months (digital X- rays)

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	Nº Patients; Type of Statin/Dose	Delivery of form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep <i>et al.</i> (2016)	90 25-45 years;  1.2 mg of ATV or 1.2 mg of RSV in 0.1 ml in methylcellulose gel.	Only one injection of ATV or RSV in periodontal pocket with a syringe with a blunt cannula (one site per subject)	Chronic periodontitis. PD ≥ 5 mm. CAL ≥ 3 mm. Angular bone loss ≥ 3 mm. (periapical X-rays) Generally healthy. Without antibiotic or periodontal treatment in the last 6 months.	Aggressive periodontitis. History of allergy to statins. Therapy with statins. Systemic condition or drugs that change the periodontal status. Immunosuppression, pregnancy or breastfeeding. Substance/tobacco abuse.	PI for full mouth. mSBI. PD. CAL. Recorded at baseline and 6 and 9 months post-op.	Vertical distance from the alveolar bone crest to the base of the defect at baseline and at 6 and 9 months (digital X-rays)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Table 2: Comparison of the PD, mSBI and intrabony defect decreases, as well as the CAL gain, due to local delivery of SMV, ATV and RSV.

Author	Statin	Evaluation	mSBI	PD	CAL	Intrabony defect
Pradeep & Thorat (2010)	1.2% SMV once	4 months 6 months	2.35 2.32	4.23 mm 4.26 mm	3.96 mm 4.36 mm	NE 1.4 mm
Rath <i>et al.</i> (2012)	1.2% SMV once	3 months 6 months	2.5 2.5	3.1 mm 4 mm	NS	NE 0.57 mm
Pradeep <i>et al.</i> (2012)	1.2% ATV once	3 months 6 months 9 months	1.37 1.65 1.63	2.2 mm 3.4 mm 3.7 mm	2.7 mm 4.2 mm 4.5 mm	NE 1.6 mm 1.7 mm
Pradeep <i>et al.</i> (2012)	1.2% SMV once	3 months 6 months	1.8 2.02	3.06 mm 4.05 mm	3.7 mm 4.6 mm (RVAL)	NE 1.15 mm
Pradeep <i>et al.</i> (2015)	1.2% RSV once	1 month 3 months 4 months 6 months	2.21 3.02 3.47 3.71	3.14 mm 3.31 mm 3.68 mm 4.04 mm	2.31 mm 2.92 mm 3.61 mm 4.2 mm	NE NE NE 2.23 mm

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Pradeep <i>et al.</i> (2016)	1.2% ATV	6 months	1.84	2.33 mm	2.33 mm	2.29 mm
	once	9 months	0.33	1.03 mm	1.0 mm	1.03 mm
		6 months	2.05	3.03 mm	2.88 mm	2.83 mm
	1.2% RSV	9 months	0.34	1.55 mm	1.40 mm	1.48 mm
	once					

For Peer Review



Table 3: Methodology of studies about local delivery of statins in patients with risk factors for periodontitis.

Author	N° Patients; Type of Statins/Dose	Delivery of form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Rao <i>et al.</i> (2013)	40 30-50 years; 1.2 mg/0.1 ml SMV in methylcellulose gel	Only one subgingival injection with a blunt cannula. Multiple sites per subject (posterior pieces)	Generally healthy. Severe chronic periodontitis: PD ≥ 5 mm, CAL ≥ 4 mm and vertical bone loss ≥ 3 mm. Smoking (10 cigarettes/day for at least 5 years)	Periodontal or antibiotic treatment within the last 6 months. Ex-smokers and non-smokers. Known systemic disease. Allergy to the SMV group. Therapy with systemic statins. Aggressive periodontitis. Users of tobacco in any form other than cigarettes, alcoholism, or immunosuppression	mSBI, PI for full mouth and specific site, PD, and CAL at baseline (before the SRP) and at 3, 6 and 9 months.	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects measured by software (distance between the alveolar bone crest and the base of the defect) at baseline and at 6 and 9 months.

Author	N° Patients; Type of Statin/Dose	Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Pradeep <i>et al.</i> (2013) <sup>28</sup>	38 30-50 years; 1.2 mg/0.1 ml SMV in methylcellulose gel	Only one subgingival injection with a syringe with a blunt cannula. Multiple sites per subject (posterior pieces)	Well controlled type 2 diabetes (DM). Chronic periodontitis: PD ≥ 5 mm, CAL ≥ 4 mm and vertical bone loss ≥ 3 mm. Minimum of 20 teeth in mouth	Periodontal or antibiotic treatment in the last 6 months. Known systemic disease. Allergy to SMV. Therapy with systemic statins. Hyperlipidemia or need for a hypolipidemic diet. Aggressive periodontitis, smoking, alcoholism, immunosuppression, pregnancy, or breastfeeding. Pieces with gingival recession, furcation defects, endodontically treated, or presence of third molars.	mSBI, PI for full mouth and specific site, PD, and CAL at baseline (before the SRP) and at 3, 6 and 9 months	Bone fill (standardized digital radiograph with individually customized bite blocks and a parallel-angle technique). Intrabony defects measured by software (vertical distance between the alveolar bone crest and the base of the defect) at baseline and at 6 months

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Author	Nº Patients; Type of Statin/Dose	Delivery form	Inclusion	Exclusion	Clinical variables	Radiographic variables
Kumari <i>et al.</i> (2017) <sup>30</sup>	66 30-50 years; 1.2 mg/0.1 ml ATV in methylcellulose gel	Only one injection in periodontal pocket with a syringe with a blunt cannula (one site per subject)	Chronic periodontitis. PD ≥ 5 mm. CAL ≥ 4 mm. Vertical bone loss ≥ 3 mm. (Periapical X-ray) Generally healthy, without antibiotic therapy or periodontal treatment in the last 6 months. Smoking (10 cigarettes per day for a minimum period of 5 years).	Ex-smokers and non-smokers. Users of tobacco in any way other than cigarettes. Known systemic disease. Known or suspected allergy to ATV. Treatment with systemic statins. Aggressive periodontitis, alcoholism, immunosuppression, pregnancy, or breastfeeding.	PI for full mouth PI for specific site. mSBI. PD. CAL. Recorded at baseline and after 3, 6 and 9 months postoperative period.	Vertical distance between the alveolar bone crest and the base of the defect at baseline and at 6 and 9 months (digital X-rays)

Table 4: Comparison of the PD, mSBI and intrabony defect decreases, as well as the CAL gain, due to local delivery of SMV, ATV and RSV in smokers and diabetic patients.

Author	Statin	Evaluation	mSBI	PD	CAL	Intrabony defect
Pradeep <i>et al.</i> (2013b)	1.2% SMV once	3 months	1.43	2.79 mm	2.48 mm	NE
		6 months	1.73	3.79 mm	3.83 mm	1.38 mm
		9 months	1.66	4.03 mm	3.97 mm	1.62 mm
Rao <i>et al.</i> (2013)	1.2% SMV once	3 months	0.93	2.30 mm	2.13 mm	NE
		6 months	1.18	3.37 mm	3.20 mm	1.17 mm
		9 months	0.88	3.83 mm	3.63 mm	1.51 mm
Kumari <i>et al.</i> (2017)	1.2% ATV once	3 months	1.14	1.54 mm	2.27 mm	NE
		6 months		2.66 mm	3.61 mm	1.44 mm
		9 months		3.84 mm	4.06 mm	1.53 mm
			1.16			
			1.12			

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

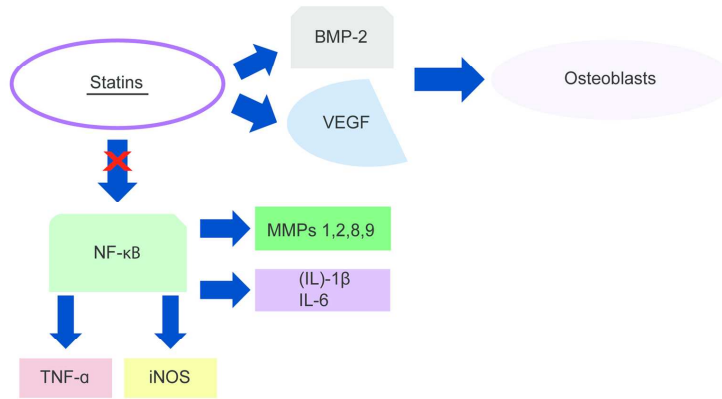


Figure 1: Statins increase the transcription of BMP-2 and VEGF, promoting osteoblast differentiation. Furthermore, statins inhibit the activation of proinflammatory transcription factors, such as NF-κ β, and decrease the levels of MMPs 1/2/8/9, IL-1 β, IL-6, TNF- α, and iNOS.

74x41mm (600 x 600 DPI)

Review

11.6. ANEXO VI. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para el artículo: Efectos clínicos y moleculares del cepillado con dentífrico con atorvastatina al 2%, como complemento al tratamiento periodontal no quirúrgico de pacientes con periodontitis crónica.



Universidad de  
**los Andes**

Santiago, 31 de Octubre de 2012

Señores  
CORFO  
Presente

Estimados Señores:

El Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes, ha recibido el proyecto de investigación titulado **"Efectos clínicos y moleculares del cepillado con dentífrico con atorvastatina al 2% (2 mg por cada 0,1 ml), como complemento al tratamiento periodontal no quirúrgico de pacientes con Periodontitis crónica: Ensayo clínico piloto aleatorio doble ciego."** del que es investigador responsable el Dr. David Rosenberg y que ha sido presentado al CONCURSO DE I + D APLICADA CORFO 2013.

El objetivo del presente proyecto es Evaluar la eficacia del cepillado dental con un dentífrico con atorvastatina al 2% (2 mg por cada 0,1 ml) en el mejoramiento de los niveles clínicos y moleculares, en pacientes adultos luego del tratamiento no quirúrgico de periodontitis crónica, comparado con placebo.

Para esos efectos se propone realizar un ensayo clínico en 38 pacientes con Periodontitis crónica, todos los cuales serán sometidos a destartraje y pulido radicular con asignación aleatoria con dos grupos paralelos (1:1). A uno de los grupos se les entregará una pasta dental con flúor convencional y al otro se le entregará una pasta dental de las mismas características pero agregando atorvastatina al 2%.

Se trata de un estudio bien diseñado y cuyo tamaño muestral esta bien justificado. El consentimiento informado es adecuado, se especifican los objetivos del estudio, se explican los posibles riesgos, la voluntariedad en la participación, la confidencialidad del manejo de la información, junto con la posibilidad de retirarse del estudio en caso de ser deseado.



Universidad de  
**los Andes**

*Tomando en cuenta lo anteriormente enunciado, el Comité de Ética no presenta reparos éticos en la realización de este proyecto.*

*Sin otro particular, saludan atentamente*

Dr. Alejandro Serani M.  
Presidente

Dr. Rodolfo Calderón R.  
Secretario Académico



11.7. ANEXO VII. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para investigación *In vitro*.



Universidad de los Andes  
Santiago-Chile

*Santiago, 30 de Mayo, 2013*

*Profesor  
Dr. David Rosenberg Messina  
Presente*

*Estimado Profesor Rosenberg:*

El Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes ha revisado el protocolo de investigación titulado: **"Pasta dental medicada con atorvastatina inhibe de forma significativa la proliferación de células T CD4+: Un estudio piloto in vitro."** del que es usted investigador responsable.

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto inmunomodulador de una pasta dental medicada con atorvastatina al 2% sobre la proliferación de linfocitos T CD4+ desde sangre periférica humana.

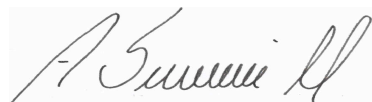
El Comité de Ética estima que el tema a tratar es relevante. La metodología a utilizar es consistente con los



objetivos planteados. Además, el grupo de investigadores tiene experiencia en la materia.

Tomando en cuenta lo anteriormente enunciado, el Comité de Ética no presenta reparos éticos en la realización de este proyecto.

Sin otro particular, saludan atentamente



Dr. Alejandro Serani Merlo  
Presidente



Dra. Colomba Cofré Dognac  
Vice-presidente



Comité de Ética  
Facultad de Medicina  
Universidad de los Andes

11.8. ANEXO VIII. Carta de aprobación por el Comité de ética de la Universidad de los Andes, para estudio de seguimiento de una cohorte según consumo sistémico de estatinas.



Universidad de los Andes  
Santiago-Chile

*Santiago, 12 de Noviembre, 2012*

***Profesor***  
***Dr. David Rosenberg Messina***  
***Presente***

*Estimado Profesor Rosenberg:*

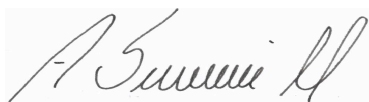
El Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes ha revisado el protocolo de investigación titulado: “Cambios del estado clínico periodontal según consumo sistémico de estatinas” del que es usted investigador responsable.

El objetivo de este estudio es describir los cambios del estado clínico periodontal de una cohorte de pacientes a los que debido a su condición de salud cardiovascular, un cardiólogo les indicará el consumo sistémico de estatinas. El estudio descriptivo se realizará en pacientes con periodontitis crónica derivados desde el departamento de enfermedades cardiovasculares de la Clínica Dávila.

El Comité de Ética estima que el tema a tratar es relevante, su metodología es consistente con los objetivos planteados y el grupo de investigadores tiene una adecuada experiencia en la materia.

Tomando en cuenta lo anteriormente enunciado, el Comité de Ética no presenta reparos éticos en la realización de este proyecto.

Sin otro particular, se despiden cordialmente de usted,



**Dr. Alejandro Serani Merlo**  
*Presidente*



**Dra. Colomba Cofré Dougnac**  
*Vice-presidente*



**Comité de Ética**  
*Facultad de Medicina*  
*Universidad de los Andes*

## 11.9. ANEXO IX. Carta de aprobació per Comitè de ètica de la Universitat Internacional de Catalunya.



### CARTA DE CONFORMITAT DEL CER PER A PROJECTES AVALUATS I APROVATS PER UN CEIC

Codi de l'estudi: PER-ECL-2012-07

Versió del protocol: 1.0

Data de la versió: 17/12/12

Títol: "Asociación entre consumo de estatinas y estado periodontal: estudio de cohorte"

Sant Cugat del Vallès, 15 de gener de 2013

**Investigador: David Rosenberg Messina**

**Títol de l'estudi: "Asociación entre consumo de estatinas y estado periodontal: estudio de cohorte"**

Benvolgut (da),

Valorat el projecte presentat, el CER de la Universitat Internacional de Catalunya, considera que, des del punt de vista ètic, reuneix els criteris exigits per aquesta institució i, per tant, ratifica l'aprovació dels CEICs aportada, d'acord amb el reglament vigent.

Em permeto recordar-li que si en el procés d'execució es produís algun canvi significatiu en els seus plantejaments, hauria de ser sotmès novament a la revisió i aprovació del CER.

Quedo a disposició per a qualsevol dubte o aclaració al respecte.

Atentament,



**Dr. Josep Argemí**  
**President CER-UIC**

11.10. ANEXO X. Carta de adjudicación fondos de investigación INNOVA Corfo. Contratos tecnológicos para la Innovación.



N° 637

Subdirección Jurídica

**CON ANEXOS**



REF.: NOTIFICA RESOLUCIÓN ELECTRÓNICA (E)  
N° 252, DE 2015 PROYECTO "Producto Tópico  
Dental en Base a Nanopartículas y Estatinas para  
Tratamiento de Enfermedades Periodontales"  
CÓDIGO 15COTE-46286

Señor (a)  
**DAVID RAFAEL ROSENBERG MESSINA**  
Representante  
ODONTOLOGIA DRM LIMITADA  
AV. LA DEHESA 1939, OFICINA 301  
LO BARNECHEA - SANTIAGO

De nuestra consideración:

Tengo el agrado de notificar a usted la Resolución Electrónica (E) N° 252, de 2015, del Comité InnovaChile, que aprueba el convenio de subsidio celebrado el 19 de noviembre de 2015, con ODONTOLOGIA DRM LIMITADA, para la ejecución del proyecto denominado "Producto Tópico Dental en Base a Nanopartículas y Estatinas para Tratamiento de Enfermedades Periodontales" código 15COTE-46286, cuya copia íntegra se anexa.


Es importante tener presente que, desde la fecha de la presente comunicación, la cual se envía paralelamente al correo electrónico de contacto individualizado en la postulación, se empieza a contar el plazo de ejecución para las actividades del proyecto.


Sin otro particular, saluda atentamente a Usted,

  
**Luis Felipe Marró Freite**  
Coordinador Subdirección Jurídica  
InnovaChile de Corfo

Adj.: Lo indicado.  
C.c.: - INNOVACION EMPRESARIAL.  
- Subdirección Jurídica.

11.11. ANEXO XI. Carta de adjudicación de fondos de investigación INNOVA Corfo I+D aplicada L1.





RSG/crc  
Nº 592

**COPIA**

Subdirección de Transferencia Tecnológica  
**OFICINA DE PARTES**  
15.04.13 003543  
**SANTIAGO**

REF.: COMUNICA ADJUDICACIÓN DE POSTULACIÓN PRESENTADA AL CONCURSO PERFIL DE I+D APLICADA "DESARROLLO DE UN PRODUCTO TÓPICO DENTAL INMUNOMODULADOR PARA LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL", CÓDIGO: 13IDL1-18270

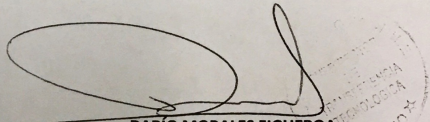
Señor  
**ORLANDO VICTOR ANTONIO POBLETE ITURRATE**  
Representante Legal  
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
AV. SAN CARLOS DE APOQUINDO 2200  
**SANTIAGO**

De mi consideración:

En relación a la materia de la referencia, cumpla con informar que el Subcomité de Transferencia Tecnológica, en su sesión Nº 178, celebrada el día 4 de abril de 2013, mediante **Acuerdo N°2.12**, puesto en Ejecución por Resolución (E) N°390 de 2013, de la Dirección Ejecutiva de InnovaChile de Corfo, ha resuelto **adjudicar** para su ejecución el Perfil, denominado "**DESARROLLO DE UN PRODUCTO TÓPICO DENTAL INMUNOMODULADOR PARA LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL**", código: **13IDL1-18270**, postulado al Concurso "PERFIL DE I+D APLICADA", asignándole financiamiento por un monto de hasta \$ 14.996.000.- (CATORCE MILLONES NOVECIENTOS NOVENTA Y SEIS MIL PESOS), con las condiciones señaladas vía e-mail por su ejecutivo técnico.

Recordamos a usted que en conformidad con lo establecido en las bases que rigen este Concurso, numeral N°8, las garantías del proyecto deberán constituirse dentro de un plazo de 30 días a contar de la fecha de esta carta.

Saluda atentamente a Ud.,

  
**DARÍO MORALES FIGUEROA**  
Subdirector de Transferencia Tecnológica  
InnovaChile de Corfo

C.c.: Sr. David Rosenberg, Director de Proyecto.  
Sra. Paola Blazquez, Ejecutivo Técnico InnovaChile.  
Srta. María Inés Mena, Ejecutiva InnovaChile

Moneda 921, Santiago, Chile | 600 631 8222 | www.corfo.cl

11.12. ANEXO XII. Carta de adjudicación Fondo Concursable FAI (Fondo de ayuda a la investigación) por la Universidad de los Andes.

Santiago, 31 de julio de 2014

Profesor  
David Rosenberg M.  
Facultad de Odontología  
Universidad de los Andes  
Presente

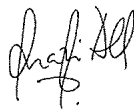
Estimado David:

Como es de su conocimiento en abril se cerró el concurso "Iniciación" del Fondo de Ayuda la Investigación – FAI 2014 orientado a nuevos investigadores y que tiene por objeto financiar la preparación de un trabajo traducible en al menos una publicación, ya sea un libro o un artículo en una revista ISI o Scielo.

Tengo el agrado de comunicarle que una vez revisados los antecedentes del proyecto " Efecto de una pasta dental con atorvastatina al 2% en el patrón de diferenciación de LT CD4+ a linajes Th1, Th17 y Tregs: un estudio in vitro", su postulación ha sido beneficiada con la suma de \$ 5.000.000.

Para coordinar el inicio del proyecto y ejecución del mismo, le ruego contactarse con la Coordinadora de Investigación, Rosario Del Villar: rdelvillar@uandes.cl.

Le saluda atentamente,



Prof. Orazio Descalzi  
Director de Investigación  
Universidad de los Andes

## 11.13. ANEXO XIII. Carta de adjudicación de presentación de póster de investigación en Jornadas Científicas en Salud UAndes.



Universidad de  
**los Andes**

Santiago, noviembre 10 de 2015



Apreciado Investigador:

Tras una exhaustiva revisión por parte del Comité Científico de las Jornadas Científicas en Salud de la Universidad de los Andes a realizarse los días jueves 26 y viernes 27 de noviembre del año 2015, nos es grato informarle que su(s) trabajo(s) ha quedado seleccionado.

Agradeceremos a usted revisar el archivo adjunto en el que se estipula la modalidad de presentación oral o poster, el día y la hora de ésta.

Debido al gran número de trabajos recibidos solicitamos a ustedes la máxima colaboración para que exista fluidez y cumplimiento de los horarios determinados para cada modalidad. Por tal motivo a los investigadores que les corresponde modalidad oral les solicitamos encarecidamente que sus presentaciones sean cargadas en los computadores correspondientes entre las 7.45 y las 8.20 hrs. am en ambos días.

Para los investigadores que presentaran en modalidad poster les solicitamos que se cumplan con las características del tamaño y hora de instalación de ellos en los paneles entre las 7.45 y 8.20 am del día correspondiente; el número del panel que le corresponderá será indicado por los Asistentes de las Jornadas que se encontrarán a la entrada del Edificio Biblioteca para ayudarles. Le recordamos que el tamaño del poster es de 80x140 cms. en formato vertical.

Todas las instrucciones las ha recibido mediante el documento de bases de las Jornadas.

En nombre del Comité Científico se valora el esfuerzo y dedicación, lo felicitamos e invitamos a continuar en la generación de nuevos conocimientos en beneficio de nuestra sociedad.

Saluda atentamente a usted,

Dra. María Teresa Valenzuela B.  
Vicedecana Investigación y Postgrado  
Facultad de Medicina  
Universidad de los Andes



> Monseñor Álvaro del Portillo 12.455  
Las Condes - Santiago - Chile

> Tel (56 -2) 2618 1000

> uandes.c