



## ARTÍCULOS ORIGINALES / *Originals*

# EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN LOCAL DE PTH 1-34 A BAJAS DOSIS EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE PERIODONTITIS: ESTUDIO PILOTO

Marina Soledad Bonanno<sup>1,2</sup>, Estefanía Magalí Zeni Coronel<sup>1,3</sup>, Mariana Seijo<sup>1</sup>, María Eugenia Avendaño<sup>1,4</sup>, Nicolás Lautaro Bidevich<sup>5</sup>, Mariana Preliasco<sup>4</sup>, Mario Ricardo Davison<sup>5</sup>, Susana Noemí Zeni<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Osteopatías Metabólicas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Hospital de Clínicas José de San Martín. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup>Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires (FOUBA). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>3</sup>Cátedra de Estadística, Facultad de Veterinaria (FVet), Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>4</sup>Cátedra de Diagnóstico por Imágenes I. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Cuyo (UNCUYO). Ciudad Mendoza, Argentina

<sup>5</sup>Carrera de Odontología, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Río Negro (UNRN). Río Negro, Argentina

## Resumen

La periodontitis es una patología inflamatoria que aumenta la resorción de hueso alveolar (HA), pérdida de la inserción dentaria y posible exfoliación.

Evaluamos el efecto de la administración intermitente de bajas dosis de parathormona (PTH) 1-34 sobre la recuperación de la masa ósea pérdida en un modelo experimental de periodontitis inducida por una ligadura periodontal (LP) con hilo de algodón alrededor de la pieza dentaria.

Las ratas fueron divididas luego de 5 días en instaurada la periodontitis en: CT LP sin tratamiento y PTH LP tratados con 0,2 µg/kg PTH

1-34 subcutánea local, tres veces por semana por 17 días. El control absoluto fue un tercer grupo sin LP (CT). Se estudiaron parámetros antropométricos, bioquímicos e histomorfométricos en tibias y hemimandíbulas.

La calcemia, fosfatemia, CTX sérico, PTHi y volumen óseo (BV/TV%) de tibias fueron similares en los tres grupos. El BV/TV% del HA fue significativamente menor en PTH LP respecto de CT pero mayor que CT LP ( $p < 0.05$ ). La pérdida ósea de HA porcentual fue significativamente mayor en CT LP ( $p < 0.05$ ). La altura del ligamento periodontal fue significativamente menor en PTH LP que en CT ( $p < 0.05$ ) y mayor respecto de CT LP, sin alcanzar diferencias significativas.

\*E-mail: [snzeni@hotmail.com](mailto:snzeni@hotmail.com)

Los resultados del presente estudio piloto sugieren que la administración intermitente de PTH en bajas dosis y durante un periodo de tiempo corto disminuye la progresión de la enfermedad periodontal sin generar efectos sistémicos. Como no se logró regenerar

totalmente el tejido periodontal se requieren estudios adicionales.

**Palabras clave:** periodontitis, PTH 1-34, pérdida ósea, pérdida de la pieza dentaria, terapia regenerativa.

## **Abstract**

### **LOCAL EFFECTS OF LOW DOSE OF PTH 1-34 ON EXPERIMENTAL PERIODONTITIS: PILOT STUDY**

*Periodontitis is an inflammatory chronic disease with high prevalence in adults that induces a progressive alveolar bone (AB) loss leading to tooth loss. Experimental periodontitis can be induced in rats by cotton ligature placement (LP) in the gingival sulcus around the molar teeth. The biofilm accumulation and disruption of the gingival epithelium lead to bone resorption. We investigated whether intermittent administration of a low dose of PTH 1-34 may recover the alveolar bone loss in the experimental periodontitis induced in female Wistar rats. Animals were randomly divided in two groups which were subcutaneously injected with: saline solution (CT LP) or 0,2 µg/kg PTH 1-34 (PTH LP) three times per week during 17 days. Unligated rats were taken*

*as healthy controls (CT). Anthropometric, biochemical and histologic analysis of tibia and hemimandible were done.*

*No differences in serum calcium, phosphorus, CTX, PTHi or subchondral tibia bone volume (BV/TV%) were observed between the three groups. AB BV/TV% was significantly lower in PTH LP than in CT but higher than in CT LP ( $p < 0.05$ ). The highest percentage of AB loss was observed in CT LP. The height of periodontal ligament was lower in PTH LP than in CT ( $p < 0.05$ ) but not significantly higher than CT LP.*

*The increase in AB loss by experimental periodontitis appears to be corrected by the intermittent administration of low doses of PTH without systemic effect. As the recovery of periodontal tissue was only partial, additional studies should be done.*

**Key words:** *periodontitis, PTH 1-34, bone loss, tooth loss, regenerative therapy.*

## **Introducción**

La enfermedad periodontal (EP) abarca una amplia variedad de patologías infecciosas, inflamatorias crónicas que afectan a los tejidos que sostienen al diente.<sup>1,2</sup> La EP está considerada como un problema de salud pública ya que constituye la principal causa de pérdida de piezas dentarias, lo cual compromete a la masticación trayendo aparejado problemas nutricionales, compromiso estético,

y disminución de la confianza, de la calidad de vida y de la salud de los pacientes.<sup>3</sup>

La EP comienza con una inflamación localizada o gingivitis, producida por las bacterias de la placa dental.<sup>1</sup> El progreso de la respuesta inflamatoria da lugar a periodontitis crónica, caracterizada por una acelerada resorción ósea del hueso alveolar (HA), degradación de las fibras del ligamento periodontal y formación de tejido de granulación.<sup>1</sup> El desequilibrio



producido por la colonización bacteriana y la reacción inflamatoria amplifica la respuesta inmune lo cual genera la liberación de citoquinas que conducen a la pérdida periodontal progresiva y, eventualmente, a la exfoliación del diente.<sup>1,2</sup>

A pesar de que la periodontitis se inicia y sostiene por las bacterias del biofilm, factores genéticos, culturales e individuales del hospedador, especialmente aquellos que viven en países en vías de desarrollo, modifican la velocidad con que se desarrolla la patología.<sup>3</sup> La periodontitis se produce principalmente en adultos mayores, pero se manifiesta a cualquier edad, siendo altamente prevalente a nivel global.<sup>4</sup>

La periodontitis es habitualmente tratada por medios mecánicos que involucran prácticas quirúrgicas y no quirúrgicas.<sup>1</sup> Sin embargo, las terapias convencionales no apuntan a la regeneración del tejido de soporte de la pieza dentaria perdido. Por ello, es necesario investigar nuevos enfoques farmacológicos tendientes a controlar el proceso inflamatorio pero, al mismo tiempo, lograr la regeneración periodontal, atacando los dos procesos patológicos involucrados en su etiología: pérdida ósea e inflamación.<sup>5</sup> En este sentido, se ha evaluado la administración local de agentes con efectos moduladores sobre la inflamación y el metabolismo óseo, incluyendo factores de crecimiento, anti citoquinas y hormonas.<sup>6</sup>

La parathormona (PTH) es la principal hormona reguladora de la homeostasis fosfocálcica. Actúa aumentando la resorción ósea, reabsorción tubular de calcio (Ca) y síntesis del metabolito activo de la vitamina D (VD) en respuesta a la hipocalcemia.<sup>7,8</sup> Además de su efecto catabólico sobre hueso, la PTH presenta efectos anabólicos dependiendo del modo de administración.<sup>8,9</sup> La liberación continua de PTH por la glándula paratiroidea estimula la actividad y la supervivencia de osteoclastos llevando a un aumento neto de la resorción sobre la formación, que se traduce en la pérdida de masa ósea.<sup>9</sup> El tratamiento

intermitente con PTH 1-84 o PTH 1-34 estimula el recambio óseo induciendo una ventana terapéutica donde existe un neto predominio de la formación sobre la resorción ósea, lo cual conduce a un aumento en el volumen óseo.<sup>9,10,11,12</sup> Por otra parte, ambos tipos de PTH han mostrado efectos antiinflamatorios en distintos modelos experimentales incluyendo el de periodontitis.<sup>13,14,15</sup>

El uso de ratas y ratones como modelo experimental de periodontitis inducida por ligadura periodontal (LP), es hoy ampliamente utilizado para estudiar el mecanismo de progresión de la enfermedad y ensayar nuevos tratamientos.<sup>16</sup> La LP colocada alrededor de la pieza dentaria conduce a la acumulación local de placa subgingival promoviendo la inflamación mediada por bacterias y la pérdida ósea.<sup>16</sup>

La mayoría de los trabajos reportados hasta el momento sobre el efecto de PTH en distintos modelos de periodontitis experimentales utilizaron tratamientos sistémicos con distintas dosis (40 o 50 µg/Kg por aplicación), con tratamientos coadyuvantes y largos tiempos de exposición.<sup>17,18,19</sup> Sin embargo, la administración sistémica de PTH 1-84 como 1-34 en las dosis hasta ahora utilizadas y a largo plazo evidencias problemas de seguridad.<sup>18</sup> En base a ello, sería importante evaluar si el tratamiento local con bajas dosis de PTH durante un tiempo corto podría ofrecer beneficios similares sin los inconvenientes sistémicos planteados.

Sobre estas bases, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la administración intermitente de bajas dosis de PTH 1-34 sobre la recuperación de la masa ósea perdida en un modelo experimental de periodontitis.

## Materiales y métodos

### Animales

Se utilizaron un total de 14 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) hembras vírgenes de 200±20 g de peso corporal, con dentición

normal provenientes del Laboratorio Central de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA). El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Río Negro (UNRN). Durante toda la experiencia se cumplió con las pautas de la Guía para el cuidado y el uso de animales de laboratorio.<sup>19</sup>

Los animales fueron alojados en jaulas galvanizadas, con pisos de malla para mantener condiciones higiénicas y evitar la coprofagia, manteniendo ciclos de luz/oscuridad de 12 hs, temperatura ambiente de  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa del 50-60%. Se permitió el libre acceso a agua desionizada y alimentación con una dieta estándar comercial para ratas adultas (Granave S.A.).

#### *Diseño experimental*

Los animales fueron divididos inicialmente al azar, en dos grupos de peso similar: con ligadura periodontal (LP) (n=9) y controles sin LP (n=5). Luego de 5 días de instaurada la periodontitis experimental, el grupo LP se subdividió al azar, conformándose los 3 grupos de estudio:

- CT (n=5): animales control sin LP
- CT LP (n=4): animales controles con LP
- PTH LP (n=5): animales con LP y tratados con PTH

Para realizar la LP, todos los animales en el primer día del estudio fueron anestesiados levemente mediante inyección intraperitoneal de una mezcla de clorhidrato de xilacina (10 mg/Kg) y ketamina (80 mg/Kg). La realización de la LP consistió en colocar una ligadura de hilo de algodón alrededor del cuello del primer molar inferior izquierdo.<sup>20</sup> La ligadura fue introducida en el surco gingival y se revisó cada 2 días para asegurar la permanencia en la región. La LP fue reemplazada en cada uno de los animales con una frecuencia semanal. El maxilar derecho sin LP se utilizó como control no ligado. El peso corporal fue medido semanalmente.

A partir del día 5, una vez instaurada la periodontitis, se comenzó con el tratamiento farmacológico. El grupo PTH LP recibió inyecciones subcutáneas locales de 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de PTH 1-34 tres veces por semana, rotando el sitio de punción. Los grupos CT y CT LP recibieron el mismo número de aplicaciones de igual volumen de solución fisiológica.

Al día 17 del estudio, todos los animales fueron sacrificados por exanguinación total, bajo anestesia general por la administración intraperitoneal de la mezcla citada precedentemente. Al momento de la eutanasia, se realizó extracción de sangre y *postmortem* se extirparon ambas hemimandíbulas y ambas tibias. Las muestras tomadas se utilizaron para realizar estudios antropométricos, histomorfométricos y bioquímicos.

#### *Análisis bioquímico*

La sangre fue centrifugada, el paquete de glóbulos fue separado y el suero se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

El calcio sérico (sCa) se determinó por espectrofotometría de absorción atómica a 423 nm, usando cloruro de lantano ( $6500 \text{ mg L}^{-1}$ ) como supresor de interferencia.<sup>21</sup> El fosfato sérico (sPi) se determinó por el método colorimétrico UV-visible, usando un kit comercial (Phosphorus, BioSystems S.A., España). PTH intacta (PTH<sub>i</sub>) y  $\beta$ -CrossLaps (CTX) fueron evaluados por metodología ELISA utilizando kits comerciales (Rat Parathormone Intact y Rat C-telopeptide of collagen, respectivamente, MyBioSource, Estados Unidos).

#### *Histología e histomorfometría*

Inmediatamente después de la eutanasia, las hemimandíbulas (correspondientes a los 3 molares inferiores) y las tibias derechas removidas, se limpiaron de tejido blando y se fijaron en una solución buffer de formol-PBS al 10% durante 48 hs. Posteriormente se descalcificaron en EDTA a pH 7 durante 25 días y luego se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes subcondrales (8-10  $\mu\text{m}$ ) longitudinales



de tibia en el nivel del tercio medio, incluida la esponjosa primaria y secundaria, y mesio-distales de hemimandíbulas. Los cortes se colorearon con hematoxilina y eosina y las determinaciones histomorfométricas fueron realizadas sobre microfotografías (OLYMPUS CX31 Germany y Infinity1 Lumenera, Canadá) usando el software Image ProPlus 4.5.0.29.

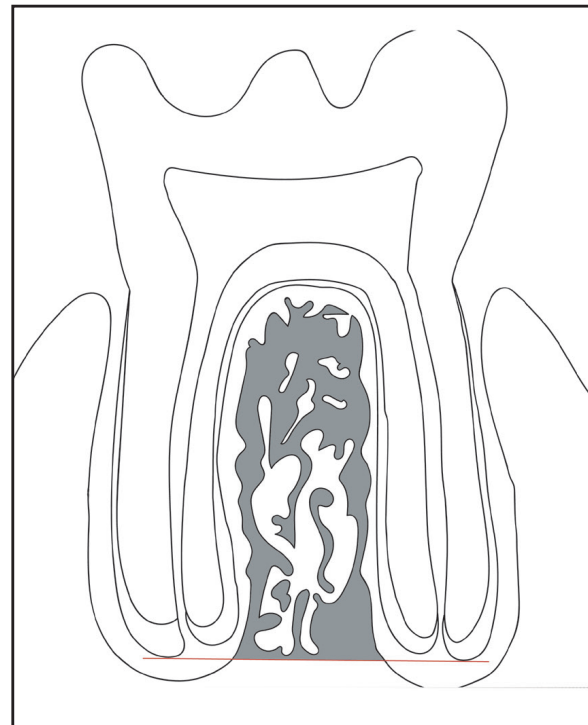
Las tibias izquierdas se lavaron con solución salina y fueron desengrasadas en una solución de cloroformo-metanol (3:1), durante 30 días. La solución se reemplazó cada 4 días. Luego, las tibias se secaron en un horno a 100°C durante 48 hs, se pesaron con balanza de precisión y se midieron con calibre Vernier (Mitutoyo, Japón).<sup>22</sup>

Se evaluaron los siguientes parámetros histomorfométricos.<sup>20,21,22</sup>

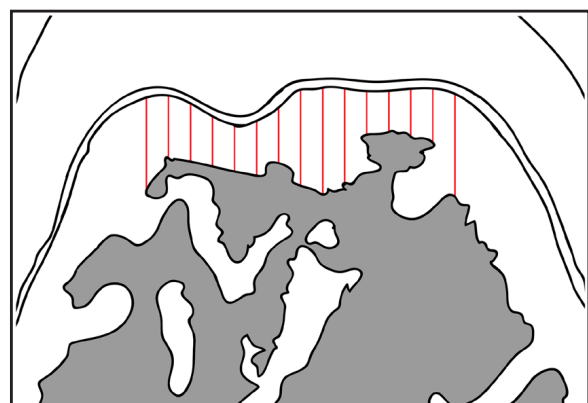
- Volumen óseo (BV/TV%) subcondral de las tibias definido como el porcentaje de hueso esponjoso dentro del área total subcondral medida.
- BV/TV% del HA interradicular del primer molar inferior definido como el porcentaje del área interradicular total ocupada por tejido óseo. El área interradicular total comprende el HA interradicular, la médula ósea y el ligamento periodontal interradicular (Fig. 1).
- La pérdida ósea se calculó mediante la relación porcentual entre el BV/TV% de los grupos experimentales respecto del grupo control.
- Medición de la altura del ligamento periodontal (ALP) tomando 15 puntos equidistantes y midiendo el largo de la línea entre la cresta alveolar del HA y cemento acelular (Fig. 2).

#### Análisis estadístico:

Los datos se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. La normalidad y la homogeneidad de las varianzas se evaluaron mediante la prueba Shapiro Wilk y la prueba de Levene, respectivamente. Los datos fueron analizados con ANOVA de una vía y cuando se encontró diferencias significativas se utilizó el test de Bonferroni *pos hoc* para detectar



**Figura 1.** Dibujo esquemático del molar de rata *in situ*. En gris está representado el hueso alveolar (HA) interradicular y la línea roja une los ápices de la pieza dentaria. Los ápices se toman como límite del espacio total interradicular del cual se determinó el BV/TV% del HA.



**Figura 2.** Dibujo esquemático de la altura del ligamento periodontal (ALP). En gris está representado el hueso alveolar (HA) interradicular y las líneas rojas representan las distancias equidistantes que se midieron entre el cemento acelular y la superficie ósea del HA para determinar la ALP.



diferencias en las medias de los distintos grupos. Los análisis fueron realizados con el software InfoStat (versión 2020). La significación estadística fue establecida para un valor  $p < 0,05$ .

## Resultados

Todos los animales se mantuvieron en buen estado de salud durante la experiencia, no se observaron signos clínicos de infección sistémica o mortalidad en ninguna de las ratas en ningún momento.

### Determinaciones zoométricas

A tiempo final el grupo PTH LP alcanzó un peso corporal significativamente mayor que los otros dos grupos evaluados, lo cual se reflejó en el peso y la longitud de las tibias (Tabla 1).

### Determinaciones bioquímicas

A tiempo final no se observaron diferencias significativas en los niveles de sCa, sPi, CTX y PTHi entre los tres grupos estudiados (Tabla 1).

**Tabla 1.** Parámetros zoométricos, bioquímicos e histomorfométricos de tibias y de hueso alveolar (HA) interradicular del primer molar inferior.

Parámetro	CT	CT LP	PTH LP
<i>Determinaciones zoométricas</i>			
Peso corporal final (g)	211,3±6,0 <sup>a</sup>	213,4±8,9 <sup>a</sup>	241,0±8,3 <sup>b</sup>
Peso tibias (g)/Peso corporal (g)	0,164±0,008	0,167±0,006	0,154±0,006
Longitud tibias (mm)/Peso corporal (g)	0,0015±0,0002	0,0015±0,0001	0,0016±0,0001
<i>Determinaciones bioquímicas</i>			
sCa	9,8±0,2	9,9±0,3	9,9±0,2
sPi (mg/dL)	6,4±0,6	6,1±0,2	5,9±0,4
PTHi (pg/mL)	12,6±3,6	12,8±2,7	13,0±1,7
CTX (pg/mL)	15,5±8,2	17,9±9,8	18,2±9,1
<i>Histomorfometría</i>			
BV/TV% Tibias	38,75±2,59	38,29±3,60	37,75±1,45
BV/TV% HA	48,62±5,6 <sup>b</sup>	36,40±4,40 <sup>a</sup>	43,84±1,72 <sup>b</sup>
Pérdida ósea (%)		25,14±9,05 <sup>b</sup>	9,82±3,54 <sup>a</sup>
ALP (mm)	0,196±0,057 <sup>a</sup>	0,809±0,115 <sup>b</sup>	0,706±0,065 <sup>b</sup>

Abreviaturas: CT= animales control sin ligadura periodontal; CT LP= animales control con ligadura periodontal, PTH= animales con ligadura periodontal y tratados con parathormona; sCa= calcio sérico; PiS= fósforo sérico; PTHi= parathormona intacta; CTX=  $\beta$ -CrossLaps sérico BV/TV%= volumen óseo, HA= hueso alveolar; ALP= altura del ligamento periodontal.

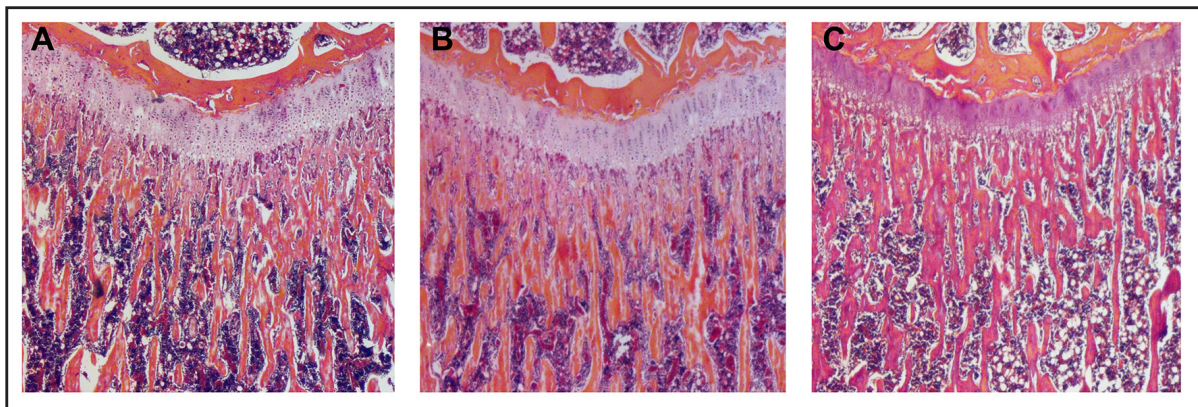


### Histología del tejido óseo

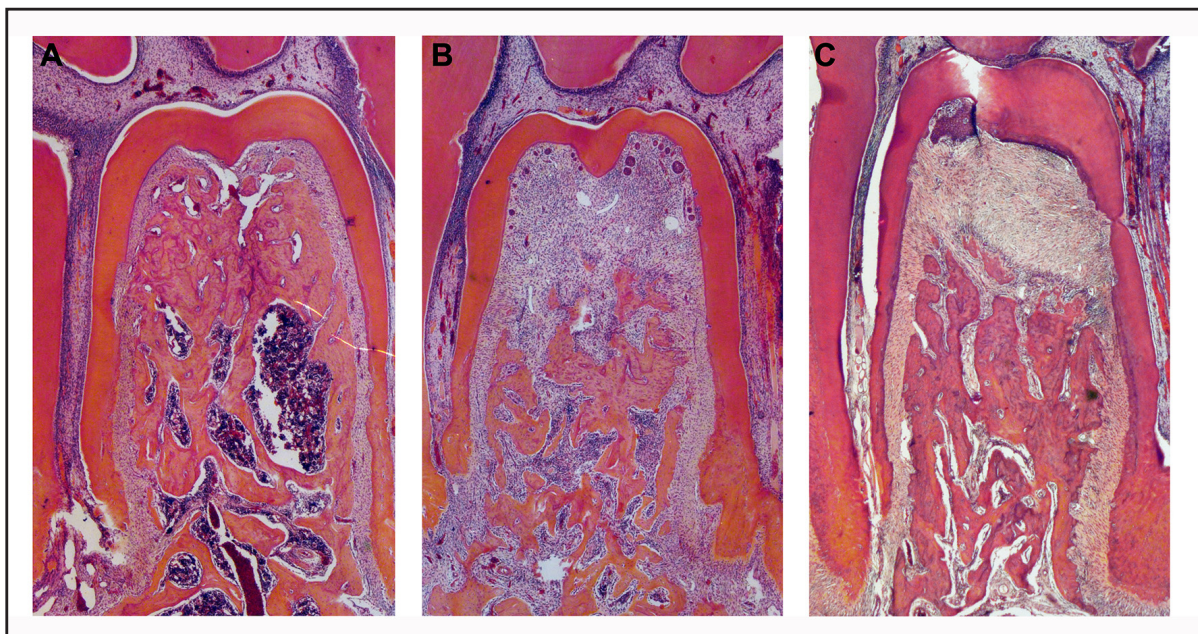
No se observaron diferencias significativas en el BVTV% de las tibias de los tres grupos estudiados (Tabla 1 y Fig. 3).

El BV/TV% del HA del grupo PTH LP presentó valores significativamente menores que en el grupo CT pero mayores que en el grupo

CT LP ( $p < 0.05$ ) (Tabla 1). La pérdida ósea porcentual calculada fue significativamente mayor en el grupo CT LP que en el grupo PTH LP ( $p < 0.05$ ). La ALP del grupo PTH LP fue significativamente menor que en el grupo CT ( $p < 0.05$ ) aunque mayor respecto del grupo CT LP sin alcanzar diferencias significativas.



**Figura 3.** Microfotografías del área subcondral de las tibias: A) CT: Control sin ligadura periodontal; B) CT CL: Control con ligadura periodontal y C) PTH: animales con ligadura periodontal y tratados con parathormona (Tinción H&E, 20X).



**Figura 4.** Microfotografías del área interradicular del primer molar inferior izquierdo donde fue medido el BV/TV% del hueso alveolar (HA) y la altura del ligamento periodontal. A) CT: Control sin ligadura periodontal; B) CT CL: Control con ligadura periodontal y C) PTH: animales con ligadura periodontal y tratados con parathormona (Tinción H&E, 20X).

## Discusión

La periodontitis es la undécima afección con mayor prevalencia mundial.<sup>3</sup> Se trata de una patología inflamatoria caracterizada por el aumento en la resorción de HA y una pérdida del resto de los tejidos de inserción dentaria que lleva a su exfoliación. Entre los factores implicados en el aumento de la resorción ósea fueron identificados los lipopolisacáridos (LPS) o endotoxinas presentes en las paredes celulares de las bacterias gram-negativas.<sup>14</sup> Asimismo, la inflamación local inducida por la placa bacteriana da lugar a la producción de citoquinas que contribuyen a la activación de odontoclastos y, la consecuente resorción del HA. Los tratamientos actuales para periodontitis sólo la corrigen parcialmente, por lo cual sería de gran utilidad contar con un tratamiento capaz de regenerar los tejidos perdidos y al mismo tiempo controlar el efecto inflamatorio.

La PTH, secretada por las glándulas paratiroides en forma continua, es la principal hormona reguladora del remodelamiento óseo dando lugar a un neto predominio de la resorción sobre la formación ósea. El proceso resorptivo es indirecto ya que requiere de la unión de PTH a su receptor 1 asociado a proteína G (PTH1R) presente en preosteoblastos, osteoblastos, osteocitos y células de recubrimiento óseo, pero también en cementoblastos, macrófagos, células T y células estromales.<sup>8,10,23,24</sup> La señal PTH/PTH1R en osteoblastos aumenta la expresión de RANKL,<sup>25</sup> el cual favorece la diferenciación y actividad osteoclástica y con ello un aumento de la resorción ósea. Contrariamente, la administración intermitente PTH, a través de la activación de distintos mecanismos, favorece el recambio óseo, con un neto predominio de la formación sobre la resorción ósea.<sup>9,10,11,12</sup> Por un lado, la señal PTH/PTH1R estimula la expresión del factor de transcripción específico del linaje osteoblástico Runx2, aumentando el número de osteoblastos activos.<sup>8</sup> Por otra parte, la PTH activa la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y

libera distintos factores de crecimiento (Jagged-1, IGF-1, TGF $\beta$ , y FGF2) que favorecen la proliferación, diferenciación y que, al mismo tiempo, disminuyen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos.<sup>7,10,23</sup> Sobre estos últimos disminuye, además, la expresión de esclerostina, inhibidor de la vía Wnt.<sup>8,25</sup> Si bien estos efectos fueron observados principalmente, sobre el esqueleto total, también fue reportado el aumento de masa ósea en el HA.<sup>14,26,27</sup> En este sentido, la administración de PTH promueve la reparación ósea en el contacto hueso/implante dental<sup>5</sup>, mejora la cicatrización periodontal<sup>24</sup> y promueve la reparación periodontal mejorando la proliferación y diferenciación de las células del ligamento periodontal.<sup>24</sup> Por otra parte, se observó que el tratamiento con PTH disminuye la infiltración de células inflamatorias<sup>13,14,28,29</sup> y puede ejercer efectos antiinflamatorios al prevenir o revertir los efectos proinflamatorios asociados a lipopolisacáridos (LPS).<sup>14</sup> Sin embargo, los tratamientos intermitentes en forma prolongada con PTH estimulan indirectamente la actividad de los osteoclastos aumentando la expresión osteoblástica y osteocítica de RANKL,<sup>25</sup> lo cual conduce a efectos adversos no deseados. Por lo tanto, la acción de la PTH en el proceso de remodelamiento óseo, anabólico o catabólico, no sólo dependerá de la periodicidad (continua o intermitente) sino también de la duración del tratamiento y la dosis administrada.

Estudios previos en los que se utilizó el modelo experimental de periodontitis en ratas mediante ligadura del primer molar, reportaron que la pérdida del HA se prevenía por la administración de elevadas dosis de PTH1-34 (40-50ug/kg), 3 veces por semana durante 1 mes.<sup>14,26,27</sup> Sin embargo, los resultados observados en los distintos estudios fueron diferentes. Kim y et al.<sup>27</sup> en ratas machos con y sin diabetes reportaron que en aquellos animales que presentaban periodontitis, pero no diabetes, la administración de PTH no prevenía la resorción ya que, el área de HA era





similar al de los animales tratados con solución fisiológica. Contrariamente, en aquellos animales con periodontitis y diabetes, el área de HA era significativamente mayor que en los no tratados. Utilizando la misma dosis y mismo esquema de tratamiento, los estudios de Barros y et al.<sup>14</sup> en ratas macho normales y de Marques y et al.<sup>26</sup> en ratas hembras ovariectomizadas evidenciaron una recuperación alveolar total alcanzando los niveles del grupo control normal. Mientras Barros no evaluó efectos sistémicos, en los estudios de Kim y Marques la tibia mostró mayor aposición ósea. Basados en estos esquemas de tratamiento y en los resultados obtenidos por los trabajos mencionados previamente, realizamos el presente estudio experimental con diferencias fundamentales, respecto del tiempo de inicio del tratamiento y de la dosis de PTH utilizada. En primer lugar, el tratamiento con PTH 1-34 fue realizado con posterioridad a la pérdida de HA inducida por la ligadura del primer molar durante un periodo de 5 días, con recambio de la ligadura semanalmente durante todo el tratamiento. Este periodo de pretratamiento utilizado se basó en estudios previos, los cuales mostraron que la ligadura del primer molar induce una pérdida rápida de HA a las 96 hs de iniciado el estímulo.<sup>30</sup>

La ventaja de utilizar este modelo experimental de periodontitis en ratas es poder controlar los tiempos y la progresión de la enfermedad culminando con la pérdida ósea del HA en un periodo corto de tiempo. En base a ello, el esquema de tratamiento utilizado no se relaciona con la prevención del desarrollo de periodontitis experimental sino con el efecto de la recuperación de HA perdido en el área donde existe previamente la resorción de HA. Por otra parte, en los estudios previos citados las dosis de PTH utilizadas fueron de 40 y 50 µg/kg de peso que según el método de normalización por área de superficie corporal equivale a administrar una dosis de 390 y 485 µg, respectivamente, para un humano de 60 kg.<sup>31</sup> Estas dosis son muy elevadas

si se considera la dosis recomendada para el tratamiento de osteoporosis.<sup>6</sup> En este sentido, el tratamiento con PTH se encuentra asociado a efectos secundarios potenciales moderados como dolor de cabeza, náuseas, vómitos, hipertensión, calambres, aumento del ácido úrico sérico así como una hipercalcemia moderada pero también se asocia a efectos adversos graves como osteosarcomas.<sup>18</sup> Si bien el tratamiento local con PTH en el periodonto reduce el riesgo de efectos secundarios, la dosis administrada y el tiempo de tratamiento adquiere gran importancia. Así es que, en el uso de bajas dosis por tiempos cortos, radica la fortaleza del presente estudio. En base a ello, este estudio piloto tuvo como finalidad revertir la pérdida ósea del HA sin generar efectos sistémicos no deseados, para lo cual se administró PTH utilizando una dosis de aproximadamente 200 veces menor a las utilizadas en los estudios citados.

Los resultados del presente estudio demuestran que la ligadura con reposición dio lugar a una gran pérdida de HA en los animales con periodontitis experimental sin tratamiento anabólico respecto de los animales controles. Contrariamente, los animales con pérdida ósea inducida por periodontitis tratados con PTH1-34 intermitente a bajas dosis evidenciaron comparativamente una menor pérdida de HA al mismo tiempo que presentaron mayor altura del HA respecto de los no tratados. Este efecto sugiere un efecto anabólico de la administración intermitente PTH sobre el HA que podría explicarse por su capacidad estimuladora de la formación ósea. A esto podría sumarse el efecto adicional que presenta la PTH sobre la inflamación de tejidos blandos ya que, según la literatura, la PTH disminuye la infiltración de células inflamatorias al disminuir la expresión de citoquinas inflamatorias como IL1, IL6 y TNF $\alpha$ , sin embargo este mecanismo aún permanece sin clarificar.<sup>32,33</sup> Por otra parte, el tratamiento con PTH no dio lugar a efectos sistémicos bioquímicos u óseos a nivel de la tibia proximal.

Si bien el análisis histológico del HA muestra mayor densidad ósea en el grupo tratado con PTH respecto del grupo no tratado, no se logra alcanzar el nivel óseo de los animales controles sin periodontitis. Asimismo, aunque no fue evaluado utilizando los métodos inmunohistoquímicos adecuados, en las figuras del HA parecería existir una mayor presencia de osteoide respecto de los no tratados. Este efecto es esperado ya que la acción anabólica de la PTH incrementa la sobrevivencia de los osteoblastos maduros previniendo su apoptosis.<sup>17,27</sup>

### Conclusiones

Los resultados del presente estudio piloto sugieren que, en ratas presentando resorción ósea alveolar generada por el desarrollo de periodontitis inducida por ligadura periodontal, la administración intermitente de PTH en bajas dosis y durante un periodo de tiempo corto disminuye la progresión de la enfermedad periodontal sin generar efectos sistémicos. Sin embargo, la dosis de PTH ensayada no pudo regenerar totalmente el tejido periodontal hasta lograr el nivel observado

en el grupo control, por lo cual es necesario ampliar los estudios aumentando la dosis de PTH y/o extendiendo el tiempo de tratamiento para alcanzar la regeneración periodontal tan deseada.

### Financiamiento:

Este estudio fue parcialmente subsidiado por el PI 40-A467 de la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN) y fue realizado en el INIGEM (UBA/CONICET).

### Agradecimientos

Los autores agradecen a las técnicas Mariela Lacave y Paula Rocha de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires (FOUBA) por la ayuda técnica brindada y al técnico de bioterio Ricardo Ortuzar de FOU-BA por el cuidado de los animales.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Recibido: abril 2022

Aceptado: junio 2022

### Referencias

1. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nat Rev Dis Primer; 2017; 3:17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
2. Pardo Romero FF, Hernández LJ. Enfermedad periodontal: enfoques epidemiológicos para su análisis como problema de salud pública. Rev Salud Pública; 2018;20:258-264. <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n2.64654>
3. Tonetti MS, Sanz M. Implementation of the new classification of periodontal diseases: Decision-making algorithms for clinical practice and education. J Clin Periodontol; 2019; 46:398–405. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13104>
4. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. SciWorldJ;2020;2020:2146160. <https://doi.org/10.1155/2020/2146160>
5. Wang X, Wang Y, Dai X, et al. Effects of Intermittent Administration of Parathyroid Hormone (1-34) on Bone Differentiation in Stromal Precursor Antigen-1 Positive Human Periodontal Ligament Stem Cells. Stem Cells Int; 2016;2016:4027542. doi: 10.1155/2016/4027542



6. Stutz C, Batool F, Petit C, et al. Influence of parathyroid hormone on periodontal healing in animal models: A systematic review. *Arch Oral Biol*; 2020;120:104932. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104932
7. Pacifici R. The immune system and bone. *Arch Biochem Biophys*; 2010;503(1):41-53. doi: 10.1016/j.abb.2010.05.027
8. Jilka RL. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. *Bone* 2007;40(6):1434-46. doi: 10.1016/j.bone.2007.03.017
9. Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone* 2005;37(2):148-58. doi: 10.1016/j.bone.2005.03.018
10. Osagie-Clouard L, Sanghani A, Coathup M, Briggs T, Bostrom M, Blunn G. Parathyroid hormone 1-34 and skeletal anabolic action: the use of parathyroid hormone in bone formation. *Bone Jt Res*; 2017; 6:4-21. <https://doi.org/10.1302/2046-3758.61.BJR-2016-0085.R1>
11. Hagino H, Okano T, Akhter MP, Enokida M, Teshima R. Effect of parathyroid hormone on cortical bone response to in vivo external loading of the rat tibia. *J Bone Miner Metab*; 2001;19(4):244-50. doi: 10.1007/s007740170027
12. Iida-Klein A, Zhou H, Lu SS, et al. Anabolic action of parathyroid hormone is skeletal site specific at the tissue and cellular levels in mice. *J Bone Miner Res*; 2002;17(5):808-16. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.5.808
13. Chen H, Fu T, Ma Y, et al. Intermittent administration of parathyroid hormone ameliorated alveolar bone loss in experimental periodontitis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Oral Biol*; 2017;83:76-84. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.033
14. Barros SP, Silva MA, Somerman MJ, Nociti FH Jr. Parathyroid hormone protects against periodontitis-associated bone loss. *J Dent Res*; 2003;82(10):791-5. doi: 10.1177/154405910308201006
15. Caruso A, Amico-Roxas M, Cutuli V, Prato A, Fiore CE, Clementi G. Parathyroid hormone fragment 1-34 inhibits drug-induced inflammation in various experimental models. *Eur J Pharmacol*; 1991;198(1):85-8. doi: 10.1016/0014-2999(91)90565-8
16. Abe T, Hajishengallis G. Optimization of the ligature-induced periodontitis model in mice. *J Immunol Methods*; 2013;394(1-2):49-54. doi: 10.1016/j.jim.2013.05.002
17. Tokunaga K, Seto H, Ohba H, et al. Topical and intermittent application of parathyroid hormone recovers alveolar bone loss in rat experimental periodontitis. *J Periodontol Res*; 2011;46(6):655-62. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01386.x
18. Harper KD, Krege JH, Marcus R, Mitlak BH. Osteosarcoma and teriparatide? *J Bone Miner Res*; 2007;22(2):334. doi: 10.1359/jbmr.061111
19. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
20. Pulitano Manisagian GE, Benedí D, Goya JA, Mandalunis PM. Study of epithelial rests of Malassez in an experimental periodontitis model. *Acta Odontol Latinoam*; 2018;31(3):131-137.
21. Seijo M, Bonanno MS, Vénica CI, et al. A yoghurt containing galactooligosaccharides and having low-lactose level improves calcium absorption and retention during growth: experimental study. *Int J Food Sci Technol*; 2021;57:48-56. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15212>
22. Goya JA, Paez HA, Mandalunis PM. Effect of topical administration of monosodium olpadronate on experimental periodontitis in rats. *J Periodontol*; 2006;77(1):1-6. doi: 10.1902/jop.2006.77.1.1
23. Liu J, Cao Z, Li C. Intermittent PTH administration: a novel therapy method for periodontitis-associated alveolar bone loss. *Med Hypotheses*; 2009;72(3):294-6. doi: 10.1016/j.mehy.2008.10.015

24. Vasconcelos DF, Marques MR, Benatti BB, Barros SP, Nociti FH Jr, Novaes PD. Intermittent parathyroid hormone administration improves periodontal healing in rats. *J Periodontol*; 2014;85(5):721-8. doi: 10.1902/jop.2013.130155
25. Bellido T, Saini V, Pajevic PD. Effects of PTH on osteocyte function. *Bone*; 2013;54(2):250-7. doi: 10.1016/j.bone.2012.09.016
26. Marques MR, da Silva MA, Manzi FR, Cesar-Neto JB, Nociti FH Jr, Barros SP. Effect of intermittent PTH administration in the periodontitis-associated bone loss in ovariectomized rats. *Arch Oral Biol*; 2005;50(4):421-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2004.08.014
27. Kim JH, Kim AR, Choi YH, et al. Intermittent PTH administration improves alveolar bone formation in type 1 diabetic rats with periodontitis. *J Transl Med*; 2018;16(1):70. doi: 10.1186/s12967-018-1438-2
28. Otawa M, Tanoue R, Kido H, Sawa Y, Yamashita J. Intermittent administration of parathyroid hormone ameliorates periapical lesions in mice. *J Endod*; 2015;41(5):646-51. doi: 10.1016/j.joen.2014.12.008
29. Zhang W, Wu SZ, Zhou J, et al. Parathyroid hormone-related peptide (1-34) reduces alveolar bone loss in type 1 diabetic rats. *Arch Oral Biol*; 2017;83:13-19. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.013
30. Ubios A, Costa O, Cabrini R. Early steps in bone resorption in experimental periodontitis: A histomorphometric study. *Acta Odont Latinoamer*; 1993;17:45-49.
31. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*; 2008;22(3):659-61. doi: 10.1096/fj.07-9574LSF
32. Dohke T, Iba K, Hanaka M, Kanaya K, Okazaki S, Yamashita T. Teriparatide rapidly improves pain-like behavior in ovariectomized mice in association with the downregulation of inflammatory cytokine expression. *J Bone Miner Metab*; 2018;36(5):499-507. doi: 10.1007/s00774-017-0865-0
33. Borba VZC, Mañas NCP. The use of PTH in the treatment of osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metabol*; 2010;54:213-219.