

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento Estomatología III (Medicina y Cirugía Bucofacial)



TESIS DOCTORAL

**Tratamiento periodontal no quirúrgico en
pacientes con gingivitis y periodontitis moderada**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Susana Aurora Macín Cabrera

Directores:

**Mariano Sanz Alonso
Laura Estela Castrillón Rivera**

Madrid, 2010

ISBN: 978-84-693-7760-4

© Susana Aurora Macín Cabrera, 2010



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA III

**TRATAMIENTO PERIODONTAL NO
QUIRÚRGICO EN PACIENTES CON GINGIVITIS Y
PERIODONTITIS MODERADA. RESPUESTA
MICROBIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA**

TESIS DOCTORAL

Susana Aurora Macín Cabrera

Director:

Dr. Mariano Sanz Alonso

Departamento de Estomatología III

Co-directora:

Dra. Laura Estela Castrillón Rivera

Departamento de Sistemas Biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México

Madrid, 2009

Memoria presentada para la
obtención del grado de Doctor en
Odontología de la Licenciada **Dña.
Susana Aurora Macín Cabrera.**

Esta tesis doctoral ha sido
realizada en el Laboratorio de
Investigación del Departamento de
Estomatología III de la Facultad de
Odontología, en la Universidad
Complutense de Madrid, España; así
como en el Laboratorio de
Inmunopotenciadores del Departamento
de Sistemas Biológicos y en las Clínicas
Estomatológicas de San Lorenzo
Atemoaya y Tepepan, de la División de
Ciencias Biológicas y de la Salud, de la
Universidad Autónoma Metropolitana,
Unidad Xochimilco, en México, Distrito
Federal bajo la dirección y co-dirección,
respectivamente, de los Doctores **D.
Mariano Sanz Alonso y D^{ña.} Laura
Estela Castrillón Rivera.**

La realización de este estudio también ha sido posible por el convenio de colaboración existente entre la Universidad Complutense de Madrid y la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Para el desarrollo del trabajo experimental sobre microbiología, fue inestimable la asesoría y el apoyo recibido por parte de la Doctora en Farmacia **D^{ña}. Itziar González**, de la Bióloga **D^{ña}. Ana O'Connor** y de la enfermera **D^{ña} Rosa Simon** del Laboratorio de Investigación del Departamento Estomatología III, así como el apoyo de **D^{ña} Carmen Roiz** de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid; asimismo, es de reconocer el apoyo y la asesoría invaluable del Maestro en Ciencias **D. Alejandro Palma Ramos**, del Laboratorio de Inmunopotenciadores, del Departamento de Sistemas Biológicos de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, en México, D. F. De esta misma institución también agradezco el apoyo en el análisis estadístico de los resultados, de la Maestra en Ciencias **D^{ña}. Norma Angélica Noguez Méndez**, del Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada, así como del Ingeniero Industrial Químico **D. Alejandro Rubio Martínez**, de la Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza, de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la ciudad de México, D. F.

***“vale más actuar exponiéndose
a arrepentirse de ello, que
arrepentirse de no haber hecho
nada”
(Boccacio)***

AGRADECIMIENTOS.

A Dios por quien soy.

A mis padres en toda la extensión de la palabra Héctor y Ma. Antonieta por toda su entrega, su amor, respaldo y fortaleza a lo largo de mí vida porque con su ejemplo me dieron todo para salir adelante en la vida.

A quienes constituyen el más preciado regalo que me ha dado la vida, mi esposo y mis hijos:

TOMÁS:

No hay palabra con la que pueda darte las gracias por todo el amor, respeto y fortaleza que me has brindado en el camino que iniciamos juntos. Gracias por soportar mis defectos, alentarme y apoyarme en lograr alcanzar esta meta tan importante en mí vida profesional.

CARLOS EDUARDO, RICARDO ENRIQUE Y RODRIGO ALONSO:

Gracias por todo el amor y apoyo que me han brindado al tener que adaptarse a diferentes circunstancias en nuestra vida familiar y escolar para que lograra alcanzar esta meta en mí vida profesional. No tengo palabras para expresarles todo el amor que siento hacia los tres. Perdón por el tiempo que no he podido estar con ustedes y por esos momentos no gratos. Los amo.

A mis hermanos Héctor, Ricardo y Guillermo y a sus familias por el amor y apoyo que me han dado de una u otra forma en el pasado, presente y futuro.

A la señora Graciela Flores por su amistad que siempre ha demostrado, hacia mi y mi familia, le estaremos eternamente agradecidos por su desinteresado apoyo.

A todos mis queridos compañeros y amigos de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, en particular a quienes de manera cercana me han proporcionado estímulo y constante apoyo en esta etapa de mi vida: Alejandro Palma, Norma Noguez, Alejandro Rubio, Lupita Robles, Julieta Meza, César Díaz de Ita, Iván Gutiérrez, Angélica Martínez, **Melania**, Jose Luis Razo, Maru Rodríguez, Paty Aceves, Vicky Melo, Norberto Manjarrez, Herminia Perez, **July**.

A mis queridos directores de tesis: doctores Mariano Sanz Alonso y Laura Estela Castrillón Rivera, ¡gracias por su plena confianza y constante apoyo durante la realización de los estudios y tesis doctoral! Soy afortunada, porque además de sus conocimientos y experiencia, me han brindado su amistad.

A mis queridos profesores y amigos de la Facultad de Odontología de la UCM: doctores Mariano Sanz Alonso, **Conchita**, David Herrera, Itziar González, Ana O'Connor, Rosa Simón, por transmitirme sus conocimientos y experiencia, por su inestimable apoyo durante el desarrollo de la tesis.

Un agradecimiento especial me merece Carmen Roiz por su amistad y desinteresado apoyo durante mi estancia en Madrid y cuando me encontraba en México.

Un agradecimiento muy especial me merece el doctor Benito del Castillo García por su gran amistad y desinteresado apoyo durante la realización de los estudios y la tesis doctoral asimismo para Doña Carmela Yañez y las familias Castillo Rodríguez, Gutiérrez Cuevas y Seguí Olmedilla, su amistad y el gran apoyo para lograr que nuestra estancia familiar en España resultara una grata experiencia, es inestimable.

A la Universidad Complutense de Madrid, y en particular a la Facultad de Odontología, representada por el conjunto de sus autoridades, personal académico y administrativo, agradezco las facilidades recibidas para llevar a término mi formación doctoral.

Gracias a mi querida Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco en la cual me he desarrollado en el aspecto profesional y académico. Para la realización del doctorado, ha sido fundamental haber disfrutado de las bondades de parte de los programas que apoyan la consolidación académica de la plantilla docente de la UAM: beca para doctorado, fondo de apoyo complementario para la formación de profesores y licencia para terminación de tesis.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

Unidades

Centímetros	=	cm
Confrontar	=	cfr
Grados Celsius	=	°C
Gramo	=	g
Horas	=	hr
Kilogramo	=	Kg
Litros	=	L
Logaritmo de base 10	=	log
Marca registrada (trade mark)	=	™ ó ®
Mayor o igual a	=	≥
Menor o igual a	=	≤
Microgramo	=	μg
Microlitros	=	μL
Mililitros	=	mL
Milímetros	=	mm
Minutos	=	min
Moles por litro	=	M
Nanómetros	=	nm
Partes por millón	=	ppm
Picogramos	=	pg
Porcentaje	=	%
Revoluciones por minuto	=	rpm
Segundos	=	seg

Siglas

APC:	Células presentadoras de antígeno.
BANA:	N α -Benzoyl-DL-Arginine β -Naphtilamide.
BMPs:	Proteínas morfogénicas óseas.
C:	Complemento.
CDs:	Células dendríticas
CD4:	Glucoproteína de superficie celular con reconocimiento de CMH II

CD8:	Glucoproteína de superficie celular con reconocimiento de CMH I
EGF:	Factor de crecimiento epitelial.
Ep:	Células epiteliales gingivales.
F:	Fibroblastos.
FGC:	Fluido gingival crevicular.
FGF:	Factor de crecimiento de fibroblastos.
GM-CSF:	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.
ICAM:	Moléculas de adhesión intercelular
IFN γ :	Interferón gamma
IGF:	Factor de crecimiento insulinoide.
Ig:	Inmunoglobulina.
IL:	Interleuquina.
IL-1 α :	Interleuquina 1 alfa.
IL-1 β :	Interleuquina 1 beta.
IL-1AcP:	Proteína accesoria del receptor a IL-1
IL-1R α :	IL-1 receptor antagonista
IL-1RI:	Receptor a IL-1 tipo I
IL-1RII:	Receptor a IL-1 tipo II
iNOS:	Oxidasa del óxido nítrico
LIF:	Factor inhibitorio de leucemia
LB:	Linfocito B
LT:	Linfocito T
LPS:	Lipopolisacárido bacteriano
MCH:	Complejo principal de histocompatibilidad.
M-CSF:	Factor estimulante de colonias monocito-macrófago.
MF:	Macrófagos.
MMPs:	Metaloproteinasas de matriz
N:	Neutrófilos
NK:	Leucocitos asesinos naturales o “natural killer”
ODF:	Factor activador de la diferenciación de osteoclastos
NO:	Oxido nítrico
ODF:	Factor de diferenciación de osteoclastos.
OPG:	Osteoprotegerina.
PA:	Periodontitis del adulto.

PAF:	Factor activador de plaquetas
PAMPs:	Patrones moleculares asociados a patógenos.
PCA:	Factor tisular procoagulante
PDGF	Factores de crecimiento de derivados de plaquetas.
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PGI ₂ :	Prostaglandina I ₂
PIT:	Periodontitis de inicio temprano.
PMN:	Leucocitos polimorfonucleares
pO ₂ :	Potencial oxígeno.
PTH:	Factor soluble.
RANKL:	Factor activador del ligando Nuclear –Kappa-B
RAR:	Raspado y alisado radicular.
TCR:	Receptores de células T.
TGFα:	Factor de crecimiento alfa
TGFβ :	Factor transformante beta
TH0:	Linfocito T cooperador
TH1:	Linfocito T cooperador 1.
TH2:	Linfocito T cooperador 2.
TIMPs :	Factores inhibidores de metaloproteinasas de matriz
TNFα:	Factor de necrosis tumoral alfa.
TNFβ:	Factor de necrosis tumoral beta.
Tr1:	Linfócito T regulador 1.
UFC:	Unidades formadoras de colonias.
UV:	Ultravioleta
VCAM:	Molécula de adhesión a célula vascular.

INDICE

<i>INTRODUCCION</i>	1
1.1. ENFERMEDADES PERIODONTALES	4
1.1.1. Gingivitis	4
1.1.2. Periodontitis	5
1.2. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES	7
1.3 PREVALENCIA Y PROGRESIÓN	11
1.4 ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES	13
1.4.1 Los microorganismos como agentes etiológicos de la enfermedad	21
1.5 RESPUESTA DEL HOSPEDADOR	31
1.5.1 Inmunidad innata	31
1.5.1.1. Inflamación	33
1.5.1.2. Fagocitosis	35
1.5.2. Inmunidad adquirida	36
1.5.3. Mecanismos de resistencia innata en enfermedades periodontales.	38
1.5.4. Participación celular en la respuesta inmune en las Enfermedades periodontales	42
1.5.5. Respuesta inmune adaptativa en las enfermedades periodontales	45
1.5.6. Perfiles de las células Th1 y Th2 en gingivitis <i>versus</i> periodontitis.	47
1.5.7 Participación de la respuesta inmune en la resorción y periodontal	48
1.6. Interleuquina 1 β	50
1.6.1. Interleuquina 1 (IL-1 β)	50
1.6.2. Receptores de interleuquina 1 β	52
1.6.3. Modulación de la interleuquina 1 β	53
1.6.4. Función de la interleuquina 1 β	53
1.6.5. Papel de la interleuquina 1 β en la resorción ósea	55
1.6.6. Interleuquina 1 β en periodontitis	57

1.6.7. Marcadores pronósticos en la destrucción periodontal	58
1.6.8. Manifestaciones clínicas de periodontitis y su correlación con los niveles de Interleuquina 1 β	59
1.7. FACTORES DE RIESGO EN LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES	60
1.7.1. Factores de riesgo inmodificables	61
1.7.2. Factores de riesgo ambientales	63
1.8. TRATAMIENTO PERIODONTAL	64
1.8.1. Tratamiento periodontal no quirúrgico	64
1.8.1.1. Raspado y alisado radicular	64
1.8.2. Respuesta al tratamiento periodontal no quirúrgico	64
1.8.3. Antimicrobianos sistémicos	69
<i>JUSTIFICACION</i>	71
<i>HIPOTESIS Y OBJETIVOS</i>	75
<i>METODOLOGÍA</i>	79
MATERIALES Y MÉTODOS	81
2.1. Pacientes	81
2.2. Terapia periodontal	82
2.3. Diseño del estudio	82
2.4. Variables respuestas	83
2.4.1. Variables respuestas clínicas	83
2.4.2. Variables respuestas microbiológicas	86
2.4.3. Respuesta del hospedador	92
<i>ANALISIS DE DATOS</i>	99
<i>RESULTADOS</i>	103
Variables respuestas clínicas	106
Variables respuestas microbiológicas	117
Variables respuestas bioquímicas	126
<i>DISCUSIÓN</i>	135
Factores etiológicos	137
Factores del hospedador	140
Respuesta al tratamiento periodontal	144
<i>CONCLUSIONES</i>	149
Factores etiológicos	151

Factores del hospedador	153
Respuesta al tratamiento	
Periodontal	155
BIBLIOGRAFÍA	157
ANEXOS	193
I. Medio reducido de transporte (RTF)	195
Solución salina de fosfato (PBS)	195
II. Medio de cultivo no selectivo agar-sangre	197
III. Medio de soya tripticasa bacitracina-vancomicina (TSBV)	199
IV. Prueba de BANA-INDOL (BI)	201
Medio semilíquido de SIM	202
Prueba de catalasa	203
V. Tinción de Gram	205
VI. Material odontológico	209
Material de laboratorio	209
Material de papelería	210
Reactivos	210
Instrumental odontológico	212
Instrumental para laboratorio	213
VII. Calibración del periotron® 8000	215

INTRODUCCIÓN

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la flora microbiana presente en las distintas patologías periodontales, ha permitido identificar a los microorganismos como agentes etiológicos que de manera general se asocian a la incidencia y prevalencia de la gingivitis y periodontitis. No obstante, existen diversos factores de índole personal y aquellos intrínsecos que caracterizan a un grupo poblacional, tales como los hábitos de higiene, así como los factores modificadores, la respuesta inmune y el genotipo, que hacen necesario ampliar dicho conocimiento con relación a la mayor o menor incidencia de determinadas especies bacterianas periodontopatógenas o bien sobre las células y las moléculas asociadas a la respuesta inmune; para cada patología periodontal por grupo poblacional.

Aún en la época actual, la identificación de la flora periodontopatógena por paciente y grupo poblacional, ha representado un recurso para profundizar en el conocimiento de los factores etiológicos que predisponen el desarrollo de la gingivitis y la periodontitis en cada grupo poblacional, y un medio de apoyo para establecer con mayor precisión el tratamiento clínico y farmacológico para cada paciente. Así pues, queda mucho por hacer en los distintos países, con relación a la utilización de estos conocimientos como una fuente de información para establecer programas y campañas profilácticas de salud bucal y se cuestiona aún por razones de coste, su beneficio en los tratamientos individuales.

Por otra parte, una alternativa para el diagnóstico y el seguimiento de los tratamientos periodontales que todavía es relativamente incipiente su desarrollo, la constituye la búsqueda e identificación de marcadores inmunológicos involucrados en la enfermedad periodontal; lo cual se puede realizar mediante el análisis del fluido gingival crevicular (FGC), en el que la determinación de los niveles de concentración de la interleuquina 1 beta (IL-1 β), permitirá relacionar el nivel de la respuesta inmunológica del huésped hacia los microorganismos responsables del daño tisular y las consecuencias de esta respuesta en los tejidos y servirá como un marcador pronóstico de periodontitis.

Introducción

Al reconocer que aún son pocos los estudios realizados con relación a la identificación de la flora microbiana y la respuesta inmunológica en la gingivitis y periodontitis en población mexicana, se planteó esta investigación con el propósito de contribuir al conocimiento de la flora microbiana que prevalece en esta población y más aun, la respuesta inmunológica del hospedador ante la presencia de esa microbiota en las fases inicial, postratamiento y de mantenimiento en una terapia periodontal no quirúrgica, utilizando la cuantificación de la IL-1 β en el FGC como marcador inmunológico.

El presente estudio se realizó durante un año, con una muestra de población semi-urbana que acude a dos de las cuatro clínicas estomatológicas de la Unidad Xochimilco de la Universidad Autónoma Metropolitana, ubicadas en la periferia del área metropolitana de la ciudad de México, Distrito Federal.

1.1. ENFERMEDADES PERIODONTALES

1.1.1. GINGIVITIS

La gingivitis es una entidad patológica de tipo infeccioso que se caracteriza por la existencia de colonización bacteriana del aparato de inserción, la cual desencadena cambios de tipo inflamatorio. (Pihlstrom y col. 2005). Esta colonización es a través de una biopelícula que está constituida por glicoproteínas salivales.

Las bacterias Gram-positivas de la saliva expresan adhesinas que se unen selectivamente a la película y median la colonización y crecimiento de la placa supragingival; en pocos días se observa la colonización de especies Gram-negativas que se unen a las bacterias Gram-positivas mediante receptores específicos, conformando así una biopelícula firme sobre la superficie del diente a nivel del margen gingival, lo cual provoca una respuesta inflamatoria aguda en la encía. (Page 1998, Liébana y col. 2004)

En términos generales, la inflamación se define como una respuesta inicial de protección localizada que es provocada por un daño o destrucción del tejido y tiene la finalidad de disminuir o eliminar al agente nocivo; provocando una reacción celular o vascular de los tejidos dañados. Entre los procesos más comunes que

Introducción

concurrir con inflamación de los tejidos de soporte periodontal, están la gingivitis y la periodontitis. (Albandar y col. 1998)

Las características de la gingivitis inducida por la biopelícula son (Mariotti 1999):

1. Una biopelícula presente en el margen gingival.
2. La enfermedad comienza en el margen gingival.
3. Cambios en el color de la encía.
4. Cambios en la temperatura del surco gingival.
5. Aumento del exudado gingival.
6. Sangrado ante un estímulo y espontáneo.
7. Ausencia de pérdida de inserción.
8. Ausencia de pérdida ósea.
9. Modificaciones histológicas que involucran lesión inflamatoria.
10. Es reversible cuando se elimina la biopelícula.

El sangrado gingival y la pérdida de inserción generalmente son procesos indoloros e ignorados por el paciente, de modo que éste se da cuenta del problema cuando ya existen bolsas que miden alrededor de 4 mm de profundidad.

La gingivitis puede representar un estado inicial de la historia natural de la periodontitis; sin embargo, también puede estar separada de esta entidad, de manera que algunos pacientes no progresan a periodontitis. (Matthews 2000)

Por otra parte, cabe mencionar que la gingivitis se caracteriza por ser reversible al tratamiento, no así la periodontitis. (Albandar y col. 2002, Espejel y col. 2002)

1.1.2. PERIODONTITIS

La enfermedad periodontal destructiva, también llamada periodontitis, se define como el proceso inflamatorio que se presenta en el tejido alrededor del diente en respuesta a la acumulación bacteriana específica en el mismo. Esta situación

Introducción

ocurre cuando se permite que la microbiota crezca y, si no se interrumpe su desarrollo, la biopelícula alcanza el nicho subgingival y de ese modo, varias bacterias específicas y sus productos, así como algunos de sus componentes celulares tales como los lipopolisacáridos (LPS), actúan como antígenos, desencadenando procesos inflamatorios e inmunológicos a los que se suman las enzimas liberadas por activación de distintos mecanismos tisulares, dando como resultado la destrucción del tejido gingival y del hueso. (Genco 1992, Socransky y col. 1998, Page 1998, Eley 1998, Figueredo y col. 1999, Engebretson y col. 1999)

Esta respuesta inflamatoria que inicia en el tejido gingival y que posteriormente se extiende a la inserción epitelial, a las fibras gingivales, al ligamento periodontal y al hueso alveolar; provoca una pérdida progresiva de estos tejidos de soporte con una profundización del surco entre el diente y la superficie epitelial, para formar así lo que se conoce como bolsa periodontal, la cual, si no es atendida, hace que la exfoliación del diente sea inevitable. (Socransky y col. 1998, Tanner y col. 1998, Haffajee y col. 1998, Asman y col.1997, Slots y col. 1992, Loesche y col. 2001, Armitage 2004)

Debido al impacto que los cambios de tipo inflamatorio producen en los tejidos de soporte periodontal, es que se ha considerado importante profundizar en este documento sobre las bases conceptuales de la inflamación, para de esta manera lograr un mejor entendimiento del proceso de la enfermedad periodontal, así como de los efectos que puede tener el tratamiento adecuado de la misma.

La periodontitis, tal y como se señaló con anterioridad, se diferencia de la gingivitis porque la inflamación de los tejidos de soporte del diente produce cambios destructivos progresivos que suelen conducir a la pérdida del hueso y del ligamento periodontal. Esto último ocurre por una extensión del proceso inmuno-inflamatorio desde la encía al hueso adyacente y al ligamento. (Loesche y col.2001)

En la periodontitis la alteración de la inserción epitelial da lugar a una profundidad de surco gingival que puede extenderse desde 4 mm hasta 12 mm y en tal caso se le llama bolsa periodontal, la cual, dependiendo de su profundidad y extensión, puede tener de 10^7 a 10^9 unidades formadoras de colonias por miligramo (UCF/mg). (Socransky y col. 1991, Loesche y col. 2001)

Introducción

De acuerdo a Lindhe y col. (2005), las características de la periodontitis crónica son:

1. Tiene mayor prevalencia en los adultos, pero también puede hallarse en niños y adolescentes.
2. La composición de la biopelícula subgingival es compleja y varía de un hospedador a otro, siendo el cálculo subgingival un hallazgo común.
3. La magnitud de la destrucción del periodonto es proporcional a los niveles de la biopelícula subgingival, así como a la existencia de factores modificadores locales y sistémicos, entre ellos: tabaquismo, estrés, diabetes, VIH y capacidades intrínsecas del sistema inmunológico del hospedador.
4. Puede clasificarse como localizada cuando están afectados en promedio el 30% de los dientes, y generalizada cuando se excede este nivel.
5. A pesar de que es iniciada y sustentada por la biopelícula subgingival, los factores del hospedador influyen en la patogenia y en la progresión de la enfermedad.
6. La progresión sólo puede confirmarse por exámenes clínicos repetidos y se considera probable que ocurra en sitios enfermos que hayan quedado sin tratamiento.
7. La extensión y la severidad de la destrucción periodontal pueden asimismo servir para una clasificación adicional o más amplia.

1.2. CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

En el año de 1999, después de las reuniones de trabajo que agruparon a especialistas, la Academia Americana de Periodoncia recomendó un proyecto de clasificación de la enfermedad periodontal (ver cuadro A), el cual contiene la clasificación de las enfermedades periodontales, que incluye tanto a gingivitis como a periodontitis.

Las enfermedades gingivales son aquellas formas inducidas por la biopelícula dental en las que su expresión clínica puede ser sustancialmente modificada por: 1)

Introducción

factores sistémicos, 2) medicación, 3) malnutrición y 4) las lesiones gingivales que no están asociadas de manera primaria con la biopelícula dental, pero que abarcan un amplio rango de desórdenes que afectan a la encía.

Respecto a las cuatro formas primarias de periodontitis se presentan en el cuadro A, son: 1) periodontitis crónica, 2) periodontitis agresiva, 3) periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas y 4) enfermedad periodontal necrotizante. (Armitage 1999, Wiebe y col. 2000)

La periodontitis crónica y la agresiva son las dos formas más comunes de enfermedad periodontal y a su vez fueron subdivididas, de acuerdo a los dientes involucrados, en generalizada y localizada.

En esta clasificación, la periodontitis refractaria fue eliminada como una categoría patológica separada, sin embargo, se consideró que la designación *refractaria*, puede ser aplicada para todas las formas de periodontitis en este nuevo esquema de clasificación y se emplearía para aquellos casos en los que no existe una respuesta del paciente al tratamiento, de ese modo y en ese caso, se designaría por ejemplo: periodontitis crónica refractaria o periodontitis agresiva refractaria. (Armitage 1999, Loesche y col.2001)

Algunos epidemiólogos han definido a las formas moderadas de periodontitis del adulto como la presencia de uno o más dientes con una bolsa de profundidad ≥ 4 mm, sin tener dientes con bolsas > 6 mm, y a las formas avanzadas las han identificado con la presencia de uno o más dientes con una bolsa cuya profundidad es ≥ 6 mm. Otros han relacionado la pérdida de inserción de un diente > 3 mm, como una pérdida de inserción significativa.

Con relación a la prevalencia de la periodontitis individual, ésta ha sido notificada así, cuando una o más zonas de un diente o varios de éstos presentan evidencia de enfermedad, y en cuanto a la interpretación de la extensión del padecimiento, se le describe por el número o el porcentaje de dientes enfermos; de este modo, la periodontitis será localizada cuando el porcentaje de dientes involucrados sea ≤ 30 , y se considera generalizada cuando el valor sea ≥ 30 . En cuanto a la severidad de la enfermedad periodontal, ésta se determina con base a la pérdida de inserción: leve, 1 – 2 mm; moderada, 3 – 4 mm y severa, ≥ 5 mm. (Armitage 1999)

Introducción

Cuadro A. Clasificación de la Enfermedad Periodontal*, recomendada por la Academia Americana de Periodoncia. **Gingivitis.**

ENFERMEDADES GINGIVALES	
<p>A. ENFERMEDAD GINGIVAL INDUCIDA POR PLACA</p> <p>I. Gingivitis asociada únicamente a placa</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Sin otros factores contribuyentes locales</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Con otros factores contribuyentes locales</p>	<p>B. LESIONES GINGIVALES NO INDUCIDAS POR PLACA</p> <p>I. Enfermedad gingival de origen bacteriano específico</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Lesiones asociadas a <i>Neisseria gonorrhoea</i></p> <p style="margin-left: 20px;">b. Lesiones asociadas a <i>Treponema pallidum</i></p> <p style="margin-left: 20px;">c. Lesiones asociadas a <i>Streptococcus sp.</i></p> <p style="margin-left: 20px;">d. Lesiones asociadas a otras especies</p>
<p>II. Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Asociadas al sistema endocrino</p> <p style="margin-left: 40px;">a.1. Gingivitis asociada a la pubertad</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2. Gingivitis asociada al ciclo menstrual</p> <p style="margin-left: 40px;">a.3.1. Gingivitis asociada al embarazo</p> <p style="margin-left: 40px;">a.3.2. Granuloma piogénico asociado al embarazo</p> <p style="margin-left: 40px;">a.4. Gingivitis asociada a diabetes mellitus</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Asociadas a discrasias sanguíneas</p> <p style="margin-left: 40px;">b.1. Gingivitis asociada a leucemia</p> <p style="margin-left: 40px;">b.2. Otras</p>	<p>II. Enfermedad gingival de origen viral</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Infecciones por herpes virus</p> <p style="margin-left: 40px;">a.1. Gingivostomatitis herpética primaria</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2. Herpes oral recurrente</p> <p style="margin-left: 40px;">a.3. Infecciones por varicela-zoster</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Otras</p>
<p>III. Enfermedades gingivales modificadas por medicamentos</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Enfermedades gingivales influidas por fármacos</p> <p style="margin-left: 40px;">a.1. Hiperplasia gingival influida por fármacos</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2. Gingivitis influida por fármacos</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2.1. Gingivitis asociada a anticonceptivos orales</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2.2. Otras</p>	<p>III. Enfermedades gingivales de origen fúngico</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Infecciones por especies de <i>Candida</i></p> <p style="margin-left: 40px;">a.1. Candidiasis gingival generalizada</p> <p style="margin-left: 40px;">b. Eritema gingival lineal</p> <p style="margin-left: 40px;">c. Histoplasmosis</p> <p style="margin-left: 40px;">d. Otras</p>
<p>IV. Enfermedades gingivales modificadas por malnutrición</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Gingivitis por deficiencia de ácido ascórbico</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Otras</p>	<p>IV. Lesiones gingivales de origen genético</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Fibromatosis gingival hereditaria</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Otras</p>
	<p>V. Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Desórdenes mucocutáneos</p> <p style="margin-left: 40px;">a.1. Liquen plano</p> <p style="margin-left: 40px;">a.2. Penfigo</p> <p style="margin-left: 40px;">a.3. Penfigo vulgaris</p> <p style="margin-left: 40px;">a.4. Eritema multiforme</p> <p style="margin-left: 40px;">a.5. Lupus eritematoso</p> <p style="margin-left: 40px;">a.6. Inducidas por fármacos</p> <p style="margin-left: 40px;">a.7. Otros</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Reacciones alérgicas</p> <p style="margin-left: 40px;">b.1. A materiales de restauración dental</p> <p style="margin-left: 80px;">b.1.1. Mercurio</p> <p style="margin-left: 80px;">b.1.2. Níquel</p> <p style="margin-left: 80px;">b.1.3. Acrílico</p> <p style="margin-left: 80px;">b.1.4. Otros</p> <p style="margin-left: 40px;">b.2. Reacciones atribuibles a:</p> <p style="margin-left: 80px;">b.2.1. Dentríficos y pastas dentales</p> <p style="margin-left: 80px;">b.2.2. Enjuagues bucales</p> <p style="margin-left: 80px;">b.2.3. Aditivos de goma de mascar</p> <p style="margin-left: 80px;">b.2.4. Alimentos y aditivos</p> <p style="margin-left: 40px;">b.3. Otros</p>
	<p>VI. Lesiones traumáticas (iatrogenias, accidentes)</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Por sustancias químicas</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Por golpes o alguna acción física</p> <p style="margin-left: 20px;">c. Por quemaduras</p>
	<p>VII. Reacciones a cuerpos extraños</p>
	<p>VIII. Otras causas no específicas (NOS)</p>

*Cfr. Armitage G.C. (1999). *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann. Periodontol, 4 (1): 1-6.*

Introducción

Cuadro A. Continuación. Clasificación de la Enfermedad Periodontal*, recomendada por la Academia Americana de Periodoncia. **Periodontitis.**

PERIODONTITIS	
<p>I. Periodontitis crónica†</p> <p>a. Localizada</p> <p>b. Generalizada</p>	<p>II. Periodontitis agresiva†</p> <p>a. Localizada</p> <p>b. Generalizada</p>
<p>III. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas</p> <p>a. Asociadas a desórdenes hematológicos</p> <p>a.1. Neutropenia adquirida</p> <p>a.2. Leucemia</p> <p>a.3. Otras</p> <p>b. Asociadas a desórdenes genéticos</p> <p>b.1. Neutropenia familiar y cíclica</p> <p>b.2. Síndrome de Down</p> <p>b.3. Síndromes de deficiencia de adhesión leucocitaria</p> <p>b.4. Síndrome Papillo-Lefèvre</p> <p>b.5. Síndrome Chediak-Higashi</p> <p>b.6. Síndromes de Histocitosis</p> <p>b.7. Enfermedad por acumulación de glicógeno</p> <p>b.8. Agranulocitosis genética infantil</p> <p>b.9. Síndrome de Cohen</p> <p>b.10. Síndrome Ehlers-Danlos (Tipos IV y VIII)</p> <p>b.11. Hipofosfatasa</p> <p>b.12. Otras</p> <p>c. Otras no especificadas (NOS)</p>	<p>IV. Enfermedad periodontal necrotizante</p> <p>a. Gingivitis ulcerativa necrotizante (NUG)</p> <p>b. Periodontitis ulcerativa necrotizante (NUP)</p>
	<p>V. Abscesos en el periodonto</p> <p>a. Absceso gingival</p> <p>b. Absceso periodontal</p> <p>c. Absceso pericoronar</p>
	<p>VI. Periodontitis asociada a lesiones endodónticas</p> <p>a. Lesiones combinadas periodonto-endodonto</p>
	<p>VII. Condiciones y deformidades adquiridas o desarrolladas</p> <p>a. Periodontitis o enfermedad gingival localizada inducida por placa y a factores relacionados con el diente</p> <p>a.1. Factores anatómicos de los dientes</p> <p>a.2. Restauraciones / accesorios dentales</p> <p>a.3. Fracturas de la raíz</p> <p>a.4. Resorción cervical de la raíz y fracturas del cemento</p> <p>b. Condiciones alrededor del diente y deformidades mucogingivales</p> <p>b.1. Recesión de tejido blando / gingival</p> <p>b.1.1. Superficies facial o lingual</p> <p>b.1.2. Región interproximal (papilar)</p> <p>c. Pérdida de encía queratinizada</p> <p>d. Reducción de la profundidad vestibular</p> <p>e. Anomalía en el frenillo o posición muscular</p> <p>f. Exceso de encía</p> <p>f.1. Pseudobolsa</p> <p>f.2. Margen gingival inconsistente</p> <p>f.3. Exposición gingival excesiva</p> <p>f.4. Alargamiento gingival</p> <p>g. Coloración anormal</p>
	<p>VIII. Deformaciones mucogingivales y condiciones sobre espacios edéntulos</p> <p>a. Deficiencia espacial vertical u horizontal</p> <p>b. Pérdida de tejido gingival / queratinizado</p> <p>c. Alargamiento de tejido blando / gingival</p> <p>d. Anomalía en el frenillo o posición muscular</p> <p>e. Reducción de la profundidad vestibular</p> <p>f. Coloración anormal</p>
<p>IX. Trauma oclusal</p> <p>a. Traumatismo oclusal primario</p> <p>b. Traumatismo oclusal secundario</p>	

† Esta clasificación puede ser más específica con relación a su extensión y severidad (ver texto).

*Cfr. Armitage G.C. (1999). *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann. Periodontol, 4 (1): 1-6.*

1.3. PREVALENCIA Y PROGRESIÓN.

La prevalencia de la periodontitis ha cambiado radicalmente en los últimos cuarenta años, ésta se incrementa con la edad y como cada vez la gente vive más, al igual que retiene más dientes por mayor tiempo, es de esperar que el número de personas que desarrolle la enfermedad periodontal se vea incrementado en las próximas décadas.

En estudios epidemiológicos realizados en diferentes entidades de la República Mexicana se pudo observar que la incidencia, la prevalencia y la severidad de la periodontitis se incrementaba con la edad. Es así que se ha notificado que alrededor del 37,0% de las personas con edades entre 20 a 29 años, se han visto afectadas con periodontitis moderada y en el grupo poblacional de 30 a 39 años se padece un 30,6 % periodontitis severa y un 20,0% periodontitis leve. Con relación a la población de 40 a 49 años ha sido afectada en un 26,5% con periodontitis leve y en el grupo de 50 a 59 años se presentaba 26,7% con periodontitis leve y 23,3% con periodontitis moderada. Las personas entre 60 y 69 años presentaron 50,0% de periodontitis leve, 30,0% periodontitis moderada y 20,0 % periodontitis severa. (Carrillo y col. 2000, Irigoyen y col. 1999).

En dichos estudios se pudo observar también que sólo el 1,1% de la población mexicana estudiada presentó condiciones de salud periodontal, mientras que el 74,0% tenían gingivitis y un 24,9% periodontitis de leve a severa. Con relación al género, los hombres presentaron mayor prevalencia de gingivitis y periodontitis que las mujeres.

Por otra parte, con respecto a otras poblaciones, se puede señalar que las encuestas nacionales realizadas a adultos estadounidenses a mediados de los años ochenta por el National Institute of Dental Research, revelaron que la periodontitis en las formas de moderada a severa, afectaba del 13,0 al 15,0% de los individuos entre los 18 y los 65 años de edad. Así mismo el 50,0% de la población adulta manifestó gingivitis en 3 ó 4 dientes, y de estos sujetos, un 30,0% presentaron periodontitis en 3 ó 4 dientes, con bolsas que medían más de 4 mm. De los individuos que presentan periodontitis, de 5,0 a 15,0% padecían la forma avanzada,

Introducción

con bolsas que medían más de 6 mm y del 3 al 4% desarrollarían la forma agresiva de la enfermedad periodontal entre las edades de 14 a 35 años.

Estos estudios han indicado que aunque no todos los adultos estadounidenses padecen periodontitis, cerca de dos millones de menores de 35 años y un promedio de cuatro millones de personas mayores de 35 años sufre alguna forma de enfermedad periodontal y ciento de millones en el mundo están afectados, lo cual representa un problema importante de salud en EE.UU y alrededor del mundo. (Brown y col. 2000, Page 1998, Loesche y col.2001)

Estudios que consistieron en la observación de pacientes con periodontitis moderadamente severa durante un periodo de seis años, determinaron que después de dicho periodo solo el 11,0% de los pacientes presentó un mayor deterioro del periodonto, mientras que el resto de los individuos mostró una pequeña destrucción periodontal. (Jenkins y col. 1988, Page 1998, Lindhey col. 1983, Lindhe y col. 1989)

También se ha determinado que en la presencia de bolsas periodontales no es equivalente a periodontitis activa. Sin embargo, utilizando métodos de diagnóstico tradicional es difícil que el periodoncista pueda distinguir entre bolsas periodontales con enfermedad activa e inactiva; lo único que se puede hacer es reconocer la perspectiva de que el paciente pueda ser incluido entre los grupos de alto riesgo, a diferencia de aquellos individuos de bajo riesgo, ya que tampoco se tiene un conocimiento certero de los factores de riesgo que a nivel individual habrán de conducir a la destrucción periodontal. (Ciancio 1996).

No obstante la importancia que ha tenido y tiene para la investigación de la enfermedad periodontal, así como el establecimiento de programas de salud bucal, la publicación de los diversos estudios relativos a la prevalencia y la progresión de las distintas manifestaciones de dicha patología, es necesario reflexionar en que existen factores de riesgo del hospedador asociados a sus características individuales y de grupo poblacional, tanto de origen genético como adquirido, que determinan la susceptibilidad o no a la periodontitis; por lo cual no es posible equiparar de una manera simple la prevalencia y progresión de la enfermedad periodontal entre distintas poblaciones. Por lo tanto, se hace necesario recurrir a técnicas de diagnóstico más actualizadas, ya que las diferencias individuales en la progresión de la enfermedad suelen ser muy marcadas y con frecuencia no se puede predecir de una manera convencional su evolución. No obstante lo anterior, el conocimiento de que

existe una asociación entre la alta concentración de determinadas citoquinas en el FGC con el diagnóstico clínico de la enfermedad, ha cobrado importancia diagnóstica. (Clarke y col. 1995, Eley 1998, Page 1998, Figueredo y col. 1999, Loesche y col. 2001, Neely y col. 2001)

De tal forma, se ha demostrado que las citoquinas presentes en el FGC tienen mayor capacidad diagnóstica como marcadores bioquímicos, que los marcadores microbiológicos (Lamster 1992, Page 1998, Engebretson y col 1999, Mc Devitt y col. 2000, Papapanou y col. 2001). Por otro lado, a los factores genéticos también se les ha atribuido una gran influencia en la variabilidad de las medidas clínicas en la periodontitis, como se observó en estudios realizados con gemelos. (Michalowicz y col. 1991)

1.4. ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

Cuando en un individuo su equilibrio se inclina del estado de salud bucal al de enfermedad, es porque bacterias específicas de la biopelícula bacteriana aumentan en número y producen factores de virulencia que superan el umbral de repuesta del individuo. La reducción de la respuesta del hospedador o una hiperactividad en la respuesta inflamatoria ante una agresión bacteriana, así como las características propias de cada especie bacteriana son factores claves en el desarrollo de la gingivitis o de la periodontitis y en el proceso de la destrucción periodontal, dentro de todo un complejo mecanismo de patogénesis multifactorial. (Loe y col. 1965, Loe 1973, Schroeder y col. 1997, Page 1998, Ximénez- Fyvie y col. 2000a, Loesche y col.2001)

Para entender la biología de la patogénesis de la periodontitis, es importante entender el concepto de biopelícula dental y sus características (ver cuadro B), que es una matriz que involucra poblaciones bacterianas adherentes a la superficie del diente.

La biopelícula subgingival es extraordinariamente persistente y difícil de eliminar; ésta es bañada continuamente por el FGC, que es un exudado tisular que se filtra dentro del área periodontal, por lo que es posible que su crecimiento sea resultado del proceso inflamatorio, el cual contiene complemento, anticuerpos y otros sistemas presentes en la sangre, cuya función es prevenir y controlar las infecciones. Cuando ocurre la activación del complemento, millones de leucocitos

Introducción

activos y viables, especialmente neutrófilos, se acumulan en la superficie de la biopelícula, pero a pesar de esto las bacterias sobreviven y crecen.

Cuadro B. Características de la biopelícula dental. (Page 1998)

Características de la biopelícula
<ul style="list-style-type: none">• Comunidades ecológicas de bacterias que permiten el desarrollo y la sobrevivencia de la comunidad.• Cooperatividad metabólica.• Existencia de un sistema primitivo de circulación.• Coexistencia de numerosos microambientes con diferentes valores de pH, tensión de oxígeno y potencial eléctrico.• Conductas totalmente diferentes a un medio planctónico; hacen 65 nuevas proteínas; con entrecruzamiento entre ellas.• Presenta resistencia a las defensas del hospedador y los leucocitos polimorfonucleares (PMN) no pueden interactuar con agregados de más de cinco bacterias.• Para su eliminación se requiere más de 1500 dosis de antibiótico comparado con un cultivo planctónico de bacterias.

Las bacterias Gram-negativas presentes en la biopelícula liberan constantemente moléculas biológicamente activas que son particularmente proinflamatorias o antigénicas, tales como los LPS (endotoxina) y el ácido butírico, que son producidos constantemente y liberados de la biopelícula dental, las cuales son bioactivas al entrar en contacto con el tejido gingival. A manera de ejemplo, se puede señalar que *Porphyromona gingivalis* y *Treponema denticola* pueden poseer proteasas únicas y éstas pueden degradar moléculas del hospedador creando un efecto proinflamatorio, y una vez que entran en contacto con el epitelio de la bolsa, su acceso al tejido conectivo y a la circulación sistémica es directo; por lo que la eliminación física de la biopelícula es el camino más efectivo para interrumpir su crecimiento. Por esta razón, el raspado y el alisado radicular, constituyen el componente esencial y central para el éxito de todas las formas de terapia periodontal. (Page 1998, Eley 1998, Loesche y col. 2001)

Introducción

En respuesta a las sustancias bacterianas y a los metabolitos de bajo peso molecular que se liberan de la biopelícula, las células endoteliales expresan moléculas de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1) y selectina E (proteínas estructurales que unen leucocitos y endotelio), así como IL-1 β , las cuales favorecen la migración de los neutrófilos a través de los vasos sanguíneos hacia el compartimiento extravascular, para formar así un infiltrado celular en el epitelio de la bolsa y generar la respuesta inflamatoria que se conoce clínicamente como gingivitis; la cual se diferencia de la periodontitis, en que en la primera los linfocitos T (LT) prácticamente están ausentes. (Schroeder y col. 1997, Kormman y col. 1997(a), Page 1998, Ximénez-Fyvie col. 1998, Lappin y col. 2003)

Si el proceso inflamatorio señalado no se resuelve, en el sitio aparecen grandes cantidades de linfocitos T y B, además de células plasmáticas y macrófagos, siendo estos últimos, junto con los fibroblastos residentes, los responsables del proceso destructivo característico de la enfermedad periodontal. Por consiguiente, la respuesta del huésped a la biopelícula bacteriana supragingival sigue un camino diferente a la subgingival. (Page 1998, Eley 1998, Figueredo y col. 1999, Kroes y col. 1999, Loesche y col. 2001, Gemmelly col 2002(a), Matthews 2000, Philstrom y col. 2005)

Un paso esencial que contribuye en esta especificidad bacteriana a la biopelícula es la coagregación, que es una de las estrategias microbianas potenciales para la colonización. También las adhesinas salivales juegan un papel estructural al estar en la superficie de los dientes asociadas con los apéndices fibrilares de las bacterias, y la adherencia de bacteria a bacteria se da por medio de un puente celular con moléculas multivalentes, tales como: mucinas salivales, glucoproteínas aglutinantes y glucanos. Así pues, parte del desarrollo de la biopelícula dental depende de la variedad en la función de estas sustancias. (Page 1998, Rosan y col 2000).

Cabe señalar por otra parte, que debido a que en la iniciación y progresión de la enfermedad periodontal participa más de una bacteria, los postulados de Koch pueden ser adaptados a esta enfermedad para ser expresados de acuerdo a la propuesta de Socransky (1994 a), que se resume en el cuadro C.

De acuerdo a esos criterios, las bacterias que están asociadas directamente con la etiología de la periodontitis son: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Introducción

(Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) y *Tannerella forsythia* (Tf). Estas bacterias son consideradas asimismo por van Winkelhoff, como exógenas. (Socransky col. 1994b, Hafajee y col. 1994, Nisengard y col.1998, Noguerol y col. 2002).

Cuadro C. Criterios de Socransky

1. El incremento del número de las especies patógenas anaerobias y facultativas en el periodonto, es causa de sitios enfermos en éste.
2. La eliminación de las bacterias periodontopatógenas conlleva interrupción de la enfermedad.
3. Dependiendo el agente etiológico que cause la enfermedad periodontal, es el tipo de respuesta inmunológica (celular o humoral).
4. La inoculación experimental del agente en el surco gingival de un animal, induce la producción de características de la enfermedad que se manifiesta de manera natural.
5. Los microorganismos aislados deben tener factores de virulencia que justifiquen la iniciación y progresión de la periodontitis.
6. Análisis de riesgo.

Diferentes estudios han demostrado que la biopelícula bacteriana está dividida en dos tipos de acuerdo a su localización respecto al margen gingival: la supragingival y la subgingival. Los datos disponibles sugieren que especies bacterianas similares pueden ser encontradas tanto en la biopelícula supragingival como en la subgingival de individuos con periodonto sano así como con periodontitis, variando la proporción de estas. (Ximénez-Fyvie y col. 2000 b)

La biopelícula supragingival es dominada por especies de *Streptococcus sp.*, *Actinomyces sp.*, *Capnocytophaga sp.*, *Veillonella párvula*, *Leptotrichia buccalis*, *Selenomonas noxia* y *Rothia dentocariosa*, *Neisseria mucosa*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *Fusobacterium sp.*, *Campylobacter rectus* (Cr) y *A. actinomycetemcomitans*; siendo el área dentaria de mayor colonización para estas especies. (Ximénez-Fyvie col. 2000 a,b; Almaguer y col. 2005, Tanner y col. 1998, Socransky y col 1998)

Introducción

Por su parte, en la biopelícula subgingival predomina la flora de anaerobios Gram-negativos y espiroquetas, tal es el caso de: *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia* (Pi), *T. forsythia*, *Fusobacterium sp.*, *Parvimonas micra* (Pm), *Eubacterium sp.*, *C. rectus* y *P. gingivalis*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, *Treponema Socranskii*; donde las superficies de los tejidos blandos orales y de las superficies radiculares son el mejor hábitat para estas especies. (Moore y col. 1983, Zee y col. 1996, Gmur y col. 1999a), Ximénez-Fyvie y col. 2000b, Liébana y col. 2004, Socransky y col. 1998, Tanner y col. 1998, Haffajee 1998, Dowsett y col. 2002, Ezzo y col. 2003)

Algunos autores como Lindhe y col.(1989), Listgarden y col (1978) y Ximénez-Fyvie y col (2000a) sugieren que la colonización de la biopelícula supragingival es un fenómeno de transición, ya que la detección frecuente de patógenos periodontales potenciales en la biopelícula supragingival tiene importancia clínica y ecológica, debido a que la transmisión de especies de un sujeto a otro es más real si las especies se localizan en la placa supragingival.

La placa supragingival puede ser el reservorio principal de especies bacterianas que a su vez están asociadas con la profundidad de la bolsa y el sangrado al sondaje, como: *T. sockranskii*, *T. forsythia*, *P. gingivalis* (Haffajee y col. 1992, Haffajee 1998); asimismo, de otras especies como: *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. denticola* y *Treponema vicentii*; las cuales son consideradas como parte de las bacterias que iniciarán la periodontitis, ya que desde este reservorio las especies se pueden distribuir a sitios no infectados o recolonizar sitios subgingivales, los cuales han sido periodontalmente tratados. (Moore y col. 1994, Riviere y col. 1995, Page 1998, Tanner y col. 1998, Ximénez-Fyvie y col. 2000a, Ximénez-Fyvie y col. 2000b, Takeuchi y col. 2001, Almaguer y col. 2005)

Lo anterior también es el resultado de haber observado la formación de la biopelícula, en donde se ha visto que durante la colonización bacteriana inicial, las especies de *Streptococcus.sp.* son predominantes, pero en los siguientes días (si la formación de la biopelícula no es interrumpida), ocurren cambios en la comunidad bacteriana que se caracterizan por la presencia de *Actinomyces sp.* y de otro tipo de bacterias.

Introducción

Cuando la placa tiene tres semanas de acumulación, la flora bacteriana es muy diversa, existiendo evidencia de 166 especies aisladas. Conforme avanza el tiempo de acumulación de la placa, las especies anaerobias como las espiroquetas y las bacterias pigmentadas de negro, *Porphyromonas sp.* y *Prevotella sp.*, (Lang 1983, Riviere 1996) son detectadas en un pequeño número, probablemente indicando que el potencial óxido-reducción de la placa disminuye a niveles donde las especies microaerófilas pueden aumentar a un número predominante. (Syed y col. 1978, Listgarten 1976, Moore y col. 1982, Loesche 1983, Moore y col. 1984, Loesche 1986, Mariotti 1999, Liébana y col. 2002, Ximénez-Fyvie y col. 2000b)

Si la cantidad de biopelícula se mantiene constante, aquella es asociada a la gingivitis, sugiriendo que es el tipo de bacteria y no su número, la que causa la gingivitis. Si durante la enfermedad el sangrado se hace evidente, significa que en la biopelícula hay un incremento proporcional de especies como *Actinomyces viscosus* y la aparición de *Campylobacter sp.* y *Prevotella sp.* Estas últimas obtienen sus requerimientos nutricionales como la hemina y la menadiona del hospedador. Asimismo, la aparición de estas especies durante el sangrado sugiere que dichos nutrientes están disponibles como resultado de la inflamación y el sangrado. Esta reorganización proporcional de la flora bacteriana, con un cambio a especies anaerobias Gram-negativas, augura el tipo de especies bacterianas que dominará en la enfermedad periodontal. (Loesche y col. 1978, Loesche y col. 2001)

Para identificar las especies bacterianas estrecha y frecuentemente asociadas a la enfermedad periodontal, Socransky y col. (1998) utilizaron una reacción de hibridación consistente en el apareamiento de dos cadenas sencillas de ácidos nucleicos complementarias entre sí (Socransky y col., 1994 b), como medio de observación de las similitudes existentes entre el ADN de dos microorganismos (técnica de “checkerboard” para hibridaciones ADN-ADN); de esa manera, clasificaron las especies bacterianas vinculadas a los estadios de la enfermedad periodontal en seis grupos, que incluían: 1) *Actinomyces sp.*, así como los siguientes “complejos” bacterianos: 2) “violeta”, 3) “amarillo”, 4) “verde”, 5) “naranja” y 6) “rojo”. A los 4 primeros grupos se les atribuye la colonización inicial de la superficie dentaria y su crecimiento suele preceder a la multiplicación predominante de complejos “rojos” y “naranjas” de organismos Gram-negativos.

Introducción

Al complejo “violeta” pertenecen especies de *Veillonella párvula* y *Actinomyces odontolyticus*; el complejo “amarillo” agrupa especies del género *Streptococcus. sp.*; al complejo “verde” pertenecen especies del género *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sp.*, *Eikenella corrodens*; el complejo “naranja” se conforma de subespecies de: *Campylobacter gracilis*, *C. rectus*, *Campylobacter showae*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium. Nucleatum (Fn)*, *Fusobacterium periodonticum*, *P. micra*, *P.intermedia*, *P.nigrescens* y *Streptococcus. constellatus*; en tanto que el complejo “rojo” está constituido por especies consideradas como los factores etiológicos más importantes de las enfermedades periodontales: *T. forsythia*, *P. gingivalis* y *T. denticola*.

Uno de los factores que influyen en la identificación de diferentes especies en el medio subgingival es la profundidad de la bolsa. En la gingivitis la profundidad del surco alcanza valores de 1 a 3 mm y las especies predominantes son: *F. nucleatum*, *T.Vicentii*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* y *P. intermedia*. En la inflamación gingival se manifiestan: *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *T.vicentii*, *P.gingivalis*, *T.denticola*, *T.forsythia* y *P.micra*; en donde el enrojecimiento gingival y el sangrado al sondaje muestran un recuento mayor de *P.intermedia.*, *F.nucleatum*, *T.vicentii*, y *P.gingivalis*; mientras que en supuración *P.gingivalis*, *T.forsythia* y *P.intermedia* tienen un recuento de UFC mayor.

Por otra parte, cabe señalar que Moore y Holdeman (1994), realizaron un estudio bacteriológico en donde fueron identificadas 500 especies a partir de muestras de biopelícula subgingival de los siguientes grupos de pacientes: sanos, con gingivitis, con periodontitis crónica (PC), periodontitis de inicio temprano (PIT), periodontitis generalizada y periodontitis crónica avanzada; de las cuales 50 fueron bacterias patógenas para el periodonto, entre las que se incluyen: *F.nucleatum*, *Eubacteriumsp.* y *Espiroquetas sp.*; concluyendo que estas especies podrían ser las responsables de las condiciones clínicas periodontales observadas.

En una investigación con pacientes mexicanos, Almaguer-Flores y col. (2005), analizaron muestras de biopelícula subgingival de individuos con periodontitis crónica y otros periodontalmente sanos, en donde para ambos grupos se identificó: *P.gingivalis*, *T.fordythia*, *T.denticola* y *A.actinomycetemcomitans*; sin embargo, en los sujetos con periodontitis crónica las cuentas promedio fueron mayores, en tanto que las cepas de *Actinomyces* se presentaron en mayor proporción

Introducción

en los pacientes periodontalmente sanos. Estos estudios coinciden con los de Loesche y col. (1985), Moore & Moore (1994) y Ximénez-Fyvie y col. (2000).

También se ha sugerido que (Riviere y col. 1998), bacterias específicas como *T.socranskii* y *T.denticola* tienen una asociación alta con el desarrollo de gingivitis, no así la presencia de *C.rectus*, *E. corrodens*) y *P.gingivalis*. La presencia de los primeros estuvo asociada con los sitios de salud que progresaron a gingivitis. De tal forma, esos resultados indican que la presencia de *T.denticola* y espiroquetas no identificadas en placa de sitios sanos, se asocia con el incremento de susceptibilidad a inflamación gingival.

Cabe señalar por otra parte, que existen diferentes pruebas bioquímicas que se realizan a las bacterias anaerobias patógenas, como son: 1) la prueba de BANA (que mide la actividad de una enzima proteolítica parecida a la tripsina, que hidroliza un sustrato incoloro: la benzoil-D,L-arginina- β -naftilamida, para dar origen a un compuesto coloreado: β -naftilamida) y, 2) la de la β -glucuronidasa.

En la biopelícula bacteriana de sujetos con periodontitis crónica así como en periodontitis agresiva, las especies que se han encontrado como BANA positivas son: *P.gingivalis*, *T.forsythia* y *T.denticola*; (Slots 1981, Loesche y col. 1990, Loesche y col. 1992, Riviere y col. 1995) mientras que en los sitios con un gran número de *P.gingivalis*, *P.intermedia* *T.denticola* se han encontrado los niveles más altos de actividad de β -glucuronidasa.

Otros estudios en pacientes con periodontitis crónica han mostrado correlación significativa entre la actividad de β -glucuronidasa y los niveles de *Pg*, *Pi* y espiroquetas en la biopelícula subgingival. Estos hallazgos sugieren que la interacción entre la actividad β -glucuronidasa y la biopelícula subgingival son similares, tanto en los casos de periodontitis crónica, como en los de periodontitis de inicio temprano, y que en ambos, el hospedador está respondiendo a una infección anaerobia involucrando primariamente a las especies: *T.d,enticola*, *P.gingivalis* y *P.intermedia* (Albandar y col. 1998)

Introducción

1.4.1. Los microorganismos como agentes etiológicos de la enfermedad.

A) Bacilos Gram-negativos anaerobios Facultativos.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans.

Es una de las bacterias de mayor importancia en la cavidad oral. Es un bacilo o cocobacilo no móvil, capnofílico; mide aproximadamente 1,0 a 1,5 x 0,4 a 0,5µm. Crece sólo o en pares, se desarrolla en atmósfera aerobia con 5 - 10% de CO₂ y en medios con sangre o suero; este crecimiento se estimula con bicarbonato sódico al 1% y con hormonas esteroideas. Si el medio contiene sangre, no es hemolítico. Sus colonias son circulares convexas, translúcidas, brillantes con forma estrella en la superficie y son difíciles de desprender del agar por su capacidad adherente.

Existen varios medios selectivos para su aislamiento: como el MGB que contiene sangre de carnero, bacitracina y verde de malaquita; el medio selectivo TSBV, que contiene agar tripticasa, suero, bacitracina y vancomicina; así como el medio conocido como “A”, que es el TSBV conteniendo espiramicina, ácido fusídico y carbenicilina.

El *A.actinomycetemcomitans* tiene la capacidad de adherencia de las colonias y la ausencia de fermentación de la lactosa son factores diferenciales. Tiene capacidad fermentativa variable de galactosa, manitol y xilosa.

Esta bacteria también ha sido identificada con tecnología molecular, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). (Slots 1981, Sanz y col. 2004) Y utilizando medio selectivo de bacitracina–vancomicina, esta bacteria se encontró en una alta prevalencia en pacientes con periodontitis agresiva en comparación con aquellos con periodontitis crónica o periodontalmente sanos. (Slots 1982)

El hábitat primario del *A.actinomycetemcomitans* se desconoce, principalmente se presenta en el surco gingival de la cavidad bucal, es un patógeno exógeno de procedencia desconocida y probablemente su transmisión sea de forma directa. Los elementos estructurales para la colonización son fimbrias, vesículas y un material amorfo extracelular proteico en la superficie bacteriana. Otras bacterias como *S.sanguis*, *A.viscosus* y *S.uberis* inhiben el crecimiento del *A.actinomycetemcomitans*.

Introducción

No se encuentra comúnmente en sujetos con periodonto sano. Se ha identificado en la biopelícula bacteriana de 1000: 1 en comparación a otras bacterias de la placa, en donde está implicada en patologías como: periodontitis refractaria, periodontitis de inicio temprano y periodontitis rápidamente progresiva, periodontitis crónica, periodontitis agresiva y gingivitis ulcerativa necrosante (Mandell y col. 1981, Slots 1982, Loesche y col. 2001).

Con base a la composición del polisacárido de su membrana se describen seis serotipos: a al f; encontrándose en la cavidad oral a,b,c y f. El serotipo b es el que con mayor frecuencia produce leucotoxina (LT), que es uno de los principales factores de virulencia. Es de las pocas bacterias de la placa que pueden invadir el tejido gingival, ya que los neutrófilos son inhibidos dentro de los tejidos, permitiendo que el *A.actinomycetemcomitans* pueda persistir en los tejidos y entrar en el torrente sanguíneo, en donde a su vez se puede instalar; por lo que su presencia resulta en un elevado título de anticuerpos específicos para antígenos lipopolisacáridos, antígenos carbohidrato-serotipo específicos, antígenos a leucotoxinas en el FGC y en suero. (Ebersole y col. 1995, Zambon 1988, Loesche y col. 2001)

Como respuesta al medio ambiente, el *A.actinomycetemcomitans* produce sustancias que inhiben el crecimiento de otros organismos con productos metabólicos terminales, enzimas bacteriolíticas y bacteriocinas. Su actividad bacteriogénica también puede contribuir a una regulación microbiana, así como a una invasión microbiana y/o mecanismos de defensa.

El amplio espectro y heterogéneo de bacteriocinas producidas por esta bacteria ha sido reproducido *in vitro* de un ecosistema complejo como la biopelícula dental y existe evidencia de que el delicado equilibrio entre varias especies puede ser influenciado por la producción de los factores de virulencia de esta bacteria, como los descritos en el Cuadro D; las cuales causan alteraciones locales inmunitarias, activan linfocitos T con actividad supresora o provocan activación policlonal de linfocitos B, y tienen capacidad invasiva a través de la epiteliotoxina, penetrando las células del epitelio surcular y activando la producción de procolagenasa por los fibroblastos.

Introducción

Cuadro D. Factores de virulencia de *A.actinomycetemcomitans* y su acción en el tejido periodontal.

SUSTANCIA ANTAGONISTA.	ACCIÓN FAGOCITARIA.
Leucotoxinas	Compuestos secretados al exterior que inhiben la quimiotaxis leucocitaria.
Receptores superficiales para Fc de IgG	Producción intraleucocitaria de catalasa y superóxido dismutasa.
Endotoxina	Inhibidores celulares de ADN, ARN.

Cfr. Slots 1981, Nisengard 1998. Loesche y col. 2001, Uchida 2001, Liébana y col. 2002, Lima 2002, Davis 2003.

Campylobacter rectus.

Es un bacilo recto, curvado o helicoidal, habitualmente móvil por un flagelo polar; mide aproximadamente 0,2 a 0,5 μm de ancho x 0,5 a 5 μm de largo. Es asacarolítico, obtiene su energía a partir de aminoácidos, se desarrolla en un rango de sensibilidad de oxígeno de microaerofílico a anaerobio estricto (atmósfera del 2 - 5% de oxígeno). Para su respiración necesita formato o hidrógeno y fumarato o nitratos como donantes o aceptores de electrones, respectivamente. Su crecimiento hace suponer que estos compuestos son estimulantes y justifican múltiples relaciones interbacterianas en la cavidad oral. Se cultivan en medios que tengan sangre, formato, fumarato y nitratos.

Diferenciación fenotípica: presenta sensibilidad o resistencia al ácido nalidíxico y la cefalotina, produce ácido sulfídrico, presenta movilidad y es catalasa-negativo. Por otra parte, la temperatura de 38° C de la bolsa periodontal favorece la manifestación de determinados factores de periodontopatogenicidad.

A nivel extrabucal, esta especie se aísla en pocas ocasiones. Su hábitat natural es el surco gingival y forma parte de la placa que se localiza en esta zona. Está relacionada con la gingivitis, progresión de lesiones periodontales, conductos radiculares con infección, abscesos alveolares y granulomas apicales. Dentro del género *Campylobacter* es la especie de mayor importancia patógena debido a que su endotoxina es uno de los estimuladores más potentes de prostaglandina E2 e IL-1 por parte de las células del hospedador. (Riviere y col. 1996, Nisengard 1998, Liébana y col. 2002)

Introducción

B) *Bacterias anaerobias estrictas.*

Porphyromonas gingivalis.

Es una bacteria asacrolítica, emplea compuestos nitrogenados como fuente energética, es sensible a concentraciones mayores de 2 µg/mL de vancomicina, es capaz de almacenar hierro, acumulándolo superficialmente para metabolizar en condiciones deficitarias; de ahí el color marrón oscuro o negro de las colonias, por lo que son llamadas bacterias pigmentadas de negro. Las colonias no son fluorescentes bajo la luz ultravioleta. Es un bacilo corto que puede parecer un coco pleomórfico.

Es una bacteria asociada con patologías como gingivitis, pulpitis, abscesos periodontales y periapicales, pero predominante en la patogénesis de la enfermedad periodontal; debido a esto último es considerada una bacteria periodontopatógena. Su participación más importante es con la destrucción y progresión de algunos tipos de periodontitis. Se aísla del surco gingival, especialmente en lesiones periodontales avanzadas, así como de la lengua, amígdalas y saliva. No es considerado como parte de la microbiota oral normal, sino como un patógeno exógeno ausente en individuos sanos.

Para su aislamiento el medio de cultivo debe incluir vitamina K y de forma especial, por su dependencia del hierro, hemina o sangre. Para su identificación se realizan pruebas de producción de indol a partir del triptofano y prueba de BANA, dando origen al compuesto coloreado β-naftilamida.

Estudios realizados con *P.gingivalis*, respecto a la inducción de mediadores y la secreción de citoquinas por fibroblastos gingivales humanos (FGH), concluyen lo siguiente: a) las células viables o muertas son capaces de inducir varias citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF), que intervienen en la reparación y la destrucción del tejido; b) los FGH responden a la estimulación de los LPS, por lo que las colonias se diferencian en la inducción de citoquinas como es la IL-1 y la expresión de la actividad de la proteasa, como la tripsina que aumenta los niveles extracelulares de la IL-6 e IL-8; c) la presencia de suero, particularmente con anticuerpos específicos para *P.gingivalis*, altera significativamente la producción de citoquinas por los FGH, comparado con *P.gingivalis* en ausencia de suero; d) la IL-1 actúa de manera sinérgica con TNFα en la estimulación del mensaje de IL-6 y

Introducción

la producción de proteína por FGH. (Fournier 1993, Nisengard 1998, Kent 1999, Steffen 2000, Bas 2000, Takeuchi 2001, Loesche y col. 2001, Tanaka 2002, Castillo y col.2002, Duncan 2002, Murakami 2002, Davis 2003, Sanz y col. 2004)

Debido a que los factores de virulencia de *P.gingivalis* juegan el papel más importante en el desarrollo de la patogénesis periodontal, éstos se presentan en el Cuadro E.

Prevotella intermedia.

Es una bacteria moderadamente sacarolítica, es resistente a la vancomicina, exigente en requerimientos de vitamina K, hemina o sangre. Tiene la capacidad de producir β -galactosidasa así como indol a partir del triptofano; tiene una producción importante de colagenasas. Por acción de la fosfatasa ácida y alcalina causa destrucción ósea, además de otros factores de virulencia que se pueden observar en el Cuadro F.

Su hábitat primario es la cavidad oral, se le encuentra en el surco gingival en una de cada dos personas con salud periodontal y su prevalencia pasa a tres de cada cuatro en sujetos con afección de gingivitis o periodontitis, por lo que se relaciona con diversas infecciones en donde actúa unida a otras bacterias con un carácter sinérgico, polimicrobiano y mixto de los mismos. Esta bacteria emite fluorescencia y se le asocia con la inflamación gingival de moderada a severa, la periodontitis crónica y la gingivitis úlcero-necrosante.

Tannerella forsythensis.

Es una bacteria no sacarolítica importante, está relacionada genéticamente con *Porphyromonas*; tiene su hábitat primario en el surco gingival en la biopelícula subgingival. Se le relaciona con la periodontitis resistente al tratamiento y como

Introducción

Cuadro E. Factores de virulencia de *Porphyromonas gingivalis* y su acción en el tejido periodontal.

Factores de virulencia	Afección periodontal
Cápsula	Naturaleza polisacárida con acción antifagocitaria Adherencia celular.
Membrana externa	a) Fenómenos de adhesión y congregación bacteriana, (P gingivalis/ A actinomycetemcomitans; F nucleatum A.naeslundii). Colonización de células epiteliales y fibroblastos, formación y mantenimiento de la biopelícula subgingival. b) Endotoxina asociada al lipopolisacárido c) Vesículas superficiales que transportan proteasas o endotoxinas.
Fimbrias	Congregación y adhesión a superficies epiteliales y Dentales, actividad de hemaglutinación.
Enzimas	Colagenasa, queratinasa, hemolisinas, fibrolisinas, hialuronidasa, fosfolipasa, fosfatasa alcalina, ácido fosfatasa y p ácido fosfatasa y proteasas.
Proteasas.	Enzimas proteolíticas proteasas tiolíticas (cisteína) a) destrucción del ligamento periodontal, tejido conectivo del diente y reabsorción ósea. b) Acción hemolítica destrucción de hematíes para obtener hierro. c) Destrucción de proteínas reguladoras con incremento de permeabilidad vascular del surco gingival, inflamación y mayor número de nutrientes para las bacterias. Incremento de C5 de efecto quimiotáctico importante para los neutrófilos vaciando enzimas (colagenasa, elastasas, gelatinasas degradando al tejido conectivo. d) Destrucción de inmunoglobulinas IgA1, IgA2 e IgG e) Captan hierro de moléculas que contengan transferrina, lactoferrina o hemoglobina. f) Activación de metaloproteasas en la matriz de células epiteliales que rodean al diente resultando en la destrucción tisular.
Proteasas caseinolíticas	Degradación del colágeno tipo I y IV, IgG, fibronectina, factores del sistema del complemento como C3, C4, C5.
Compuestos Proteicos	a) Superóxido dismutasa, resistencia a los radicales superóxido generado por los leucocito PMN, b) Exoenzimas contribuyen al daño tisular : Hialuronidasa. fosfatasa alcalina (reabsorción del hueso alveolar), condroitín sulfatasa. c) Exotoxina: epiteliotoxina (penetración tisular).
Metabolitos tóxicos	Aumentan permeabilidad de mucosa oral, producción indol
Moléculas antibacterianas	Bacteriocinas implicadas en las interrelaciones bacterianas en cavidad bucal.
Gingipaínas	Degradación de la adherencia de células epiteliales, invasión del tejido conectivo periodontal

Cfr. Nisengard 1998, Takeuchi 2001, Tanaka, 2002, Castillo y col. 2002, Liébana y col. 2004.

Introducción

Es de crecimiento lento, estrictamente anaerobio. Las colonias frecuentemente aparecen como satélites de *F.nucleatum* y *P.gingivalis*. Se le asocia junto a las bacterias de *C.rectus* y *S. noxia* con pérdida de inserción (1,5 mm, durante un monitoreo clínico de 3 a 12 meses). Es difícil de cultivar *in vitro*, posee la capacidad de corroer la superficie del agar. Junto con *P. gingivalis* y *T.denticola* se asocia a condiciones clínicas de sangrado y profundidad de bolsa.

Cuadro F. Factores de virulencia de *Prevotella intermedia* y su acción en los tejidos periodontales.

FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Fimbrias, adhesinas, residuos protéicos y glucoprotéicos	Intervienen en fenómenos de adhesión agregación y congregación
Acción tóxica	Sobre los fibroblastos, actividad fibronilítica, estímulo de su crecimiento por hormonas esteroideas (estradiol y progesterona)
Epiteliotoxinas	Lesión del epitelio gingival
Factor Inhibidor de Fibroblastos	Alteración en la formación de colágeno.
Forma extra oral	Aislado de infecciones pleuropulmonares, sinusales o mordiscos humanas.
Aminopeptidasas	Fragmenta las cadenas de colágeno.
Fosfolipasas ácidas y alcalinas	Destrucción ósea alveolar.
Indol, Amonio, Ac. Propiónico,	Irritación periodontal.
Compuestos volátiles de Sulfuro.	

Cfr. Nisengard 1998, Takeuchi 200, Tanaka 2002, Liébana 2002.

Introducción

Cuadro G. Factores de virulencia de *Tannerella forsythensis* y la alteración que produce en el tejido periodontal

FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Temperatura (38°C)	Transformación de surco gingival a bolsa periodontal. Manifestación de factores de periopatogenicidad
Invasión	Penetración directa al tejido conectivo
Enzimas y metabolitos terminales	Tripsina positiva (BANA), produce neuraminidasa.

Cfr. Tanner 1998, Liébana 2002, Liebana 2004, Nisengard 1998, Sokransky 1998, Lai 1987.

Fusobacterium nucleatum (Fn)

Son bacterias pleomorfas con formas muy variables: huso, globulosas, redondeadas, finas. Son moderadamente sacarolíticas. Su hábitat primario es la cavidad bucal, especialmente en el surco gingival y además se puede aislar del intestino, vías respiratorias superiores y del aparato genital; por lo que está relacionado con infecciones en diferentes órganos y en la cavidad oral se le asocia con la gingivitis y la periodontitis. Se ha observado que *F.nucleatum*, *P.micra* y la *P.gingivalis* utilizan la coagregación para colonizar las superficies de la cavidad oral, mediante sus estructuras fimbriales, pudiendo así invadir diferentes superficies, como dientes y células epiteliales. Existen además otros factores de virulencia para esta bacteria, tal y como se describe en el Cuadro H.

Cuadro H. Factores de virulencia de *Fusobacterium nucleatum* y su acción sobre el tejido periodontal.

FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Endotoxina, leucotoxina	Compuestos solubles que inhiben la quimiotaxis de los neutrófilos
Capacidad de congregación	Favorecen los procesos de colonización y la formación de la biopelícula.
Ácido butírico y amoniaco	Tóxicos tisulares.
Ácido sulfídrico, metilmercaptano	Compuestos malolientes (halitosis)
Ambiente Capnofílico	<i>Desarrollo de P. gingivalis</i>

Cfr. Liébana y col. 2004, Castillo y col. 2002, Nisengard 1998, Bas y col. 2000.

Introducción

Parvimonas micra.

Forma parte de la microflora normal de las cavidades naturales del hombre y la cavidad oral es considerada el hábitat primario de esta bacteria coco anaerobio Gram-positivo.

Algunos investigadores han reportado la presencia tanto de las colonias con morfotipo liso como del rugoso de *P.micras* en la placa subgingival de pacientes diagnosticados con periodontitis. El genotipo rugoso tiene estructuras fibrilares como apéndices, en tanto que el liso no las tiene, y se ha observado un modelo de congregación oral entre *F.nucleatum* y *P.micra*, tanto liso como rugoso, con *P.gingivalis* no encapsulada; lo que es importante para las interacciones específicas en la colonización o la formación de la biopelícula. Frecuentemente se aísla de procesos infecciosos supurados que tienen carácter mixto y polimicrobiano: cerebro, senos pleurapulmonares y peritoneales; así como en lesiones de caries de dentina, formas avanzadas de periodontitis, abscesos de origen dental y conductos radiculares infectados. Tiene gran capacidad de producir enzimas proteolíticas y sus factores de virulencia se observan en el Cuadro I.

Cuadro I. Factores de virulencia de *Parvimonas micra* y como afecta al tejido periodontal.

FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Estructura proteínicas	Interacciones específicas entre las colonias formación de biopelículas
Estructuras carbohidrato	Interacciones específicas entre las colonias formación de biopelículas
Estructuras fibrilares	Acción de adherencia.

Cfr. Liébana y col. 2002, Newman 1998, Bas y col. 2000.

Varios estudios han concluido que *P.gingivalis* y *P.intermedia* están asociados con la severidad de la destrucción de los tejidos periodontales, así como su presencia en la biopelícula subgingival y la relación con la edad del individuo (aproximadamente entre 30 a 49 años. (Nisengard 1998, Takeuchi 2001, Castillo y col. 2002, Tanaka 2002, Liébana y col. 2004)

C) Bacilos Gram-positivos anaerobios facultativos

Actinomyces

Son bacterias en forma de bacilos Gram-positivos anaerobios facultativos. Forman parte de la microbiota, son microorganismos pleomórficos: bacilos rectos, curvados, cocobacilos, con ramificaciones. Pueden aparecer como elementos aislados, en parejas, cadenas cortas, empalizadas y en cúmulos de disposiciones irregulares que recuerdan los rayos del sol o una red. No son móviles, se adaptan a crecer en aire con atmósfera de un 5 - 10% de CO₂. Son heterofermentativos. Las especies orales no producen hemólisis, salvo algunas cepas de *A. odontolyticus*, que son α -hemolíticas con coloraciones gris-blanquecinas, hasta incluso rojizas. Hillman y col. reportan 12 diferentes especies de 5 géneros: *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Stafilococcus*, *Prevotella* y *Actinobacillus* que muestran actividad hemolítica en la placa subgingival de pacientes con enfermedad periodontal. Aunque la actividad hemolítica en la enfermedad oral es desconocida, se ha notificado estar elevada en sitios de enfermedad en la cavidad bucal, atribuyendo ésta a cisteína asociada con las reacciones de ácido sulfídrico (H₂S); por lo que es posible que el metabolismo de compuestos conteniendo sulfhidrilo y agentes responsables de hemólisis tiol-dependientes, juegan un papel importante en la progresión de la enfermedad periodontal. (Takada 2003, Liébana y col. 2002, Liébana y col. 2004, Nisengard 1998).

El *Actinomyces spp.* tiene importancia cuantitativa en la biopelícula dental y su aislamiento resulta siempre con otras bacterias, por lo que se dificulta establecer su papel en los procesos patológicos. Generalmente todas las especies se aíslan en placa, cálculo y surco gingival, así como de papilas interdetales y criptas amigdalares. El *A. odontolyticus* se relaciona con lesiones de caries y el *A. naeslundii* con lesión cariosa radicular y enfermedad periodontal. Todas las especies pueden intervenir con la génesis de gingivitis inespecífica asociada con caries.

En el Cuadro J se puede observar los factores de virulencia que se manifiestan *in vivo e in Vitro* para estas bacterias.

Introducción

Cuadro J. Factores de virulencia *in vivo* e *in vitro* de *Actinomyces ssp.* y el daño que causa en el tejido periodontal.

FACTORES DE VIRULENCIA <i>IN VIVO</i>	
FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Fimbrias estructurales	Procesos de adhesión , agregación y congregación
* Ureasas y * neuraminidasa.	Enzimas elaboradas por <i>A. naeslundii</i> y <i>A. odontoliticus</i> .
Cristales intracelulares	Formación de calculo, como matriz de depósitos mineralizados.
Fructanos	Aporte nutricional más que adherente.
FACTORES DE VIRULENCIA <i>IN VITRO</i>	
FACTOR DE VIRULENCIA	AFECCIÓN PERIODONTAL
Actividad proteolítica	Lesiones de caries.
Productos ácido finales	Lesiones de caries.
Actividad osteoclástica	Reabsorción Ósea
Alteración funcional fibroblástica	Alteración colágena
Sustancias quimiotácticas para neutrófilos	Inhibición inmunitaria
* La ureasa conduce a partir de la urea a la producción de amoniaco que elevaría el pH de las placas.	
* La neuraminidasa, para algunos estreptococos, elimina ácido siálico de las glucoproteínas salivales; el resultado es: a) que quedan expuestos nuevos receptores como es galactosa que permite la unión bacteriana a los mismos y b) que dichas glucoproteínas no son solubles dando lugar a su depósito y degradación por otras enzimas bacterianas.	

Cfr. Nisengard 1998, Liébana 2002, Takada 2003.

1.5. RESPUESTA DEL HOSPEDADOR ANTE LA INFECCIÓN

1.5.1. Inmunidad Innata (Inespecífica, natural)

La inmunidad innata o natural consiste en un conjunto de mecanismos que nos defienden de los microorganismos y es considerada como la primera línea de defensa del hospedador. En ella participan las barreras físicas que les impiden el acceso al cuerpo del individuo: piel, moco, secreciones y fluidos corporales; y, si consiguen acceder, se activan otros mecanismos defensivos destinados a eliminarlos.

En dichos mecanismos participan las células fagocíticas y los eosinófilos de los tejidos y la sangre, las células “asesinas naturales” (células NK, del inglés *Natural Killer*), y varias moléculas solubles como las citoquinas o interleuquinas

Introducción

(IL), los interferones (IFN) y el factor de necrosis tumoral, (Medzhitov y col. 2000) entre otros. (Ver Cuadro K).

Tradicionalmente las respuestas inmunes han sido divididas como inmunidad innata y adquirida. Las principales diferencias entre ambas respuestas son los mecanismos y tipos de receptores usados para el reconocimiento antigénico. En la inmunidad específica, los receptores reconocen a los microorganismos infecciosos e identifican antígenos propios y del medio. Esto es dañino para el hospedador, ya que la activación del sistema inmune por tales antígenos puede conducir a enfermedades autoinmunes y alergias. En cambio, en la inmunidad natural, los receptores reconocen estructuras altamente conservadas presentes en un gran grupo de microorganismos. Estas estructuras son designadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y los receptores involucrados en identificarlas son llamados receptores para reconocimiento del patrón. (Medzhitov y col. 2000, Hernández y col. 2001)

La delimitación entre inmunidad innata e inmunidad adquirida no es posible. Después de la identificación del microorganismo, las señales producidas por la inmunidad inespecífica controlan aspectos de la inmunidad específica. Igualmente, la respuesta adaptativa puede dirigir a la respuesta innata contra agentes infecciosos, como en el caso de la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos. Ambas respuestas inmunes son reguladas en gran parte por un grupo de proteínas llamadas interleuquinas o citoquinas.

La respuesta natural o inespecífica no discrimina entre las diferentes sustancias extrañas y no crea memoria inmunológica. Aunque la inmunidad innata es muy eficaz como defensa frente a infecciones y cáncer, muchas veces es insuficiente para eliminar el estímulo antigénico, por lo que el sistema inmune ha desarrollado otros mecanismos como la inmunidad adquirida o específica.

Los principales procesos efectores de las respuestas de la inmunidad innata son la inflamación y la fagocitosis.

Introducción

Cuadro K. Defensa innata del hospedador.

DEFENSAS INNATAS DEL HOSPEDADOR		
Barreras anatómicas Impiden la invasión y proliferación de patógenos	Factores mecánicos	Descamación de la piel, movimiento de cilios, peristaltismo gastrointestinal, lavado lagrimal y saliva, efecto de atrapamiento del moco en vías aéreas y gastrointestinales
	Factores químicos	Ácidos grasos del sudor, lisozima y fosfolipasa de lágrimas, pH bajo en sudor secreciones gástricas, defensinas (péptidos antimicrobianos), opsoninas
	Factores biológicos	Flora normal
Barreras humorales Moléculas solubles con acción antimicrobiana y/o responsables del proceso inflamatorio	Sistema del complemento	Incremento de la permeabilidad vascular, reclutamiento de células fagocíticas, opsonización y lisis de microorganismos
	Sistema de coagulación	Incremento de permeabilidad vascular, agente quimiotáctico de células fagocíticas. Acción antibacteriana directa (β -lysina actúa como detergente catiónico)
	Lactoferrina y transferrina	Captadoras de hierro, nutriente esencial para las bacterias Limita su crecimiento
	Interferones	Limitan la replicación viral
	Citoquinas	Regulan y coordinan actividades celulares
Barreras celulares Responsables del sistema efector para la eliminación de agentes extraños o inmunovigilancia	Neutrófilos	Células polimorfonucleares reclutadas en el sitio de infección responsables de la fagocitosis y contribuyen al daño tisular durante la inflamación
	Macrófagos	Función fagocítica capaces de matar microorganismos. Contribuyen a la reparación tisular y actúan como célula presentadora de antígeno que se requiere para la inducción de las respuestas inmunitarias específicas
	Células NK	Células asesinas naturales que lisan células infectadas por virus y células tumorales. No son parte de la respuesta inflamatoria. Producen "perforinas" con acción citotóxica .
	Eosinófilos	Célula efectora en protección contra infecciones parasitarias.

1.5.1.1. Inflamación.

Es la forma de manifestarse de muchas enfermedades. Se trata de una respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, y está generada por los agentes inflamatorios. Esta respuesta ocurre sólo en tejidos conectivos vascularizados y surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado.

Introducción

La inflamación juega tres papeles esenciales en combatir la infección. El primero es proporcionar moléculas efectoras y células al sitio de infección, así como aumentar la muerte de los microorganismos invasores por la línea frontal de macrófagos. La segunda es proporcionar una barrera física en la forma de microcoagulación vascular para prevenir la diseminación de la infección en el sistema sanguíneo y la tercera es promover la reparación del tejido dañado.

Por las características de duración y células que participan, la inflamación se clasifica en aguda y crónica.

La inflamación se inicia como una reacción aguda la cual evoluciona a una fase crónica si no se resuelve. La inflamación aguda es un proceso rápido y relativamente corto, caracterizado en la exudación de un fluido y emigración de leucocitos, inicialmente neutrófilos; mientras que la inflamación crónica se extiende por un periodo prolongado y se asocia con la infiltración de linfocitos y macrófagos, así como la proliferación de vasos sanguíneos y fibrosis. La inflamación se termina cuando el invasor y los mediadores secretados son eliminados, sin embargo, muchos factores modifican el curso y la apariencia morfológica así como el patrón de terminación y duración de la inflamación. (Kantarci y col. 2005)

Las etapas fundamentales del proceso inflamatorio son tres:

- 1) Alteraciones vasculares: son alteraciones hemodinámicas y de la permeabilidad vascular
- 2) Cambios celulares: exudación celular
- 3) Curación y reparación de la lesión

Entre las moléculas responsables de estos procesos se encuentran los derivados del plasma y los derivados de las células, entre los primeros están los activadores del factor XII (cininas y factores de coagulación), los factores del complemento activados (C3a, C3b y C5a) y las proteínas de fase aguda.

Entre los mediadores derivados de las células se encuentran principalmente los producidos en los polimorfonucleares (PMN), principalmente los neutrófilos y los mastocitos (basófilos); que son secretados por desgranulación o por activación de los componentes de membrana. Estos mediadores se clasifican de acuerdo a si estas moléculas son preformadas o son sintetizadas de *novo*. En el primer caso se

Introducción

encuentran las aminas vasoactivas (histamina, serotonina) y las enzimas lisosomales presentes en los gránulos, como son: proteasas neutras, hidrolasas, catepsina G, carboxipeptidasa, superóxido dismutasa y peroxidasa, entre otras.

Una vez que la célula ha sido activada, son sintetizadas diferentes moléculas como: los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas y leucotrienos), el factor activador de plaquetas, las citoquinas, las quimioquinas, el óxido nítrico, los radicales libres derivados del oxígeno y los neuropéptidos; las cuales participan como efectores en el proceso inflamatorio.

Tanto los mediadores como los efectores inflamatorios son producidos por un precursor activado, pero la función del mediador es amplificar (atraer y activar más precursores), mientras que la función del efector es ocasionar directamente la alteración del comportamiento de los tejidos involucrados en el proceso inflamatorio. (Walker 2004)

1.5.1.2. Fagocitosis.

Es el mecanismo básico que opera en la inflamación para lograr la eliminación o aislamiento del agente perjudicial o del tejido dañado; consiste en la unión del microorganismo a la superficie de la célula fagocítica especializada (PMN, macrófago) y el englobamiento para crear un fagosoma al que se unen lisosomas.

La fusión de los gránulos de los fagocitos origina la destrucción del microbio por los siguientes mecanismos (Rojas-Espinosa y col. 2003, 2004a, 2004b):

- a) Mecanismos dependientes del oxígeno: Se activa una ruta metabólica (hexosa-monofosfato), que consume grandes cantidades de oxígeno; lo que a su vez genera radicales tóxicos antimicrobianos (como el O_2^- , H_2O_2 , OH^- , $O_2^{\cdot 1}$) que a su vez pueden reaccionar para dar otras sustancias tóxicas como hipocloritos y cloruros. Estas sustancias provocan una intensa halogenación que afecta a muchas bacterias y virus.
- b) Mecanismos dependientes del óxido nítrico (NO), metabolito sintetizado a partir de la L-arginina, participa en procesos como regulación de la presión arterial, citotoxicidad y comunicación celular.

Introducción

- c) Mecanismos independientes del oxígeno: liberación de enzimas hidrolíticas como son lisozima, proteínas catiónicas, proteasas, etc., que inducen efectos bactericidas o bacteriostáticos.

1.5.2. Inmunidad adquirida (específica, adaptativa)

La respuesta inmune específica es un sistema integrado de defensa del hospedador en el que participan numerosas células y moléculas que actúan en cooperación, los más importantes son los linfocitos, los anticuerpos y las citoquinas.

La inmunidad específica además de tener muchos de los mecanismos de la inmunidad natural para eliminar a los invasores extraños, ha añadido dos propiedades importantes:

1) Es capaz de recordar cada encuentro con el antígeno, de tal manera que los contactos posteriores desarrollan una respuesta amplificada y,

2) Amplifica los mecanismos protectores de la inmunidad natural haciendo que estos microorganismos sean eliminados más fácilmente en su lugar de entrada.

A pesar de existir claras diferencias entre los componentes de la inmunidad natural y los de la específica, en la mayoría de los casos ambas colaboran entre sí obteniendo una mayor actividad potenciándose unos a otros.

La inmunidad adquirida o adaptativa se diferencia en base a las células y moléculas que intervienen en: inmunidad humoral e inmunidad celular. La inmunidad humoral puede ser transferida por medio de plasma o suero, en donde se encuentran los anticuerpos que son las moléculas efectoras de este tipo de inmunidad; en contraste, la inmunidad celular se transfiere mediante células de la sangre, del timo, bazo, ganglios linfáticos, etc.

Las principales características de la respuesta inmune adaptativa son la especificidad y la memoria inmunológica. La especificidad se basa en la existencia de un amplio repertorio de receptores presentes en linfocitos, los que son capaces de reconocer particularmente regiones moleculares de estructuras propias y ajenas denominadas genéricamente epitopos o determinantes antigénicos.

La respuesta inmune adaptativa se desarrolla mediante dos mecanismos fundamentales: a) respuesta inmune humoral, donde los linfocitos B juegan un papel

Introducción

preponderante y b) la respuesta inmune celular, donde los linfocitos T son las células fundamentales.

La respuesta inmune adaptativa se inicia por las células dendríticas (CDs) que actúan como células presentadoras de antígeno (APC) para estimular a células T. Una vez que las CDs son activadas y presentan los péptidos bacterianos, viajan al nódulo linfático más cercano para activar a las células T y se desencadenan las siguientes fases (Castellanos y col. 2000):

1. **Fase de reconocimiento:** Consiste en la unión del antígeno extraño a los receptores específicos existentes en la membrana de los linfocitos maduros. Los linfocitos B que median la inmunidad humoral, expresan moléculas de anticuerpos en su superficie, las cuales se unen a proteínas extrañas, polisacáridos o lípidos en su forma soluble; los linfocitos T, responsables de la inmunidad celular expresan los llamados receptores de la célula T (TCR), que reconocen pequeñas secuencias de péptidos antigénicos uniéndose a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) sobre la célula presentadora de antígeno. Los primeros en efectuar este reconocimiento son los linfocitos TCD4.
2. **Fase de activación:** Secuencia de eventos que se producen en los linfocitos como resultado del reconocimiento antigénico específico. Todos los linfocitos experimentan dos cambios fundamentales que son la proliferación y la diferenciación.
3. **Fase efectora:** Los linfocitos T diferenciados en células efectoras migran hacia los sitios de agresión, donde desarrollan sus funciones de eliminación de los patógenos, mientras los linfocitos B las ejecutan en los propios órganos periféricos. Muchas de estas acciones efectoras promueven la participación de células no linfoides y de mecanismos de inmunidad innata, a saber: anticuerpos opsonizantes que favorecen la fagocitosis por parte de macrófagos y neutrófilos PMN; anticuerpos que activan el sistema del complemento; inmunoglobulinas E que estimulan la desgranulación de mastocitos; citoquinas segregadas por los linfocitos T, necesarios para estimular la inmunidad natural.

Introducción

Para entender las respuestas de la inmunidad celular es importante conocer que los linfocitos T se clasifican en dos subpoblaciones: los CD4+ o cooperadores y los CD8+ o citotóxicos. A su vez, los CD4+ se subdividen en TH1 y TH2 dependiendo del patrón de citoquinas que secreten; así, los TH1 secretan IFN γ , TNF β e IL-2, mientras que los TH2 secretan IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Los linfocitos TH1 están asociados con la respuesta celular, y los TH2 con la respuesta humoral.

Este patrón bipolar no es rígido, sino que las células T son potencialmente productoras de un espectro completo de perfiles de citoquinas (TH0), siendo las células TH1 y TH2 representantes de los perfiles extremos del mismo. Por lo tanto, hay células TH1 que secretan principalmente IL2 e IFN γ y son fundamentales en la regulación de la respuesta celular y las células TH2 que secretan fundamentalmente IL4, IL5 e IL10 y participan en la regulación de la respuesta humoral. Recientemente se han descrito a las células TH3/Tr1 (T reguladoras 1) que producen IL10 y células productoras del factor de crecimiento en transformación beta (TGF β). La interacción de los linfocitos TH con las células del sistema innato dirige la diferenciación hacia un patrón TH1 o TH2.

Los linfocitos T citotóxicos expresan en su superficie la molécula CD8 y son los responsables de los fenómenos de respuesta inmune de citotoxicidad mediada por células; este sistema es clave frente a infecciones virales, bacterianas y parasitarias, así como frente al crecimiento de células tumorales y rechazo de órganos.

1.5.3. Mecanismos de resistencia innata en enfermedades periodontales

A) Proceso inflamatorio.

Cuando la placa supragingival se acumula, se organiza en biocapas, en donde los patógenos Gram-negativos anaerobios colonizan y crecen. Así se produce una gran respuesta inflamatoria que se manifiesta clínicamente como gingivitis incipiente.

En individuos susceptibles, las biopelículas entran al surco gingival y rompen la unión entre la corona y el epitelio de unión del diente. Este se convierte en una bolsa epitelial creando una bolsa periodontal y permitiendo mayor acceso de sustancias bacterianas al tejido conectivo y a los vasos sanguíneos haciéndose más

Introducción

inflamados y permeables. Por este hecho llegan gran número de neutrófilos produciendo la respuesta inflamatoria aguda en la bolsa epitelial y se establece clínicamente como periodontitis.

Los neutrófilos (PMN) son las células inmunes más abundantes presentes en el tejido periodontal. La interleuquina 8 (IL-8) es quimioatrayente de neutrófilos, y hay aumento de sus niveles en células gingivales. Actúan como autoamplificadores secretando IL-8 y por la liberación de H₂O₂. El aumento de PMN y de IL-8 contribuyen a la respuesta inflamatoria así como un aumento del proceso fagocítico.

La destrucción del ligamento de matriz extracelular se debe a las metaloproteinasas de matriz (MMPs) y la resorción del hueso alveolar por PGE₂, ambas se producen por los macrófagos y fibroblastos residentes. Sin embargo, también se producen inhibidores de estas enzimas como las TIMPs. (De Souza y col. 2005)

Se sabe que el debilitamiento del epitelio permite la penetración de la bacteria o sus productos en el tejido conectivo gingival, lo que induce una respuesta del hospedador. Por lo tanto, la inflamación presente en la encía superficial representa una respuesta altamente eficiente del hospedador hacia a bacteria que coloniza el diente. El control de la penetración de la bacteria se lleva a cabo por las células inflamatorias presentes en el tejido superficial conectivo y la perturbación de este equilibrio puede llevar al exceso de producción de IL-1 y/o TNF, con lo que se enciende una cascada que lleva a la generación de mediadores inflamatorios secundarios, el reclutamiento de células cercanas al hueso, la formación de osteoclastos y la pérdida de hueso. (Assuma y col. 1998)

Cuando la enfermedad afecta al ligamento periodontal y al hueso alveolar, aparece la periodontitis crónica (Espejel y col. 2002). Este proceso es el resultado, en gran medida, de la respuesta del hospedador contra los microorganismos de la biopelícula mas que a los factores de virulencia propios de los periodontopatógenos. (Assuma y col. 1998)

Mientras que se aprecia que los neutrófilos juegan un papel esencial en la defensa del hospedero, su activación prolongada y aberrante puede llevar al daño del tejido y a secuelas deletéreas observadas en muchas enfermedades crónicas. En este

sentido, recientemente se ha observado que la periodontitis agresiva localizada es un ejemplo de destrucción tisular mediada por neutrófilos.

B) Barrera oxidativa.

Otro mecanismo de defensa del hospedador que se puede contemplar, es la alta vascularidad del tejido gingival, el cual presenta una barrera oxidativa a la penetración de flora anaerobia proveniente de la placa dental. El potencial de oxígeno (pO_2) en bolsas periodontales con una profundidad promedio de 6 mm, es aproximadamente de 13 a 15 mm de Hg; así que cuando la bacteria vive en el ambiente, penetra el tejido gingival y encuentra un tejido con un pO_2 de 14 a 15 mm de Hg, por lo que la bacteria no sobrevive.

Mientras ciertas bacterias tales como *A.actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* y las espiroquetas, pueden ser detectadas dentro del tejido, éstas rara vez son capaces de causar necrosis del tejido.

Las condiciones que causan vasoconstricción de arteriolas periféricas tales como fumar y estrés, también son considerados factores de riesgo para la enfermedad periodontal, probablemente porque la reducción del flujo sanguíneo permite así alguna invasión de bacterias anaerobias y éstas sobreviven en los tejidos por ellas mismas o sus productos activan la colagenasa intersticial. En este sentido la selección de microbios anaerobios en la placa subgingival puede ser beneficiosa para el hospedador, ya que si las especies facultativas fueran dominantes, la invasión tisular y la necrosis podrían ser más comunes. (Bergstrom y col. 1988, Genco y col. 1999, Loesche y col. 2001, Ling y col. 1993, Ishikawa y col. 1997)

C) Activación del complemento.

El complemento es una batería de nueve o más proteínas, las cuales están unidas secuencialmente en cascada por medio de una enzima. La mayoría de los componentes están divididos por unidades reconocidas como C1, por la vía clásica, activando las unidades C4, C2, C3, y de la unidad C5 hasta C9. La cascada del complemento por vía clásica es iniciada por la combinación de inmunoglobulinas específicas con el antígeno y los primeros componentes del complemento, C1.

El complemento puede ser también activado por la vía alterna mediante otros factores como endotoxinas (lipopolisacáridos, LPS) de las paredes de las células de bacterias Gram-negativas. El producto final de la cascada es una esterasa, la cual lisa

la célula de la bacteria. Dos productos intermediarios de la cascada, C3 y C5, se adhieren a los sitios receptores en las células mastocitos y basófilos. Ellos liberan histamina y otras sustancias con actividad pro inflamatoria.

Esa liberación de mediadores incrementa la permeabilidad vascular y en consecuencia también se presenta la quimiotaxis por leucocitos neutrófilos (PMNs). C3 también ayuda a la fagocitosis por la adherencia del antígeno al fagocito a través del receptor C3 sobre la superficie de PMNs, monocitos y macrófagos.

Las proteínas del complemento están presentes en el FGC, lo que explica la fuerte actividad proinflamatoria en estos sitios. (Eley 1998 Gemmell y col. 1997, Henderson y col. 1996, Wilson y col. 1996)

D) Citoquinas.

En investigaciones recientes se ha observado la participación de varias citoquinas en el periodonto normal y en la patogénesis de las enfermedades periodontales, ya que estas moléculas tienen un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis del tejido en un proceso que requiere un balance delicado ente las actividades anabólicas y catabólicas.

Las principales funciones en que las citoquinas participan son: proliferación, desarrollo, diferenciación, homeostasis, regeneración, reparación e inflamación. (Okada y col. 1998, Ebersole y col. 1994, Gemmell y col. 1997, Gemmell y col. 1998, Gemmell y col. 2001, Castrillón y col. 2007)

Las citoquinas son proteínas pequeñas o péptidos que regulan la producción y activación de diferentes células efectoras, se producen transitoriamente, son muy potentes y generalmente actúan a una concentración baja e interactúan con receptores expresados en número relativamente bajo. Algunas citoquinas se producen por un solo tipo celular, sin embargo, otras son producidas por varios tipos de células. Son pleiotrópicas (múltiples actividades) y por lo tanto, la respuesta a una citoquina depende de su concentración local, tipo celular y otros reguladores a los que están expuestos.

Las citoquinas proinflamatorias IL-1, el TNF α e IFN γ son consideradas los principales mediadores de las enfermedades inflamatorias crónicas, incluyendo la periodontitis; (Eley 1998, Gemmell y col. 1997, Reynolds y col. 1997, di Giovine y col. 1996, Dinarello 1994, Offenbacher 1996) y la IL-6, IL-8, la prostaglandina E₂

Introducción

(PGE₂), la colagenasa y las metaloproteinasas, se consideran también mediadores en la destrucción periodontal cuando sus niveles son elevados durante los procesos patológicos. En cambio, el aumento de citoquinas y moléculas con acción antiinflamatoria, como son la IL-4, la IL-10 TNF α , la IL-1 y el receptor antagonista (IL-1ra) y TIMPs, garantizan el periodonto sano. (Sodek 1992)

Los perfiles de citoquinas en tejidos sanos y enfermos se presentan en la figura 1. La periodontitis es un proceso dinámico ya que las mismas células que producen citoquinas pro-inflamatorias y MMPs también producen mediadores que suprimen las respuestas inmuno-inflamatorias como IL-4, IL-10 y TGF β que son importantes en la regulación de estas respuestas.

La continuidad de la destrucción en la enfermedad periodontal depende del balance entre moléculas proinflamatorias como IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, PGE₂ y MMPs que perpetúan la respuesta inflamatoria y la destrucción de tejidos y las moléculas que regulan esta respuesta y reducen los niveles de moléculas destructivas como TIMPs y reguladoras como IL-4, IL-10, IL-1ra y TGF β , por lo tanto, la enfermedad periodontal se caracteriza por altos niveles de citoquinas proinflamatorias y bajos niveles de citoquinas que suprimen la inflamación, lo opuesto se observa en el periodonto sano. (Smalley 1994, De Souza y col. 2005)

1.5.4. Participación Celular en la Respuesta Inmune en las Enfermedades Periodontales

Histológicamente la enfermedad periodontal se caracteriza por la acumulación de células inflamatorias en los tejidos conectivos, extravasculares de la encía. La placa subgingival se asocia estrechamente con el inicio y progresión de la enfermedad. A pesar de la diversidad de presentaciones clínicas de la gingivitis y la periodontitis se pueden distinguir histológicamente tres estados: agudo, estable y progresivas. (Page y col. 1976)

Las lesiones agudas involucran la respuesta inmune innata a la microflora de la biocapa oral. Las células epiteliales gingivales reconocen a los componentes bacterianos vía receptores y responden produciendo IL-1 β y TNF α . Las bacterias y sus productos penetran a los tejidos subyacentes e interactúan con fibroblastos y células dendríticas. Estas células producen citoquinas proinflamatorias. Se generan

Introducción

señales inmunes adicionales por la activación de la vía alterna del complemento. Estos productos bacterianos y las citoquinas proinflamatorias afectan las células vasculares del endotelio. Las células endoteliales expresan moléculas de adhesión celular (ICAM y VCAM) que reclutan células inmunes circulantes. La permeabilidad vascular se incrementa permitiendo la afluencia de células fagocíticas y suero al tejido gingival. Los neutrófilos y macrófagos son atraídos al sitio de infección por quimiotaxis seguido de un gradiente de proteínas del complemento y productos bacterianos. (Page 1998, Schroeder y col. 1997, Reynolds y col. 1997, Lappin y col. 2003)





PERIODONTO SANO	MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN	PERIODONTO ENFERMO
Niveles 	MOLECULAS PROINFLAMATORIAS: IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ , PGE2, MMPs, factores activados del complemento	 Niveles altos
 Niveles altos	MOLECULAS ANTI-INFLAMATORIAS: IL-4, IL-10, TGF β , IL-1Ra, TIMPs	Niveles 

Figura 1. Perfiles de citoquinas en periodonto sano y enfermo. Las manifestaciones de signos y síntomas en las enfermedades periodontales se ven favorecidas cuando las concentraciones de citoquinas proinflamatorias vs anti-inflamatorias se encuentran elevadas.

En la gingivitis los macrófagos activados producen IL-12 e IFN γ , en conjunto, este proceso resulta en inflamación gingival responsable de las manifestaciones clínicas de la gingivitis. Una respuesta inflamatoria aguda puede limitar la diseminación de los patógenos periodontales, sin embargo la eliminación completa de estas bacterias requiere de la acción de los linfocitos. (Ebersol y col. 1994)

Introducción

Una fuerte respuesta de defensa innata es el resultado de la acumulación de IL-12, eso promueve el reclutamiento y la activación de macrófagos y linfocitos cooperadores de tipo 1 (TH1). La fagocitosis por macrófagos activados y neutrófilos, sirve para mantener la infección bacteriana bajo control. Sin embargo, la exposición continua a la biopelícula presente en la superficie del diente da como resultado en una infección crónica. El daño limitado a los tejidos ocurre en lesiones estables. Los productos metabólicos bacterianos (como ácido butírico) y los factores de virulencia causan necrosis o apoptosis de las células del hospedador. Además, las proteasas bacterianas pueden dañar directamente al tejido conectivo como el fibrinógeno o fibras de elastina. Estos efectos son relativamente menores en las lesiones estables. Las infecciones a largo plazo no causan resorción del hueso o remodelación extensa del tejido conectivo. (Mac Donald y col. 1993)

La lesión progresiva, en cambio, se asocia con las lesiones más severas de pérdida de los tejidos del hospedador. Estas lesiones siguen después de una respuesta innata débil o ineficiente. Las células que predominan en estos tejidos son linfocitos B, células plasmáticas, y linfocitos cooperadores tipo 2 (TH2). Si la respuesta humoral ha sido suficientemente reforzada y es específica, la infección es eliminada. Si la bacteria evade esta respuesta, el tejido del hospedador puede resultar dañado. La estimulación de estas células por productos bacterianos (como LPS) causa una producción excesiva de citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF α . Estas citoquinas afectan la función de las células del hospedador, y finalmente causan la mayor parte del daño tisular asociado con la enfermedad periodontal. Los fibroblastos cesan de producir fibrinógeno e inhibidores de proteasas y en su lugar las células llamadas dendrocitos sintetizan metaloproteasas (MMP). Estas enzimas junto con las enzimas bacterianas, degradan el tejido conectivo dentro del periodonto.

También es estimulada la producción de otras moléculas proinflamatorias (prostaglandinas), estas moléculas al igual que ciertas citoquinas afectan la homeostasis del hueso alveolar. La formación de hueso por osteoblastos se inhibe en contraste, los osteoclastos son estimulados a desmineralizar y degradar el tejido del hueso. Estos efectos combinados dan lugar al final a la pérdida de dientes en la enfermedad periodontal avanzada. (Page 1998, Seymour 1987, Seymour 1991, Yamamura y col. 1992, Castrillón y col. 2007).

1.5.5. Respuesta inmune adaptativa en enfermedades periodontales

La respuesta inmune que contribuye a la patogénesis de la enfermedad periodontal es compleja y variable. Muchas de estas respuestas son locales, aunque en algunos pacientes hay alteraciones en respuestas inmunes sistémicas. En estas enfermedades se asocia un desequilibrio en la regulación de la respuesta inmune. Hay cambios en la relación de linfocitos periféricos y locales CD4⁺/CD8⁺, depresión de la respuesta proliferativa de linfocitos de sangre periférica y un aumento en la frecuencia de linfocitos T de memoria en los tejidos afectados. (Mathur y col. 1997, Okada y col. 1988).

El papel de la respuesta inmune en la citopatogenia de la enfermedad periodontal ha sido tema de estudio de varios investigadores. En 1987 Brex y col. informaron la presencia de células inflamatorias en la encía sana, principalmente linfocitos T, con pocos linfocitos B y células plasmáticas. Asimismo, se ha publicado que la acumulación de placa provoca el aumento del infiltrado de linfocitos, principalmente células plasmáticas, que persisten aún meses después de haberse controlado la enfermedad. Además, se ha asociado la presencia de linfocitos B con niveles aumentados de IgG en las lesiones periodontales activas sugiriendo una mayor participación de la respuesta inmune humoral. (Okada y col. 1988, Alves y col. 2006)

En 1976 Page y Schroeder relacionaron la imagen histopatológica con la patogenia de la enfermedad, dividiéndola en cuatro estadios: lesión inicial, lesión temprana, lesión establecida y lesión avanzada. En la lesión establecida predominan los linfocitos T y macrófagos, mientras que en la lesión avanzada se observa un incremento de linfocitos B y células plasmáticas. El infiltrado de linfocitos produce IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IFN γ con lo que aumentan las respuestas de linfocitos T y la diferenciación de linfocito B en célula plasmática productora de IgG₂, la cual no es buena fijadora del complemento ni opsonina, por lo que no es capaz de eliminar la infección.

En las fases iniciales del daño periodontal como la lesión temprana e inicial, hay un reclutamiento de células inflamatorias hacia los tejidos conectivos gingivales, aumentando significativamente la liberación de varias citoquinas, linfoquinas,

Introducción

quimiocinas y otros mediadores inflamatorios propios de la respuesta inmune tipo TH₁, junto con gran cantidad de anticuerpos contra bacterias periodontopatógenas propias de la respuesta TH₂. La presencia de estos anticuerpos en el FGC indica que estos anticuerpos se producen localmente en el surco o bolsa periodontal. Sin embargo, no se puede descartar que estas provengan del suero y se encuentren en el FGC como un exudado, lo que indicaría la presencia del microorganismo o sus factores de virulencia como el LPS en el periodonto. La presencia de IgG₁ e IgG₄ en sitios activos de la enfermedad se correlaciona positivamente con el sangrado al sondeo y con la progresión de la enfermedad.

La mayoría de las bacterias periodontopatógenas no invaden los tejidos periodontales, y el sistema inmune no puede eliminar eficientemente a los microorganismos, lo que lleva a una inflamación crónica y una respuesta del hospedador continua y excesiva ocasionando la destrucción del tejido. La respuesta local hacia estas bacterias incluye el reclutamiento de leucocitos y la subsecuente liberación de mediadores y citoquinas que juegan un papel crucial en la patogénesis de la enfermedad periodontal. (Okada y col. 1998) Estos acontecimientos dan por resultado la pérdida de inserción con profundidad del surco gingival, o depresión, formado donde el tejido gingival hace contacto con la superficie del diente creando así una bolsa periodontal. Este concepto de pérdida de inserción convierte a la gingivitis en periodontitis. (Ebersole y col. 1995, Sorsa y col. 1992, Lee y col. 1995, Loesche y col. 2001)

Las citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8 y TNF α se han encontrado con el FGC y estudiado en la progresión de la enfermedad periodontal destructiva. Especialmente, la IL-1, liberada por macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y fibroblastos gingivales, está fuertemente involucrada en los procesos inflamatorios, destrucción de la matriz y cicatrización, además de su fuerte relación con el proceso de resorción ósea que puede sugerir estadios destructivos de la enfermedad.

Si estas células inflamatorias son capaces de contener y eliminar patógenos causales y sus productos (como el LPS) vía fagocitosis y mecanismos de eliminación intracelular, la enfermedad se limita a gingivitis. Si estos mecanismos fallan, y los patógenos y sus productos penetran los tejidos del hospedero, la enfermedad se convierte en periodontitis.

Introducción

1.5.6. Perfiles de las células TH1 ó TH2 en gingivitis versus periodontitis.

Para entender los mecanismos de progresión de gingivitis a periodontitis se debe tomar en cuenta los siguientes hechos: la interleuquina 12 (IL-12) favorece las respuestas con perfil TH1 y el IFN γ aumenta la fagocitosis de neutrófilos y macrófagos. Si en la respuesta innata disminuyen los niveles de IL-12 e IFN γ , se produce una débil respuesta de TH₁. En la lesión estable hay predominio de linfocitos B y células plasmáticas, lo que sugiere un perfil TH₂. La activación policlonal de linfocitos B y la subsecuente producción de IL-4 favorece la respuesta TH₂ lo que ocasiona la producción de anticuerpos, si éstos son protectores, limpian la infección y la enfermedad no progresa, en caso contrario, si no son protectores, la lesión persiste y la activación de linfocitos B resulta en una producción no regulada de IL-1 con la subsecuente destrucción tisular. (Gemmell 2002, Baker 2000, Seymour 2001, Taubman 2001)

Por lo tanto, en las lesiones estables el perfil predominante es TH₁; en cambio, cuando se presenta TH₂ las respuestas tienden a la progresión de periodontitis.

Entre las evidencias que apoyan que en la periodontitis hay una disminución de respuestas TH₁, se ha demostrado que en el FGC hay una disminución de IL-2 en tejido con periodontitis, comparado contra el tejido sano y que las células mononucleares circulantes en pacientes con periodontitis estimuladas con mitógenos, reducen la secreción de IFN γ y la expresión tanto de IFN γ como de IL-2 está disminuida. En contraste, las evidencias experimentales apoyan que durante la periodontitis se produce una respuesta aumentada del tipo TH₂, observándose que la IL-4 es prominentemente en tejidos periodontales comparada con IL-2, IFN γ e IL-6.

Por lo tanto, un perfil TH₁ es característico de lesiones estables o gingivitis mientras que un perfil TH₂ se asocia con lesiones de periodontitis.

Es importante mencionar que la característica para un perfil TH₂ es la IL-4, la cual está ausente de lesiones periodontales, ya que los niveles de PGE₂, IL-1 β e IL-2 están elevados en el FGC; en contraste, TNF α e IFN γ están disminuidos y aún más los niveles de IL-4 e IL-6. Para explicar este hecho se sugiere que más que la ausencia de estas moléculas en el tejido, su tiempo de vida media es muy corto.

Actualmente se ha demostrado la participación de la IL-10 como una interleuquina importante para la progresión de la enfermedad periodontal, ya que el

Introducción

análisis en tejidos periodontales ha demostrado dos patrones diferentes: en el primero se expresa $IFN\gamma$, IL-6, IL-10 e IL-3, mientras que en el segundo expresan las mismas citoquinas, a excepción de la IL-10. Lo importante es que aquellas lesiones que producen altos niveles de IL-10 permanecen estables, mientras las lesiones con niveles bajos de IL-10 progresan a periodontitis. (Kelso 1995, Sasaki 2000, Gemmell 2002, Yeng 2003, Vega 2006, Nakajima 2005, Mathur 1997)

1.5.7. Participación de la respuesta inmune en la resorción ósea periodontal.

La relación estrecha entre el sistema inmune y el esquelético se ha determinado desde los años 70 del siglo XX. Desde entonces se ha demostrado que ambos sistemas comparten un número de moléculas reguladoras incluyendo citoquinas, receptores, moléculas de señalización y factores de transcripción. Esto es debido a que las células inmunes se forman a partir de células hematopoyéticas y se mantienen en la médula ósea, por lo que es ahí donde interactúan con las células del hueso. Por lo tanto, existe evidencia de que la fisiología y patología de un sistema puede afectar al otro, por esta razón ha surgido el término “Osteoinmunología” como una nueva disciplina de estudio que ampara ambos campos científicos (Takayanagi 2007, David 2007, Walsh 2006).

El mantenimiento de la masa ósea depende de un complejo y equilibrado proceso de remodelación ósea, con sus dos fases fundamentales: 1) la resorción, comandada por los osteoclastos, y 2) la formación (fabricación y depósito de matriz extracelular ósea), llevada a cabo por los osteoblastos. En ellas intervienen numerosos factores sistémicos de naturaleza inmuno-endócrina, así como elementos de regulación local.

La resorción se define como la pérdida de sustancia de cualquier tejido mineralizado, mediada por sistemas celulares y humorales propios. La resorción que sufren todos los tejidos duros de los dientes temporales durante el cambio es considerada como fisiológica. En los dientes definitivos, se consideran fisiológicas las resorciones menores auto-reparables que ocurren, fundamentalmente en el cemento de las superficies radiculares mesiales y en las paredes del foramen apical (transposición a distal), como efecto de las tensiones que se generan durante la deriva

Introducción

natural de los dientes hacia la línea media. El resto de las resorciones dentarias, sean de causa general o local, se consideran patológicas.

Toda resorción patológica de causa local es el efecto de la inflamación asentada sobre un tejido mineralizado, es un proceso mediado por interacciones complejas entre factores humorales locales (citoquinas) y elementos celulares (monocitos y clastos multinucleados) especializados en la destrucción de tejidos duros. Sin embargo, la inflamación precisa de los vasos sanguíneos es propia de los tejidos vascularizados (inflamación primaria), no obstante, los tejidos avasculares también manifiestan una inflamación si son invadidos por vasos (tejido de granulación) procedentes de los tejidos vascularizados e inflamados contiguos; en este sentido los tejidos avasculares (duros o blandos) sufren una inflamación secundaria. Por lo tanto, toda resorción dentaria necesita de la inflamación primaria del tejido pulpar (resorción pulpógena, endodontógena) de los tejidos vascularizados peridentarios (resorción periodontógena). (Del Nero 2005)

La enfermedad periodontal crónica, que consiste en la inflamación que comienza en la encía (gingivitis) puede extenderse a las estructuras de soporte del diente transformándose así en periodontitis. (Vega Navarro 2006)

Los osteoblastos se derivan de células primitivas mesenquimales por acción del factor de crecimiento transformante β (TFG β), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y proteínas morfogénicas óseas (BMPs). Los osteoclastos se originan de precursores hematopoyéticos y en su diferenciación participan el factor estimulador de colonias granulocito-macrófago (GM-CSF) y el factor estimulante de colonias monocito-macrófago (M-CSF). Diferentes estudios han establecido la relación entre los osteoblastos y sus células precursoras estromales con los precursores hematopoyéticos de los osteoclastos y los mediadores solubles que modulan estas interacciones, incluyendo el factor de diferenciación de los osteoclastos o TRANCE y la osteoprotegerina; así como factores solubles como la hormona paratiroidea (PTH), la vitamina D3 y la calcitonina.

Las células del estroma osteoblástico están esencialmente implicadas en la función y diferenciación osteoclástica a través el contacto célula-célula. Así mismo se ha demostrado la presencia de un factor en la membrana de las células osteoblásticas, miembro de la superfamilia de ligandos del TNF (factor de necrosis

tumoral): el RANKL (Ligando Receptor del Activador del Factor Nuclear Kappa-B). Su producción es máxima en las células indiferenciadas del estroma y se reduce a medida que madura el fenotipo osteoblástico. Estimula la diferenciación, sobrevida y fusión de las células precursoras de los osteoclastos, activa los osteoclastos maduros y prolonga su vida útil. Como resultado, permite la expansión de la masa osteoclástica activa capaz de formar sitios de resorción. Por lo tanto, la erosión del hueso se correlaciona con el tiempo de formación y el número de los osteoclastos. (Mandalunis 2006, Lafita 2003)

Ya que el sistema inmune actúa extensamente con la homeostasis del hueso, se asume que las células inmunes localizadas en la encía o en la bolsa periodontal son la fuente de citoquinas reguladoras de hueso. Entre los factores inmunes y/o endocrinos que pueden promover la formación del hueso, disparando la diferenciación osteoblástica o su actividad, se encuentran: la calcitonina y los estrógenos, el Ca^{++} , el factor de crecimiento transformante β , el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el epitelial, el insulinoide, las proteínas morfogénicas óseas y la osteoprotegerina, entre otros. En contraste, los factores que pueden promover la resorción bloqueando a los osteoblastos induciendo la formación osteoclástica y su formación, son: la parathormona, la vitamina D3, los glucocorticoides, las hormonas tiroideas, el $TNF\alpha$, las IL-1, IL-6, IL-11, la prostaglandina E2, el RANKL y el factor estimulante de colonias de monocitos y macrófagos. (Takayanagi 2007, David 2007, Walsh 2006)

Las citoquinas en la patogénesis periodontal, actúan sinérgicamente para la estimulación de la resorción ósea, inducción de la producción de PGE2 y metaloproteinasas de matriz (MMPs) en fibroblastos y monocitos, perpetuando el catabolismo del tejido conectivo periodontal. Por lo tanto, el bloqueo de estas citoquinas a nivel de receptores (antagonistas) o disminuyendo su biodisponibilidad, (receptores solubles) es importante en el establecimiento de su periodo de actividad. (Arce 2004)

1.6. INTERLEUQUINA 1 β .

1.6.1. Interleuquina 1 (IL-1)

La IL-1 se describió en la década de los años 40 como una proteína termolábil presente en el fluido de exudados granulocíticos de animales o humanos

Introducción

con fiebre. En esa época se le conoció como pirógeno endógeno. La IL-1 es el prototipo de citoquina proinflamatoria que induce la expresión de una variedad de genes y la síntesis de varias proteínas que inducen cambios en la inflamación aguda y crónica.

Esta interleuquina es el mediador de las respuestas de defensa del organismo, sin embargo, cualquiera que sea la situación, la sobreproducción sostenida de esta molécula lleva a la debilidad de las funciones normales del hospedador y por lo tanto, la reducción en su síntesis o de sus funciones efectoras es el blanco terapéutico de muchas enfermedades. (Dinarello 1988, Dinarello 1989)

Existen dos formas bioquímicas distintas pero relacionadas estructuralmente con la IL-1: la IL-1 β y la IL-1 α . Entre ellas se tiene únicamente el 26% de homología y son codificadas por genes separados localizados en el cromosoma 2 y cada gen contiene 7 exones. (Dinarello (1974, Auron 1987)

Las dos formas de la IL-1 se sintetizan inicialmente como precursores de 31 KDa (pro-IL-1). Las dos moléculas contienen una secuencia señal que generalmente indica un sitio de rompimiento para enzimas proteolíticas N-terminal. Este hecho hace a la IL-1 como una citoquina única, ya que la pro IL-1 es fragmentada por proteasas carboxi-terminal, generando un péptido maduro de 17 kDa. Este péptido de IL-1 α e IL-1 β es la forma activa de esta molécula. La elastasa, plasmasa, catepsina G, colagenasa y serina proteasa, son enzimas implicadas en la fragmentación de pro IL-1 β para la génesis del fragmento maduro. (Black 1988)

Cuando la IL-1 llega a la circulación, actúa como una hormona induciendo un amplio espectro de cambios sistémicos en sistemas neurológicos, metabólicos, hematológicos y endocrinos. Esta molécula tiene funciones reguladoras en el proceso inflamatorio. Los monocitos y los macrófagos son los productores importantes. La producción de IL-1 puede ser inducida por una variedad de agentes como son los microorganismos, productos microbianos, agentes inflamatorios, lectinas de plantas y antígenos. La IL-1 tiene efectos locales y sistémicos sobre las células inmunocompetentes y otras que participan en las reacciones inflamatorias. Algunos de estos efectos incluyen la activación de linfocitos T, proliferación de linfocitos B y la estimulación de éstos para la síntesis de anticuerpos. También afecta a la quimiotaxis de neutrófilos y células mononucleares y participa en la modulación de la función de las células endoteliales, como lo es en la liberación de GM-CSF,

Introducción

prostaglandina I₂, prostaglandina E₂ y en la síntesis de factor activador de plaquetas. Por acción de la IL-1 se aumenta la actividad del factor activador/inhibidor de plaquetas y del factor tisular procoagulante, también aumenta la adhesión de (PMN), monocitos y líneas celulares de leucocitos. (Dinarello 1994, Preiss 1994, Castrillón 2007)

1.6.2 Receptores de IL-1

Los receptores para la IL-1 reconocen igualmente a las formas α y β , y ya que IL-1 α e IL-1 β disparan a los mismos receptores, algunas regiones contienen los mínimos requerimientos estructurales para su activación. (Dinarello 1994)

Se han descrito dos tipos de receptores para la IL-1: 1) la proteína p80, llamada IL-1RI (receptor tipo I), y 2) la proteína p68, llamada IL-1RII (receptor tipo II); ambos se encuentran presentes en la superficie de las células. Sus diferencias no solamente residen en que son productos de genes diferentes, sino que tienen diferencias de afinidad en la unión con la IL-1, en la regulación de su expresión, el tipo de señal traducida y su capacidad de ser internados, ya que el tipo I es rápidamente internado y permanece en el interior de la célula por 12 horas; en cambio, el tipo II permanece en superficie por 60 minutos y es muy pobremente internado. (Horuk 1987)

La unión del IL-1 al receptor tipo I causa la formación de un heterodímero con una proteína accesoria del receptor (IL-1AcP) y una vez formado este complejo, se activa una cinasa activada por el receptor (IRAK) y la señal se traduce al núcleo de la célula a través de otras cinasas. (Dayer 2002)

1.6.3. Modulación de la IL-1 β

La producción y control de las actividades biológicas de la IL-1 es importante para el control de los procesos patológicos.

1.6.3.1. Interleuquina 1 Receptor antagonista (IL-1ra)

Es una glucoproteína de 222 Kd que inhibe la unión de la IL-1 a su receptor sobre células T, PMN y linfocitos B. Esta molécula tiene 19% de similitud en su

composición de aminoácidos con la IL-1 α y un 26% de similitud con la IL-1 β . A pesar de esta semejanza, no tiene actividad de antagonista. (Dripps 1991)

Existe otro tipo de modulación de la IL-1 que depende de los receptores de tipo II, recordando que éstos tienen un segmento citoplásmico corto que funciona como señuelo, ocasionando una disminución de la cantidad de IL-1 disponible para unirse a su receptor tipo I. Los receptores tipo II son fragmentados de la superficie celular en forma soluble y se unen a la IL-1 en solución previniendo que esta citosina alcance a su célula blanco (ver figura 2).

Por lo tanto, la actividad de la IL-1 está conferida con dos proteínas relacionadas: IL-1 α e IL-1 β ; ambas se unen a receptores llamados tipo I y tipo II. El receptor tipo I (IL-1RI) es responsable de la señalización específica, mientras que el receptor tipo II funciona como receptor señuelo que no causa estimulación celular. (Colotta 1994)

1.6.4. Función de IL-1 β

La IL-1 β posee propiedades inflamatorias, metabólicas, fisiológicas, hemopoyéticas e inmunológicas. Juega un papel central en la inflamación aguda y crónica, local y sistémica. Las endotoxinas bacterianas o una variedad de sustancias inflamatorias no microbianas inducen a la producción de IL-1 β , la cual es liberada en el ambiente local; ésta a su vez, induce capilaridad de células endoteliales para secretar sustancias quimiocinéticas (MCP-1) y para incrementar la expresión de células a moléculas de adhesión (E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1). Además, es un fuerte mediador óseo capaz de inducir resorción ósea osteoclástica, así como la degradación del ligamento periodontal. También se le relaciona con la secreción de insulina, la regulación del apetito, la inducción de la fiebre y el desarrollo del fenotipo neuronal. (Dinarello 1988, Kusano 1998, Castrillón 2007)

La IL-1 unida a membrana participa en la presentación de antígenos y está también activa en células no linfoides como los condrocitos. Por otra parte, diversas evidencias sugieren que gran parte de la IL-1 unida a membrana es la forma alfa y que la forma beta es secretada en el fluido extracelular. (Dinarello 1996)

La IL-1 participa en una red de citoquinas inductoras de otras citoquinas y es importante para el aumento o supresión de varias propiedades biológicas en las

Introducción

respuestas del huésped en la infección o inflamación. En la respuesta inmunológica, la IL-1 induce la producción de ella misma, de IL-2 y factores de crecimiento de linfocitos B, aumentando la respuesta inmune a antígenos. También induce la producción de IFN- γ con un resultado antiinflamatorio. (Dinarello 1988, Atkins 1960, Dinarello 1984, Krane 1985, Saklatvala 1985, Dinarello 1996)

Al contrario de sus actividades catabólicas, la IL-1 interviene en procesos reparativos por incremento de la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno y glucosaminoglicanos.

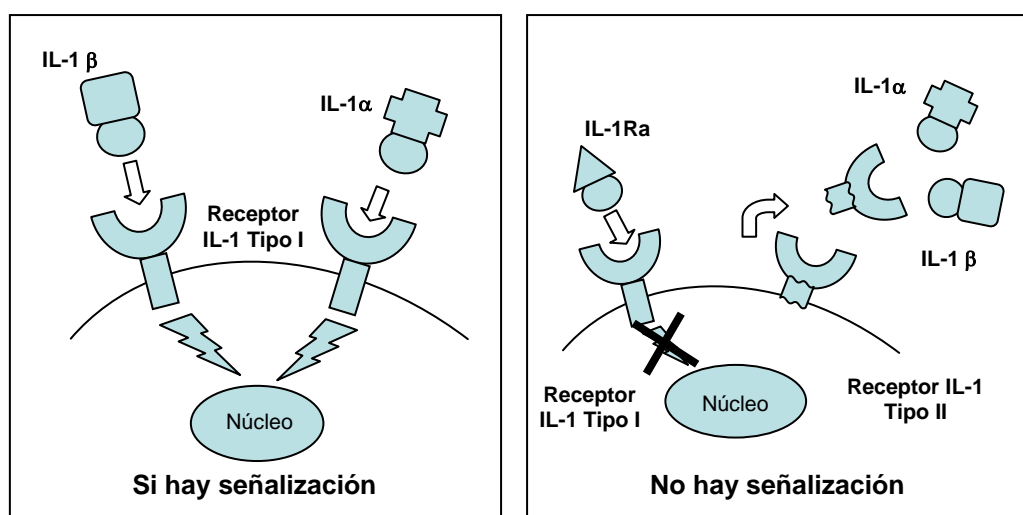


Figura 2. Modulación de las respuestas dependientes de interleuquina IL-1.

La unión de IL-1 alfa (IL-1 α) o de la IL-1beta (IL-1 β) al receptor tipo I causa señalización al núcleo y en consecuencia, estimulación celular; en cambio, la inhibición competitiva a este receptor no produce respuesta. La liberación de receptores tipo II al medio permite la unión de IL-1, evitando así la activación celular por su unión al receptor tipo I.

Por mecanismos directos e indirectos, la IL-1 puede inducir la proliferación de precursores de osteoclastos y la diferenciación y activación de osteoclastos maduros. Es de poner atención que la IL-1 y TNF son frecuentes coproduciendo *in vivo* y pueden actuar sinérgicamente para estimular la resorción ósea. (Genco 1998, Delima 2001)

1.6.5. Papel de la Il-1 en la resorción ósea

La enfermedad periodontal es la más prevalente de las enfermedades óseas en el humano, lo que lleva a la pérdida dental en 10 – 15% en los adultos. Las enfermedades infecciosas periodontales se asocian con el crecimiento de ciertas especies de bacterias Gram-negativas facultativas; estas bacterias tienen muchos factores de virulencia. Sin embargo, la infección no siempre se asocia con la pérdida de hueso, ya que ni el tipo o la proporción de estos patógenos asociados puede explicar la variabilidad de la severidad en la enfermedad periodontal. Por lo tanto, a pesar de los factores de virulencia que son los responsables del daño en la enfermedad, actualmente se considera que es la respuesta del hospedador hacia la bacteria y no la bacteria misma, la responsable de este daño. (Baker 2000)

Los hechos que sugieren la aseveración anterior son: 1°. La homeostasis del hueso y la homeostasis inmune están íntimamente relacionadas, ya que la remodelación ósea está regulada por muchos factores inmunes. 2°. La infección oral con bacterias periodontales induce la resorción ósea en los modelos animales. 3°. Estudios *in vitro* establecen que las bacterias inducen la secreción de factores remodeladores de hueso en células inmunes, y los estudios *in vivo* demuestran que ratones deficientes de células inmunes pierden menos hueso que los animales normales después de la infección oral y, 4°. finalmente se sabe que en infecciones inducidas, la resorción ósea mediada por la respuesta inmune ocurre en pacientes con enfermedad periodontal, ya que las citoquinas resorptivas y las fuentes celulares de éstas se encuentran presentes en la encía inflamada. (Castrillón 2007)

También existe evidencia de que la IL-1 y TNF son mediadores importantes de la inflamación y la degradación de los tejidos en la artritis reumatoide. Ambas citoquinas pueden influenciar las manifestaciones locales y sistémicas de la enfermedad, así como la destrucción del cartílago, tendones y matriz ósea. (Dayer 2002, Assuma 1998, Kusano 1998)

La asociación de la actividad de la IL-1 con la activación de los osteoclastos y consecuentemente el incremento de la resorción ósea, se basa en lo siguiente:

- a) La IL-1 induce la resorción ósea *in vitro*
- b) Niveles elevados de IL-1 en FGC correlaciona con la severidad de la resorción ósea.

Introducción

- c) La osteoporosis en adultos mayores se reduce con la expresión espontánea de la IL-1ra, mientras que se aumenta cuando los niveles de IL-1ra son bajos.

La IL-1 actúa sobre los osteoblastos induciendo la expresión del RANKL (factor activador del ligando NF- κ B), también conocido como factor activador de la diferenciación de osteoclastos. El Factor activador del ligando NF- κ B (RANKL) estimula la diferenciación de los precursores de osteoclastos en osteoclastos maduros responsables de la resorción del hueso. Además, RANKL e IL-1 estimulan directamente a los osteoclastos maduros para que ejerzan su acción. Existe para este sistema una molécula de acción inhibitoria la cual es la osteoprotegerina que funciona como antagonista del RANKL inhibiendo la diferenciación de los osteoclastos (ver figura 3).

Muchos de los factores de la resorción ósea se encuentran presentes en la encía inflamada durante la enfermedad periodontal y en concentraciones por encima de las requeridas para inducir la pérdida de hueso *in vitro*. Estas no son detectables en la encía inflamada y en el FGC, disminuyendo después de una terapia periodontal exitosa. (Honig 1989, Masada 1990, Stashenko 1991, Rossomanda 1990, Takahashi 1994)

El tejido del hueso puede ser reabsorbido únicamente por los osteoclastos, la estimulación local de la actividad de esta célula o la generación de osteoclastos es un prerrequisito para la pérdida del hueso alveolar en los pacientes con periodontitis. El control fisiológico de la actividad de resorción ósea en osteoclastos multinucleados, terminalmente diferenciados y la proliferación, diferenciación y fusión de progenitores de osteoclastos hacia nuevos osteoclastos, está regulado por varias hormonas, factores de crecimiento y citoquinas. (Suda 1996) Entre las moléculas presentes en el proceso inflamatorio están las interleuquinas IL-1, IL-6, IL-11, IL-17; TNF α , factor inhibidor de leucemia, factor transformante de crecimiento β , cininas y trombina; todas pueden estimular la resorción ósea y por tanto estar implicadas en la patogénesis de la inflamación inducida por la resorción del hueso (ver Figura 3). (Horowitz 1996, Assuma 1998, Kusano 1998)

1.6.6. La Interleuquina 1 en Periodontitis

Se acepta en general que la IL-1 es el principal mediador de la destrucción de tejidos en la enfermedad periodontal (Page 1997a, Tashenko 1998) y muchos investigadores creen que los macrófagos son la fuente primaria de esta citoquina; sin embargo, muy pocos estudios reportan al macrófago en la enfermedad periodontal.

Mientras que el *A.actinomycetemcomitans* y la *P.gingivalis* han demostrado activar a los monocitos y macrófagos para estimular la secreción de mediadores proinflamatorios y destructores de los tejidos, recientemente se ha demostrado que no hay incremento en el número de macrófagos y poca evidencia de su activación en la periodontitis avanzada comparada con los tejidos levemente inflamados. (Chapple 1998) Así pues, se ha demostrado que el número de macrófagos no aumenta en las lesiones avanzadas y hay muy poca activación a pesar de la destrucción extensiva.

Para probar que existen diferencias cuantitativas en la expresión de citoquinas proinflamatorias en tejidos normales o en tejidos con periodontitis, se realizan análisis de secciones de tejido por técnicas de inmunohistoquímica o por hibridación *in situ* en células del infiltrado, demostrándose que aunque tanto en los tejidos sanos como en los enfermos se expresan RNA mensajeros para IL-1 β e IL-1ra en células epiteliales, en las biopsias de tejidos enfermos hay mayor expresión de estos mensajeros en el tejido conectivo. Estos resultados implican la participación potencial de citoquinas pro y anti-inflamatorias en la regulación de la inflamación crónica en la periodontitis del adulto. (Roberts 1997)

Otra aproximación para proponer marcadores pronósticos han sido las moléculas provenientes del infiltrado inflamatorio. Los cambios producidos se relacionan con la activación de las células que componen este infiltrado, que se desarrolla en el tejido conectivo periodontal y con la participación del sistema inmune local. De esta manera, la destrucción del tejido periodontal puede ser atribuida a la activación producida por monocitos, linfocitos, fibroblastos y otras células del hospedador, que en forma conjunta con la acción de elementos bacterianos, como los LPS, estimulan la producción de citoquinas, que a su vez ocasionan la liberación de las metaloproteinasas responsables de la destrucción de la matriz extracelular y del hueso. (Birkedal-Hansen 1993) Por lo tanto, las citoquinas pueden ser candidatos idóneos como marcadores pronósticos del daño periodontal. (Castrillón 2007)

1.6.8. Manifestaciones clínicas de periodontitis y su correlación con los niveles de IL.

Los principales estudios relacionados con la participación de la IL-1 con la patología periodontal se presentan en la tabla AI, en donde se describe el objetivo, metodología, resultados y conclusiones del uso de la IL-1 como posible marcador de la enfermedad periodontal, así como la correlación clínica de esta molécula con la evolución o eficiencia al tratamiento.

En general, los resultados de la evaluación de la IL-1 en la enfermedad periodontal señalan que la IL-1 α y la IL-1 β están presentes en la encía inflamada y en el FGC de los pacientes con periodontitis, en cambio, sus concentraciones son extremadamente bajas en sitios sanos. Sus niveles se reducen después del raspado y el alisado radicular (raspado y alisado subgingival), pero los resultados de la correlación con las mediciones de la profundidad al sondeo son variables.

La IL-1 β aparece en mayores niveles en aquellas muestras provenientes de enfermedad periodontal, que los niveles obtenidos en sujetos sanos. Por lo tanto, los niveles de IL-1 muestran cambios dinámicos dependiendo de la enfermedad periodontal y puede ser una herramienta valiosa para monitorizar la actividad de esta enfermedad. (Castrillón y col. 2007)

Introducción

La interacción entre las bacterias periodontopatógenas y las células del hospedador inducen la liberación de citoquinas. El tipo de citoquinas que producen depende principalmente de la naturaleza de las bacterias y de las células que se encuentren comprometidas con la reacción inmunológica, por lo tanto, el exceso de estimulación inmunitaria conduce al daño del tejido periodontal, lo cual se explica por la cantidad de grandes cantidades de IL-1 β , molécula con gran actividad proinflamatoria y destructiva, que tiene la capacidad de diferenciar y activar a los osteoclastos, dando por resultado la resorción ósea característica de la periodontitis.

1.7 FACTORES DE RIESGO EN ENFERMEDAD PERIODONTAL

Entre los factores modificadores (también conocidos como factores de riesgo e indicadores) participan no sólo aquellos disparados por la bacteria, sino también aquellos factores personales que influyen la respuesta hospedador – parásito, es decir, en la patobiología de la enfermedad. Los factores de riesgo que disminuyen las defensas del hospedador pueden ser: por una parte, el estrés físico-social y los factores relacionados a la calidad de vida: dieta, adicción al tabaco y alcoholismo; y por otro lado, factores sistémicos como deficiencias en el sistema inflamatorio/inmune, los cuales se pueden englobar en factores inmodificables de tipo genéticos y factores ambientales o adquiridos. Estas dos clases de factores pueden diferir de un estado a otro y de una forma de enfermedad a otra. (Clarke 1995, Page 1998, Pihlstrom 2001, Nelly 2001)

Los factores inmodificables y ambientales son los principales determinantes con las diferencias observadas en otras condiciones periodontales. Estos pueden afectar el tiempo (edad) de la enfermedad establecida, patrones de hueso y destrucción del tejido, ritmo de progresión de la enfermedad, respuesta a varios tipos de terapia, severidad y frecuencia de la recurrencia de la enfermedad. Asimismo, la influencia de estos factores modificadores pueden existir de por vida (por ejemplo, factores hereditarios).

Sin tomar en cuenta la predisposición genética del hospedador a la enfermedad periodontal, como es el caso del síndrome de Papillon-LeFevre, o el síndrome de Down, o si el hospedador está comprometido por defectos leucocitarios como en la periodontitis agresiva y en la gingivitis ulcerativa necrosante, que se

Introducción

caracteriza por un ataque repentino y se le relaciona a un estrés fisiológico, a la diabetes, a la adicción al tabaco, a la pobre higiene oral, o bien a la edad geriátrica; los síntomas clínicos son significativamente asociados con la intervención de bacterias específicas, por lo cual puede ser manejada con éxito con antibioterapia dirigida a especies bacterianas específicas. (Clark 1971, Genco 1986, Lindhe 1984)

1.7.1. Factores de riesgo inmodificables.

Para poder determinar si hay algún factor de riesgo presente, se requiere de un diagnóstico agudo basado en: la entrevista del paciente, el examen médico, el examen clínico periodontal, el examen radiográfico y de ser necesario, los exámenes de laboratorio.

Los signos clínicos de la enfermedad periodontal como son: profundidad de bolsa, pérdida clínica de inserción y pérdida ósea, son medidas acumulativas de enfermedades pasadas, no valoran la actividad de la enfermedad. Por lo que se han considerado varios tipos de pruebas diagnósticas para poder pronosticar la futura progresión de la enfermedad, como son: los productos y mediadores inflamatorios del hospedador, las enzimas, los productos que provocan daño tisular y la temperatura subgingival. Esto es valorado en términos de sensibilidad, especificidad y evaluación pronóstica.

Los factores genéticos también están involucrados en algunos tipos de enfermedad periodontal, por lo que una prueba genética para determinar la susceptibilidad de la enfermedad será de gran utilidad para la práctica clínica y la modulación de éstos es una aproximación productiva a la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal. (Clarke 1995, Neely 2001, Philstrom 2001, Michalowics 2000)

En el cuadro L se presentan los factores inmodificables en relación a la gingivitis y periodontitis así como la lesión periodontal que se manifiesta y los marcadores en cada uno de ellos.

Introducción

Cuadro L. Factores de riesgo inmodificables en la enfermedad periodontal.

FACTOR DE RIESGO INMODIFICABLE	AFECCIÓN PERIODONTAL	MARCADOR
Enfermedades Cardiovasculares	En la fase aguda en pacientes con periodontitis	Elevada Reacción en cadena de proteína C y fibrinogeno. (PCR) en sangre. Y presencia de bacterias anaerobias Gram (-)*
Nacimientos prematuros y neonatos con bajo peso	Pérdida de adherencia extensa y severa en periodontitis	Endotoxinas bacterianas con producción de prostaglandinas y ácido araquidónico**
Enfermedad pulmonar	Pérdida de adherencia	Contaminación de las vías respiratorias inferiores, saliva contaminada, aspiración de secreciones orales contaminadas por bacterias anaerobias patógenas periodontales ***
Diabetes	Pérdida de adherencia y pérdida ósea Alteración y reparación de los tejidos y por lo tanto acelera la progresión de la periodontitis	Alteración en control glicémico en diabetes tipo I y II. Reducción de función de PLM y producción de productos terminales avanzados de glicosilación y decremento en colágena. ****
Predisposición genética: Síndrome de Down, Hipofosfatasa, Síndrome de Papillon-Lefevre, Síndrome de Ehlers-Danlos	Pérdida de adherencia y pérdida ósea severa en Periodontitis crónica	Susceptibilidad a genotipo de IL-1, adherencia a osteoblastos y fibroblastos para producción de colagenasa*****
Edad geriátrica.	Daño en tejidos periodontales	Por complicaciones sistémicas*****
Hormonal	Gingivitis crónica debido a una respuesta inflamatoria alterada contra la biopelícula supragingival	Aumento en los niveles de hormonas en embarazo, pubertad, anticonceptivos

Introducción

Cuadro L. Factores de riesgo inmodificables en la enfermedad periodontal.
Continuación...

FACTOR DE RIESGO INMODIFICABLE	AFECCIÓN PERIODONTAL	MARCADOR
Osteoporosis	Reducción en la densidad ósea periodontal	Menopausia, terapia con estrógenos
Inmunosupresores: infección por VIH	Deficiencia en la respuesta del hospedador ante las bacterias patógenas periodontales	Terapia antimicrobiana: inmunosupresión
Desordenes hematológicos: Alteración en hemostasis, células rojas y blancas de la sangre	Inflamación gingival, lesiones destructivas periodontales. Hemorragias postratamiento	Densa infiltración o ausencia leucocitaria. Alteración plaquetaria. Desordenes en los eritrocitos
desordenes cuantitativos leucocitarios: Neutropenia, leucemia	Inflamación gingival, lesiones destructivas periodontales. Hemorragias postratamiento	Densa infiltración o ausencia leucocitaria. Alteración plaquetaria. Desordenes en los eritrocitos
Desordenes cualitativos leucocitarios: Mieloma multiple, síndrome de Chediak-Higashi, Adhesión leucocitaria deficiente, Síndrome de histiocitosis	Inflamación gingival, lesiones destructivas periodontales. Hemorragias postratamiento	Densa infiltración o ausencia leucocitaria. Alteración plaquetaria. Desordenes en los eritrocitos

Cfr. *Beck 1996, Beck 1998, Ebersole 1997, Noak 2001, Geerts 2002, Engebretson 1999.** Offenbacher 1997, Jeffcoat 2001.*** Scannapieco 1998, Hayes 1998, Scannapieco 1999. ****Safkan-Seppala y Ainamo 1992, Shlossman 1990, Brownlee 1994, Schmidt 1996. ***** Hart 1996, Kornman 1997, Doxey 1998 *****Kinane 2001.

1.7.2. Factores de riesgo ambientales.

Los factores de riesgo ambientales tales como el estrés, fumadores e higiene, pueden estar presentes o ausentes o variar en magnitud a lo largo de la vida. La severidad y ritmo de progresión de la enfermedad resulta en gran medida de la influencia de la naturaleza y la magnitud del desafío microbiano; por ejemplo, la influencia del pH y la disponibilidad de oxígeno y de diversos nutrientes en la bolsa periodontal. Esta teoría que aborda la patobiología de la periodontitis nos permite

entender mejor el porqué hay una gran variación de individuo a individuo en la susceptibilidad a la enfermedad, las manifestaciones clínicas, el ritmo de progresión y la respuesta terapéutica. (Page 1998)

En el cuadro LL se presentan los factores de riesgo ambientales en la gingivitis y la periodontitis, así como su afección en los tejidos periodontales y los marcadores útiles en identificarlos.

1.8 TRATAMIENTO PERIODONTAL.

El tratamiento de la enfermedad periodontal puede ser dividido en cuatro fases: sistémico, higiénico, correctivo y de mantenimiento o de terapia periodontal de soporte, y se ha comprobado que el tratamiento fracasa cuando no se lleva a cabo una adecuada terapia periodontal de soporte. (AAA position paper 1998, Pihlstrom 2001, American Academy of Periodontology 2001).

1.8.1. Tratamiento periodontal no quirúrgico.

1.8.1.1 . Raspado y alisado radicular. (RAR)

El RAR es una técnica meticulosa cuyos beneficios clínicos dan por resultado la correcta eliminación de la biopelícula y cálculo subgingival, para crear una superficie biológicamente apta para la curación de los tejidos periodontales.

1.8.2. Respuesta al tratamiento

A) Factores etiológicos.

La naturaleza del medio ambiente local dentro de los sitios con periodontitis, que favorece el crecimiento de las bacterias periodontopatógenas, puede ser cambiado por el tratamiento periodontal no quirúrgico incluyendo instrucciones de higiene oral, raspado y alisado subgingival.

Se ha notificado que el raspado elimina aproximadamente el 90% de las bacterias presentes en una zona. Estos procedimientos no quirúrgicos mejoran los signos clínicos y los síntomas de las zonas afectadas, en particular el sangrado al sondeo, presencia de supuración, disminución de profundidad de bolsa y ganancia de inserción. (Doungudomdacha y col. 2001)

Introducción

Cuadro LL. Factores de riesgo ambientales en la enfermedad periodontal.

FACTOR DE RIESGO AMBIENTAL.	AFECCIÓN PERIODONTAL	MARCADOR
Tabaco	Inhibición en la proliferación y adhesión de los fibroblastos, Vasoconstricción en capilares periodontales Respuesta inmune periodontal: inflamación, Disminución quimiotáctica	Disminución en la producción de fibronectina y colágena I. Aumento en actividad de colagenasa Efecto vasoactivo de la nicotina: incremento en la difusión de epinefrina y norepinefrina Altos niveles de carboxyhemoglobina*
Estrés	Lesión en tejidos periodontales.	Reducción de las respuestas del hospedador
Higiene oral y factores dentales	Inflamación crónica periodontal	Formación de la biopelícula bacteriana supragingival Factores dentales: malposición dentaria, erupción incompleta, restauración defectuosa, caries, superficies dentales irregulares
Dieta	Pérdida dental / deficiencia oclusal.	Proliferación bacteriana patógena
Medicación: iones bloqueadores de membrana. Antiepilépticos Antihipertensivos	Agrandamiento gingival. Profundidad al sondeo.	Aumento en la producción de matriz de colágena***

Cfr. * McGregor 1985, Mc Guire 1989, McLaughlin 1993, Ketabi 1997,

** Ciancio 1996, Kinane 2001, *** Thomason 1995.

El raspado y alisado radicular es uno de los procedimientos más comúnmente utilizados para el tratamiento de la enfermedad periodontal. Numerosos estudios han informado de resultados benéficos de este tratamiento en parámetros clínicos y

Introducción

microbianos. La mayoría de estos beneficios aparecen dentro de los tres primeros meses con un promedio de niveles de inserción y profundidad de bolsa que queda igual en la última parte. Así, los datos disponibles suponen dos estados del proceso en el cual la mayoría de los beneficios clínicos y microbiológicos ocurren en un corto tiempo, seguido por un periodo de estabilidad ayudado por procedimientos de raspado en fase de mantenimiento y técnica personal de cepillado. (Lindhe y col. 1984, Radvar y col. 1996, Haffajee y col. 1997b)

Diversos estudios también han evaluado los efectos del RAR sobre las especies de la placa subgingival, en donde se ha informado de reducciones a corto plazo en los niveles y proporciones para las especies de *T.denticola* y *P.gingivalis*. (Simonsen y col. 1992, Mombelli y col. 1994, Nieminen y col. 1995, Lowenguth y col. 1995).

Por su parte, Shiloah & Patters (1997) en estudios a largo plazo, también han informado de una disminución en los niveles y la prevalencia de ciertas especies como *P.gingivalis*, *A.actinomycetemcomitans* y *P.intermedia* a los 12 meses post RAR, sin terapia periodontal de mantenimiento. También Gunsolley (1994), encontró un remanente constante en los niveles de *Aa* después de 12 meses post RAR y de cirugía con terapia de mantenimiento. Sin embargo, *P.gingivalis* a los 12 meses, manifestó un incremento considerable con evidencia de pérdida de inserción.

Diversos estudios han encontrado después del RAR una disminución en especies de *Prevotella* y *Porphyromonas*. Mientras que en otro estudio en intervalos de 3 y 6 meses post RAS, disminuyó la profundidad de bolsa y pérdida de adherencia, así como un decremento en los niveles y prevalencia de *T.f,orsythia*, *P.gingivalis* y *T.denticola*; pero no de otras 37 especies examinadas. Dentro de estos estudios se continuó el monitorización por 9 y 12 meses post- RAR, dando la oportunidad a examinar cambios microbiológicos y clínicos durante la fase de mantenimiento.

Coincidiendo con la investigación anterior un estudio muestra una relación directa entre los cambios clínicos y los hallazgos microbiológicos con especies específicas en los niveles de la microflora subgingival, mostrando una reducción en la prevalencia de *T.f,orsythia*, *P.gingivalis*, *T.denticola* y *S. constellatus*; sin embargo, se incrementaron los niveles de *F.nucleatum* y *Capnocytophaga*; asimismo, las especies de *Actinomyces* consideradas benéficas, revelaron un aumento. Estos cambios se manifestaron durante los 3 primeros meses post-RAR, y

Introducción

estas especies todavía se redujeron significativamente a los 12 meses al ser comparados con los niveles pre-RAR. Por lo que el tratamiento periodontal no quirúrgico muestra una disminución importante en los parámetros clínicos y microbiológicos en la fase de mantenimiento, comparados con los niveles post-RAR. (Rawlison y col. 1993, Haffajee 1997a, Haffajee y col. 1997b, Cugini y col. 2000, Dounggudomdacha y col. 2001, Simonson y col. 1992, Mombelli y col. 2000)

No obstante contrario a los estudios que demuestran lo beneficioso que es el RAR, existen algunos estudios como los de Stephen (2001), Mombelli (2000) y Loesche y col. (2001), en los cuales se informa que en individuos que recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico empeoraron en sus parámetros clínicos, mostrando progresión de la enfermedad periodontal e incremento en la profundidad al sondaje, cuando se les comparó con aquellos que recibieron tratamiento quirúrgico.

Otras investigaciones con esta misma terapia no eliminaron ninguna especie patógena periodontal; por lo tanto, si la eliminación de especies subgingivales es considerada esencial para el éxito terapéutico, el RAR es poco probable que sea el tratamiento de elección. Además el RAR parece ser efectivo en reducir un definido grupo de especies, sugiriendo que sujetos con bajo número o ninguna de esas especies recibirán beneficios limitados de esta terapia. De manera específica, también se mostró una relación entre la presencia de *T.forsythia* y la profundidad de bolsa, por lo que la disminución de esta bacteria se asoció al tratamiento con RAR. (Gmur 1994, Haffajee 1998, Socransky 1998, Cugini 2000).

B) Parámetros clínicos.

Diversas investigaciones realizadas con tratamiento periodontal no quirúrgico, RAR, observaron que posterior al tratamiento periodontal no quirúrgico de tres a seis meses, las condiciones periodontales mejoraban en los parámetros clínicos, obteniendo un decremento en el índice de placa, el sangrado al sondeo, la profundidad de bolsa, y la ganancia en los niveles de inserción. (Doungudomdacha y col. 2001) Lo mismo ocurrió a los 12 meses pos-tratamiento, haciendo énfasis en que esta mejoría se mantenía a los 12 meses de tratamiento, esto es, en un periodo de estabilidad de los tejidos. (Kahldahl 1993, Cugini 2000) Sin embargo,

Introducción

algunos sitios tratados mostraron pérdida de inserción, probablemente por un traumatismo debido a la instrumentación. (Haffajee 1995)

Así pues, los datos obtenidos por diferentes estudios sugieren que el tratamiento periodontal no quirúrgico es efectivo en reducir los parámetros clínicos, los microbiológicos y los bioquímicos, así como es más efectivo en sujetos y en sitios con altos niveles de especies patógenas periodontales. (Haffajee y col. 1997b) Sin embargo, la mayoría de las bacterias se reestablecen rápidamente en la mayoría de los individuos una vez que la periodontitis está presente, por lo que la fase de mantenimiento es de vital importancia para consolidar la mejoría en los parámetros clínicos, microbiológicos y bioquímicos. (Doungudomdacha 2001, Cugini 2000)

C) Factores del Hospedador

Reinhardt (1993) demostró que el marcador bioquímico IL-1 β tiene una producción prolongada, y esto podía ser el reflejo del grado del trauma tisular y por lo tanto del retraso de la curación de la herida.

Tsai (1995), comparó los niveles de IL-1 β e IL-8 en FGC en pacientes con periodontitis del adulto y su grupo control. Los niveles de estas citoquinas fueron mayores en el grupo con periodontitis del adulto que en el grupo control. Las cantidades totales de ambas interleuquinas, así como los parámetros clínicos se redujeron notablemente después del tratamiento periodontal.

Hoult (1995) investigó los niveles de IL-1 β en el FGC y el estado clínico en individuos con periodontitis y evaluó su efecto después de la fase I de la terapia, encontrando que la cantidad de IL-1 β se asocia con el estatus periodontal y monitorea la actividad de la enfermedad periodontal.

Otro estudio monitorizó la IL-1 β y la PGE₂ durante el tratamiento de RAR y en la fase de mantenimiento, observando que los parámetros clínicos manifiestan una mejoría significativa y los niveles de los marcadores IL-1 β y PGE₂ en el FGC se reducen de manera importante durante la fase de mantenimiento. (Alexander 1996)

Goutoudi (2004), analizó los niveles de IL-1 β e IL-10 en FGC en periodontitis antes y después de la terapia periodontal, encontrando que la cantidad

total, más que la concentración de la IL-1 β en FGC se asocia estrechamente con la severidad periodontal.

Yoshinari (2004), también evaluó la relación entre los cambios clínicos después del tratamiento periodontal no quirúrgico (RAR) y los niveles de IL-1 β en el FGC, con resultados semejantes.

1.8.3. Antimicrobianos sistémicos.

La enfermedad periodontal es una infección polimicrobiana que involucra varios microorganismos en combinación o secuencialmente. Si el tratamiento antimicrobiano va a ser sumado a un tratamiento de desbridamiento tradicional, el espectro de agente antimicrobiano es importante. El objetivo de un diseño de protocolo de tratamiento es determinar si la enfermedad puede ser tratada como una infección anaerobia o microaerofílica. Por lo que el análisis de los estudios antes mencionados sugieren que las estrategias y tácticas de tratamiento deben ser diseñadas para seleccionar el objetivo de ciertos miembros anaerobios de la flora de la biopelícula.

La evidencia presentada por varios estudios indica que la mayoría, si no todas las formas de enfermedad periodontal son específicas, aunque sean infecciones crónicas, los síntomas clínicos son casi significativamente asociados con el sobrecrecimiento de un número finito de especies anaerobias como son *P.gingivalis*, *T.forsythia* y *T.denticola* en la placa subgingival. Este sobrecrecimiento puede ser periódicamente suprimido por RAR por toda la vida y la flora puede ser alterada por el uso prudente de corto tiempo de agentes antimicrobianos contra los anaerobios específicos. (Loesche 2001)

Si el RAR es exitoso, se reducen significativamente los niveles de ciertos anaerobios, entonces quizás los resultados clínicos pueden mejorar por la adición de agentes antimicrobianos a este régimen de tratamiento. En varios estudios el metronidazol o la combinación de metronidazol y amoxicilina han suprimido a la bacteria de *A.actinomycetemcomitans* en la mayoría de las muestras de la biopelícula. (Saxen 1993, van Winkelhoff 1992)

Si las bacterias anaerobias están involucradas como factor etiológico en periodontitis de inicio temprano y en periodontitis agresiva, deben ser utilizados

Introducción

agentes específicos para microorganismos anaerobios. En un estudio realizado por Loesche (2001), en donde el 90% de los pacientes manifestaron infección anaerobia con formas de periodontitis de inicio temprano y periodontitis agresiva avanzadas, tuvieron ganancia de inserción y los resultados fueron estadísticamente mejores en los sujetos tratados con RAR más metronidazol, que en el RAR más placebo.

La administración de metronidazol con doxiciclina, liberadas de forma local, dieron por resultado una reducción en la necesidad de cirugía y en la extracción en un 80%, sin embargo las espiroquetas y los organismos BANA positivos, después de una administración de metronidazol, redujeron inicialmente sus niveles de manera significativa, no obstante, posteriormente regresaron a niveles detectables, indicando que las especies monitoreadas no fueron eliminadas. (Loesche 1996, Soder 1999)

El éxito del metronidazol y la doxiciclina parece ser debido a su acción específica antibacteriana contra anaerobios periodontopatógenos, pero en la administración de la doxiciclina hay evidencia de resistencia transitoria entre los estreptococos, no así entre los anaerobios estudiados al administrar el metronidazol. (Loesche 1999)

De esta forma, diferentes tratamientos han demostrado una reducción efectiva de los niveles de especies anaerobias como *P.gingivalis* (26 de 27 estudios); *T.forsythia* (9 de 9 estudios); *T.denticola* (4 de 5 estudios); y espiroquetas (7 de 8 estudios); mientras que hay un efecto menor sobre especies capnofílicas: *A.actinomycetemcomitans* (7 de 24 estudios a reducción); *C.rectus* (3 de 10 estudios) y *E.corrodens* (1 de 6 estudios).

Estos recuentos bacteriológicos indican que en la mayoría (no en todas) las formas de la enfermedad periodontal, las infecciones son por anaerobios; debido al sobrecrecimiento de un número finito de bacterias endógenas anaerobias Gram-negativas en la biopelícula subgingival. (Haffajee 1997, Edwarsson 1999, Takamatsu 1999)

Introducción

JUSTIFICACION

Justificación

JUSTIFICACIÓN

Dentro de las enfermedades periodontales se distinguen claramente dos entidades con fenotipos muy claros, la gingivitis y la periodontitis. Sin embargo, ambas son producidas por unos factores etiológicos similares (bacterias anaeróbicas Gram-negativas de la biopelícula subgingival conocidas como periodontopatógenas); (Socransky 1998, Tanner 1998, Slots 1992, Loesche 2001) las cuales se adhieren a la superficie dentaria a nivel del surco gingival provocando una respuesta inflamatoria en la que su potencial patogénico dependerá tanto del número y la cantidad de las especies bacterianas involucradas, como de la variación individual y del sitio de la infección. (Page 1998, Nisengard 1998, Engebretson 1999, Mariotti 1999, Ebersole 2000)

Dichas patologías se muestran clínicamente a través de un proceso inflamatorio crónico, aunque en un caso este proceso evoluciona destruyendo el aparato de inserción periodontal (periodontitis) y en el otro se mantiene el proceso inflamatorio sin evolucionar hacia la destrucción (gingivitis).

Así pues, se puede afirmar que la triada responsable de la patogénesis de la destrucción periodontal la constituyen: 1) las bacterias patógenas presentes en el periodonto, 2) los factores de riesgo del individuo y 3) la reacción inflamatoria; por lo que la respuesta inmunológica a nivel local y sistémico es semejante a la desencadenada por cualquier otra enfermedad infecciosa. (Socransky 1998, Haffajee 1998 Tanner 1998)

En el tejido de inserción periodontal la respuesta inflamatoria se presenta con una gran cantidad de neutrófilos (PMNs), los cuales ejercen funciones de fagocitosis y de destrucción en la zona de interacción de las bacterias y de la superficie tisular; provocando la presencia de infiltrado inflamatorio, la activación del sistema inmune, la cascada del complemento y el sistema productor de citoquinas. (Asman 1997)

De tal forma, la respuesta inflamatoria es muy efectiva para prevenir infecciones en el tejido gingival y por lo tanto juega un papel de protección. Sin embargo, también puede causar daño a los propios tejidos, donde la duración prolongada de la enfermedad produce que las células inflamatorias e inmunes se

Justificación

filtren a los tejidos y liberen distintas sustancias que dañan a éstos directa e indirectamente.

La mayoría de las sustancias liberadas de las células inflamatorias e inmunes, se concentran en un exudado característico de procesos inflamatorios que se observan en la gingivitis y en la periodontitis. Dicho exudado es conocido como fluido gingival crevicular (FGC) y en éste es posible identificar a las citoquinas proinflamatorias: interleuquina 1-beta (IL-1 β) y al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Ambas citoquinas son mediadores del proceso inflamatorio porque modulan los componentes extracelulares de los tejidos conectivo y óseo en el periodonto y, en la enfermedad periodontal, se presentan en niveles muy elevados en el FGC y en el suero. (Eley 1998, Figueredo 1999, Engebretson 1999)

Al estar presentes en el FGC, se considera que dichos marcadores inmunológicos pueden tener interés diagnóstico en la gingivitis y en la periodontitis crónica al asociárseles a la fase activa de esta enfermedad. Sin embargo, se reconoce que en la actualidad no se conoce del todo cuales son los factores esenciales, ni desde el punto de vista de la etiología, ni de la respuesta del hospedador, los responsables de las diferencias entre ambos fenotipos.

Con base a lo anterior, atendiendo a la necesidad de profundizar en el conocimiento previo basado en la observación de vínculos entre la flora microbiana y la respuesta inmunológica en la gingivitis y su progresión a periodontitis; fue que se planteó realizar - tomando una muestra de población mexicana -, un estudio de cohortes prospectivo, para tratar de encontrar aspectos diferenciales en cuanto a los factores etiológicos y a la respuesta del hospedador, utilizando para ello la cuantificación de IL-1 β en el FGC como marcador inmunológico, relacionándolo a su vez con marcadores microbiológicos y clínicos en pacientes con gingivitis y con periodontitis crónica moderada.

HIPÓTESIS
Y
OBJETIVOS

Hipótesis y Objetivos

HIPÓTESIS

- La presencia de bacterias periodontopatógenas en individuos con periodontitis es mayor que en individuos con gingivitis.
- La presencia de IL-1 β como marcador de respuesta inflamatoria y de mediador de la destrucción del aparato de inserción es mayor en los individuos con periodontitis que en los individuos con gingivitis.
- El tratamiento periodontal es capaz de reducir significativamente los niveles, tanto de patógenos como de marcadores de la respuesta inflamatoria, lo cual ocurre ya sea en la periodontitis como en la gingivitis.

OBJETIVOS

GENERAL

Analizar la flora microbiana periodontal para detectar la presencia de microorganismos patógenos y el fluido gingival de sujetos con gingivitis y periodontitis crónica moderada, para conocer la respuesta inflamatoria a través de la presencia de la IL-1 β como posible marcador inmunológico en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

ESPECÍFICOS

- Identificar las bacterias periodontopatógenas de muestras de pacientes con gingivitis y periodontitis crónica moderada en las fases preoperatoria, postoperatoria y de mantenimiento; pertenecientes a una población sumi-urbana que acude a las clínicas estomatológicas Tepepan y San Lorenzo Atemoaya de la Universidad Autónoma Metropolitana, ubicadas en la periferia del área metropolitana de la ciudad de México.
- Identificar en el fluido gingival de muestras de pacientes con gingivitis y periodontitis crónica moderada, la presencia de IL-1 β en las fases preoperatoria, postoperatoria y de mantenimiento.
- Evaluar y comparar las variables respuestas: clínicas, microbiológicas y bioquímicas (inmunológicas) en las fases preoperatoria, postoperatoria y de mantenimiento entre el grupo de pacientes con gingivitis y el grupo de pacientes con periodontitis.

METODOLOGÍA

2. METODOLOGÍA

Materiales y Métodos

Materiales (Anexo VI)

2.1. Pacientes.

Se seleccionó de una población mexicana suburbana que acude a las clínicas estomatológicas de San Lorenzo Atemoaya y de Tepepan, de la Unidad Xochimilco de la Universidad Autónoma Metropolitana, ubicada en la ciudad de México, Distrito Federal; dos grupos de sujetos adultos: con gingivitis y con periodontitis crónica moderada.

Criterios de inclusión.

- Sujetos adultos con edad de 20 a 65 años de edad.
- Diagnóstico clínico y radiográfico de gingivitis (evidencia de inflamación gingival: aumento de volumen, enrojecimiento y hemorragia al sondaje, no hay pérdida de inserción), periodontitis crónica moderada (pérdida de inserción en tres o más sitios en todos los cuadrantes, presencia de bolsas periodontales con una profundidad de 5 mm a 7 mm en tres o más sitios en todos los cuadrantes, evidencia radiográfica de pérdida ósea de un tercio a un medio de la longitud de la raíz en tres o más sitios de todos los cuadrantes, sangrado al sondaje en tres o más localizaciones de cada cuadrante, así como movilidad grado I a II localizado en uno o más de los cuatro cuadrantes).
- Pacientes que no hayan recibido tratamiento periodontal.
- Pacientes que participan voluntariamente en el estudio con firma de consentimiento informado.

Criterios de exclusión.

- Pacientes que padezcan enfermedades sistémicas.
- Pacientes que se les ha administrado antibióticos o antiinflamatorios.

- Pacientes que presenten patología oral no relacionada a gingivitis y periodontitis crónica..
- Pacientes con cualquier proceso patológico a nivel sistémico con manifestación de inflamación crónica o aguda.
- Pacientes que abandonen la investigación en la fase preoperatorio y/o postoperatoria.

2.2. Terapia periodontal.

Terapia periodontal no quirúrgica (raspado y alisado subgingival)

- ❖ Terapia causal inicial. Consistió en instrucción en higiene oral (H.O) y tratamiento periodontal no quirúrgico que consistió en raspado y alisado subgingival así como la eliminación de sitios retenedores de la biopelícula supragingival y subgingival.

2.3 Diseño del estudio.

Estudio de cohortes prospectivo.

Tiempo.

- Fase de selección. En las ocho primeras semanas de iniciado el estudio. Se hizo el monitorización de las variables clínicas, microbiológicas y bioquímicas en los sujetos de estudio.
- Fase inicial (Fase 1). Tres sesiones en un mes. Se realizó instrucción sobre las medidas de H.O, se evaluó el control de la biopelícula supragingival por parte del paciente para mantener un estándar de higiene adecuado. Eliminación de factores retentivos de biopelícula supragingival.
- Fase terapéutica. Cuatro sesiones de 45-60 minutos. Un cuadrante por semana. Completando el tratamiento en un mes. Se realizó tratamiento periodontal convencional no quirúrgico: raspado y alisado subgingival .

- Fase pos-terapéutica (Fase 2) Una sesión a los dos meses del tratamiento periodontal no quirúrgico. Se realizó la monitorización de las variables clínicas, microbiológicas y bioquímicas.
- Fase de mantenimiento (Fase 3) Una sesión a los seis meses de la fase pos-quirúrgica. Se realizó la monitorización de las variables clínicas microbiológicas y bioquímicas, se dio nueva instrucción e instrumentación de los sitios periodontales con reinfeción.

2.4. Variables Respuestas.

2.4.1. CLÍNICAS.

- **Índice de placa de Quigley y Hein modificado por Turesky.**
(Genco 1998)

Valor	Criterio
0	Ausencia de placa.
1	Superficie dental a nivel del margen gingival con localización de acúmulos de placa aislados.
2	Superficie dental cubierta por una banda de placa delgada y continua (aproximadamente 1 mm), a nivel del margen gingival.
3	Superficie dental cubierta en menos de un tercio por una banda de placa superior a 1 mm.
4	Superficie dental cubierta entre un tercio y dos tercios por una banda de placa.
5	Superficie dental cubierta en más de dos tercios por una banda de placa banda de placa.

Para su realización se utilizaron comprimidos de eritrosina. (Gram +).

Se obtuvo el índice con base al porcentaje de las localizaciones con placa. (Genco, 1998)

➤ **Índice gingival (GI) de Løe y Silness.** (Genco 1998)

Valor	Criterio (Genco 1998)
0	Encía sana.
1	Inflamación moderada con cambio de color ligero y edema, sin hemorragia al sondeo.
2	Inflamación moderada, enrojecimiento, edema, hipertrofia con hemorragia al sondeo.
3	Inflamación severa, enrojecimiento y edema marcados, ulceración y tendencia a hemorragia espontánea.

➤ **Medición de la profundidad de la bolsa periodontal.** (Genco 1998, Papapanou 2005)

- ❖ Es la distancia del margen gingival a la base del surco gingival o unión epitelial.
- ❖ Se mide con una sonda de graduación variable.
- ❖ Se miden seis localizaciones por diente. Tres por la superficie bucal y tres por la superficie lingual o palatina: mesial, media y distal.

Se ha de tener en consideración que el margen gingival está sujeto a cambios de posición, ocasionados por una inflamación o recesión, por lo que se debe tener un punto fijo de medición como es la unión cemento- esmalte (UCE).

- **Índice de enfermedad periodontal de Ramfjord.** (*Sondaje del nivel de inserción en relación a la unión UCE.* (Genco 1998, Papapanou 2005)
 - ❖ Se realizará el sondaje para valorar el nivel de inserción a partir de la UCE a la unión epitelial.
 - ❖ Se medirán seis localizaciones por cada diente, tres por la superficie bucal y tres por la superficie lingual o palatina: mesial, media y distal.

La graduación que se obtiene del margen gingival a la UCE se registra como valor positivo si el margen es coronal a la UCE o como valor negativo si es apical. Por la adición o sustracción de las medidas del margen gingival a la UCE a la base de la bolsa o del surco, se obtendrá el nivel de inserción.

Para obtener un valor de referencia y poder efectuar comparaciones después del tratamiento, el promedio de los seis valores del nivel de inserción inicial en mm del total de dientes se toma como 100 por ciento, y al valor en mm correspondiente, se le resta, después del tratamiento, el promedio de los valores obtenidos en mm del nivel de inserción de todos los dientes. La diferencia obtenida en porcentaje, es el índice de ganancia de inserción. (Genco 1998)

- **Movilidad dental** (Genco 1998, Papapanou 2005)

Grado	Criterio
1	Movilidad dental menos de 1mm en dirección vestibulo-lingual.
2	Movilidad dental de 1 a 2 mm en dirección vestibulo-lingual.
3	Movilidad dental en dirección vestibulo lingual y ocluso-apical.

➤ **Examen radiográfico**

Mediante técnica intrabucal paralela con proyecciones perpendiculares a la tangente del arco dental; así como de aleta de mordida.

2.4.2 MICROBIOLÓGICAS.

❖ **Toma de muestra microbiológica con tiras de papel estéril.**

1. Las muestras microbiológicas se obtuvieron siguiendo la técnica de Mombelli.

Técnica de Mombelli

Esta técnica se utilizó para la toma de muestra microbiológica y de fluido gingival crevicular (FGC). La colocación exacta de la tira de papel y el periodo de tiempo influye en la composición de la colección de FGC. La colocación de la tira de papel bien adentro del surco gingival o bolsa periodontal induce a un flujo regular de exudado mientras que muestreos repetidos reduce el volumen de fluido así como sus componentes por unidad de tiempo. La muestra tomada por periodos largos toma principalmente exudado de los vasos más que el contenido del surco. Así, una muestra tomada por 30 segundos o menos, con la colocación de la tira de papel en el surco, es ideal ya que asegura una muestra de suficiente tamaño para ser analizada. (Eley 1998, Hartroth 1999)

1. Se eligieron los dientes con mayor profundidad de cuatro localizaciones una de cada cuadrante (Mombelli 1991)
2. Se aislaron los dientes con gasa estéril.
3. Se eliminó la placa supragingival con cureta.
4. Se secó la zona con jeringa de aire evitando dirigir el aire al suco gingival o bolsa periodontal según la patología.
5. Se insertaron dos tiras de papel estéril en el surco gingival o bolsa periodontal hasta que se sintió una leve resistencia de los tejidos

6. Las tiras de papel se insertaron de forma consecutivas, cada una por un periodo de 10 segundos.
7. Se eliminaron del estudio aquellas tiras contaminadas con saliva o sangre. (Hartroth 1999)
2. *Posteriormente se transfirieron inmediatamente a un vial conteniendo 1,5 mL de Medio Reducido de Transporte (RTF). (Anexo I). (Syed y Loesche, 1972; Herrera y Winkelhoff, 1998)*
3. *Los microtubos se etiquetaron con el número de muestra que se le asignó a cada paciente seleccionado para el estudio.*
4. *Las muestras se procesaron a las dos horas siguientes a su recolección.*

❖ **Procesado de la muestra**

Dispersión.

Las muestras iniciales (0) se mezclaron con el aparato vortex durante 30 segundos.

Dilución.

A partir de la muestra (0), se realizaron 4 diluciones sucesivas a la décima parte, con una solución amortiguadora de fosfato (PBS) a pH neutro (anexo I), utilizando tubos Eppendorf estériles para éstas así como micropipetas. Antes de realizar la inoculación, cada dilución se mezcla la dilución en el vortex por 15 segundos.

Inoculación.

Posteriormente, 0,1 mL de la muestra diluida se inoculan con una micropipeta sobre las placas que contienen los medios de cultivo, los cuales son:

- Agar-Sangre (no selectivo). (Anexo II).
- TSBV (selectivo). (Anexo III).

Se incubaron las diluciones 1:10 (1); 1:100 (2); 1:1000 (3); 1:10000 (4); en medio de agar-sangre y las diluciones 1:0 (0), 1:10 (1); y 1:100 (2), en medio de TSBV.

Incubación.

El medio de cultivo no selectivo de agar-sangre se incubó a 37°C durante siete días con las cajas Petri en posición invertida, en jarras de anaerobiosis con sobres generadores de hidrógeno (H₂), más dióxido de carbono (CO₂). Para la búsqueda de las siguientes bacterias: *P.gingivalis*, *P. intermedia*, *F.nucleatum*, *T. forsythia*, *P. micra*, *C. rectus sp.* y *Actinomyces sp.*

El primer periodo para la observación microbiana fue de siete días, siendo necesario otro período de siete días más, para poder observar especies de crecimiento lento (total, 15 días).

El medio de cultivo selectivo de soja tripticasa-bacitracina-vancomicina (TSBV) se incubó a 37°C de 3 a 5 días al 5% de CO₂. Para la recuperación de *A. actinomycetemcomitans*. (Herrera 1998)

❖ Identificación de Especies Bacterianas

El análisis de las colonias en medio no selectivo agar-sangre se realizó de acuerdo a diferentes técnicas como son: Identificación morfológica y microscópica, tinción de Gram, prueba BIG, incubación en medio SIM para prueba de indol, y por el sistema de actividad enzimática: API ZYM.

En el medio selectivo TSBV se analizaron las bacterias por identificación morfológica siempre con iluminación inferior, tinción de Gram, reacción positiva a la catalasa (3% H₂O₂). Incubación en medio SIM para prueba del indol, (Anexo IV) actividad enzimática por el sistema: API ZYM y tinción de Gram (Anexo V). (Slots 1981, Loesche 1992, Mac Faddin 1993, Hartroth 1999)

Metodología

MEDIO NO SELECTIVO DE AGAR-SANGRE

En el periodo de siete días se identificaron *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *P.micros*, *C.rectus* y *Actinomyces sp.* Las especies anteriores a excepción de *P.gingivalis* se contaron en este periodo. Los microorganismos *T.forsythia* y *P.gingivalis* se contaron en el periodo de catorce días.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA

La identificación morfológica se realizó a través de una lupa American Optical Corporation, modelo 561- 1.

Porphyromonas gingivalis). Son pequeñas colonias redondas cuyo color en el periodo de una semana es verde, rojo o rosa y en el lapso de dos semanas se puede observar un aspecto de pigmentación oscura, como puede ser totalmente café o negro. Llega a presentar puntos oscuros sobre un color amarillo o pequeñas manchas en el centro o bien un aspecto nuboso cercano a su contorno. Su forma es marcadamente convexa y su contorno bien definido, así como también presentan un halo β -hemolítico.

Existe una variedad de textura rugosa, su color y su tamaño es el mismo, pero en el centro de la colonia se presenta una depresión perdiendo así su convexidad, y dando a la colonia un aspecto rugoso hacia la parte interior.

Prevotella intermedia (Pi). Son colonias más grandes y más planas que las *P.gingivalis*, son redondas y su contorno puede ser irregular o bien definido.

Se dificulta la identificación entre estas dos bacterias pigmentadas de negro a las dos semanas de incubación ya que éstas adquieren ese color en este periodo, aunque las colonias de *P.gingivalis* no son tan oscuras como las de *P.intermedia*.

Parvimonas micra. Se presenta como una colonia muy blanca. Se pueden identificar dos formas y se cuentan como una:

- La colonia de aspecto rugoso se observa con un contorno rugoso, son pequeñas, brillantes y presentan halo β -hemolítico alrededor. A las dos semanas todavía se pueden ver.

- La colonia de aspecto liso esta perfectamente circunscrita, aunque es pequeña es más grande que la rugosa y también tiene halo β -hemolítico, en un periodo de dos semanas es muy difícil de identificar.

Campylobacter rectus. Son colonias pequeñas cuyo crecimiento es hacia el agar, el centro de la colonia es más alto que el resto, presenta líneas brillantes y puntos simulan ser los límites de un valle; su contorno se compone de dos anillos, uno externo que es una línea ondulada y otro interno que es más angosto y éste es del mismo color del agar. El color de la parte interna va progresando de un color gris suave no denso hacia el centro, donde el color es más denso, casi blanco. La colonia se observa tanto en el contorno como en el centro con un difuso. El tamaño de la célula es de 0,5 x 2 a 4 μm , con terminaciones redondeadas, móviles, estimuladas por formato y fumarato, asacarolítica, benzidina positiva, catalasa negativa, oxidasa negativa y sensible a la tinción y los antibióticos. Es anaerobia estricta Gram-negativa .

Fusobacterium nucleatum. Son colonias que se presentan con morfología muy variable. Se observan de color verde a rosa y pueden ser fluorescentes; el color no es denso pero puede presentar filamentos de un material viscoso. El contorno se puede presentar bien definido o como una línea ondulada. La colonia puede estar esparcida o elevada y en algunos casos con forma de un balón en el centro. La colonia puede tener un halo de un color rosa.

Como puntos claves de identificación para estas colonias debe tomarse en cuenta lo siguiente: color, filamentos, fluorescencia, aspecto viscoso y halo rosa.

Actinomyces sp. Se presentan con una morfología variable. Se pueden observar como colonias de forma convexa con un centro rojo fuerte y un anillo blanco alrededor o bien de color que varía de gris blanquecino a crema. Así mismo, pueden tener una morfología con un contorno circular bien definido o ser irregulares y por la parte interior presentar un aspecto con divisiones rugosas densas. Se pueden presentar quebradizas, secas y adherentes o de textura lisa mucoide.

Tannerella forsythia. Se observan como colonias pequeñas con un color gris en el centro y rosa en el contorno. La parte central se observa brillante y con un

Metodología

anillo alrededor que tiene aspecto turbio. Se pueden presentar colonias de forma redonda o como colonias esparcidas de bordes irregulares y el contorno no es bien definido. La colonia presenta un punteado blanco del centro al contorno, y poca densidad. Su aspecto es ligeramente convexo. Las colonias pueden aumentar de tamaño dependiendo de las colonias vecinas. En ocasiones las colonias pierden el centro tomando un aspecto de anillo.

MEDIO SELECTIVO DE AGAR SOJA TRIPTICASA-BACITRACINA-VANCOMICINA

En el periodo de tres a cinco días se identificó *A.actinomycetemcomitans*.

IDENTIFICACION MORFOLÓGICA.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans. Se presentan con un tamaño variable dependiendo del número de colonias en la caja Petri. Pueden ser pequeñas o muy pequeñas.

Forma y contorno: Son colonias pequeñas con un contorno irregular y oscuro, su aspecto es granuloso como superponiéndose líneas onduladas. Se observa la parte interna elevada con un aspecto granuloso y estriado de color café. Se presenta un dibujo interno de forma entrecruzada y su aspecto no es transparente como el resto de la superficie, su color es anaranjado oscuro y esta se puede presentar punteada. El color desaparece con la iluminación inferior y se observa la colonia transparente con un dibujo interno en forma de estrella o margarita. El contorno de este dibujo es irregular y opaco así como el contorno de la colonia.

La identificación se realizó con iluminación inferior.

SUBCULTIVOS EN AGAR-SANGRE.

Para poder identificar de manera definitiva a las bacterias pigmentadas de negro, se realizaron subcultivos de éstas, es decir, de las placas donde se inocularon por un periodo de siete días; se inoculó de nuevo por placa las diferentes especies que crecieron en éstas y se volvieron a incubar por otro periodo de siete días junto con las cajas originales. Como son: *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*.

RECUESTO DE LAS UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

La cantidad total de las colonias se realizó sobre las placas de Petri con 20 a 500 colonias con un contador para colonias. El porcentaje de la flora total cultivable es calculada en relación a este número y de acuerdo a la dilución de la placa Petri en la cual la especie se contaba.

IDENTIFICACIÓN POR OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA:

ESPECIES	TINCIÓN GRAM	FORMA	RESPIRACIÓN
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	-	bacilos cortos	anaerobios estrictos
<i>Prevotella intermedia</i>	-	bacilos cortos	anaerobios estrictos
<i>Campylobacter recta</i>	-	bacilo curvo	anaerobios estrictos
<i>Tannerella forsythia</i>	-	bacilos	anaerobios estrictos
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	-	filamentos	anaerobios estrictos
<i>Parvimonas micra</i>	-	cocos	anaerobios estrictos
<i>Actinomyces sp.</i>	+	bacilos y fila	anaerobios facultativos
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	-	cocos/bacilos	anaerobios/capnofílico

Cfr. (Bergey, Liébana 2002, Nisengard 1998, Herrera 1998)

2.4.3 RESPUESTA DEL HOSPEDADOR.

Cuantificación de Marcadores Bioquímicos.

❖ Toma de la muestra del Fluido Crevicular Gingival (FCG)

- Las muestras de FCG se recogieron según la técnica de Mombelli. Antes descrita. (Eley 1998)
- Se transfirieron al Periotron® 8000 para cuantificar el volumen de FCG obtenido.
- Se introdujeron en un tubo Eppendorf de 1,5mL
- Se conservaron a -70°C hasta que se procesaron.

❖ **Calibración del Periotron® 8000**

Consistió en la construcción de una gráfica de calibrado cuyo objetivo es transformar las lecturas digitales para cada tira de papel en volumen así como evaluar la precisión del instrumento. (Anexo VII)

Procedimiento:

- Se construyeron seis curvas de respuesta para cada fluido: suero humano de un mismo donador, cloruro de sodio grado analítico al 0,85% y agua bidestilada .
- Se utilizaron tiras de papel donde se absorbió de manera independiente, volúmenes conocidos de suero, de suero diluido 1:5 en solución salina fisiológica y de agua bidestilada.
- Se realizó un barrido de 0,05 a 1mL, los volúmenes aplicados fueron: 0,05, 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 y 1 μ L utilizando una jeringa de alta precisión Hamilton ® de 1 μ L.
- Cada medición se realizó con muestras independientes por triplicado.
- Se determinaron la linealidad, precisión y exactitud de la respuesta del sistema para traducir las unidades de capacitancia del Periotron® a los respectivos volúmenes de cada fluido estudiado. (Ver Anexo VII).
- Se realizó un estudio de regresión cuadrática para obtener la fórmula y la gráfica que traduce las unidades de capacitancia del Periotron® a volumen.

(Según instrucciones del fabricante.)

❖ **Obtención del Suero Humano**

Procedimiento.

1. Se obtuvo la muestra de sangre periférica de 3mL en cada calibración del mismo individuo sano.

2. Se depositó en un tubo de ensayo la sangre por 30 minutos hasta su coagulación.
3. Se desprendió la sangre de las paredes con un agitador de plástico.
4. Se centrifugó por 15 minutos a 1000 x g hasta obtener la separación del suero.
5. Se extrajo el suero del tubo de ensayo con una micropipeta y se colocó en un micro tubo Eppendorf.
6. Se guardó a -70°C hasta su utilización.

❖ Cálculo del Volumen con el Periotron® 8000

Descripción del Proceso:

- Los sensores del instrumento se limpian con metanol puro entre cada lectura secuencial.
- La lectura digital obtenida por el Periotron® 8000 en cada tira de papel se transforma en volumen de FGC con una curva de calibrado del instrumento (descrita en el apartado anterior).
- Una vez calculado el volumen, cada tira se introduce en un tubo Eppendorf y se almacena a -70°C para un análisis posterior.

❖ Elución de las muestras de FCG de las tiras de papel.

Descripción del proceso:

- Las tiras de papel previamente colocadas en un tubo Eppendorf de 1,5 mL y congeladas se sacaron del congelador para que estuvieran a temperatura ambiente.
- Se le agregaron 100 μL de solución PBS (amortiguador de fosfato) a un pH de 7,4 a cada microtubo Eppendorf.
- Se agito el tubo Eppendorf conteniendo las tiras y la solución PBS.

- Las tiras de papel se desecharon y los sobrantes de cada muestra se colectaron con micropipetas de 20 a 200 μL (Finnpipette. Thermo-Labsystems) en tubos Eppendorf estériles.
- Los resultados obtenidos posteriormente se valoraron mediante la técnica inmunoenzimática de ELISA, para determinar las cantidades de citoquina 1β presentes en el FGC.

❖ **Determinación Cuantitativa de Interleuquina 1β humana (IL- 1β) en Fluido Gingival Crevicular mediante la Técnica Inmunoenzimática de Elisa**

Preparación de Reactivos

Solución de lavado

Procedimiento

1. Se diluyeron en un frasco 20 mL de concentrado amortiguador de lavado en agua destilada para preparar 500 mL de solución de lavado.

Solución Substrato

1. Se mezclaron en un frasco volúmenes iguales de solución reactivo color A y solución reactivo color B.
2. Se utilizaron a los 15 minutos de su preparación.
3. El frasco se protegió de la luz con papel aluminio.

Solución Estandar IL- 1β

1. Se reconstituyó el estándar IL- 1β con 5 mL de diluyente calibrador RD6.
2. Se produjo una solución de reserva de 250 pg/mL.
3. Se dejó en reposo la solución por un mínimo de 15 minutos.
4. Se agitó suavemente antes de hacer las diluciones.
5. Se adicionaron 500 μl de diluyente calibrador dentro de cada tubo.
6. Se produjeron diluciones en serie considerando que la solución estándar no diluida sirve como un estándar alto (250 pg/mL). La solución diluida sirve como blanco de reactivos (0 pg/mL).

Metodología

7. Las diluciones obtenidas fueron 125 pg/mL; 62,5 pg/mL; 31,2 pg/mL; 15,6 pg/mL; 7,8 pg/mL; 3,9 pg/mL.

Procedimiento estuche de ensayo inmunoenzimático IL-1 β .

Las muestras y los estándares se valoraron por duplicado para evitar errores en la metodología.

Todos los reactivos y las muestras estuvieron a temperatura ambiente antes de ser procesados.

1. Se prepararon todos los reactivos y se trabajaron los estándares de manera directa en secciones previas
2. Se sacó la placa pozos de la bolsa metálica que posteriormente se utilizó.
3. Se adicionaron 50 μ L de diluyente RD1C en cada pozo con una pipeta múltiple. Este diluyente contiene un precipitado por lo que se debe mezclar bien antes y durante su uso.
4. Se agregaron 50 μ L de solución estándar o muestra por pozo con una micropipeta. Se cubrieron con una tira adhesiva por dos horas a temperatura ambiente. Se realizó un plan de distribución de los pozos para el registro de los estándares y las muestras ensayadas.
5. Cada pozo se aspiró y lavó, repitiendo el doble proceso para un total de tres lavados. El lavado se realizó con el llenado del pozo con 200 μ L de la solución de lavado utilizando una pipeta múltiple. La eliminación completa del líquido en cada paso es esencial para una buena verificación. Después del último lavado se eliminaron todos los remanentes de solución de lavado por decantamiento. Se invirtió la placa y se secó contra una toalla de papel limpia.
6. Se añadió 200 μ L de conjugado IL-1 β en cada pozo se cubrieron con una nueva tira adhesiva. Se incubó por dos horas a temperatura ambiente.
7. Se repitió el aspirado y lavado del paso 5.
8. Se añadió 200 μ L de solución sustrato a cada pozo. Se incubó por 20 minutos a temperatura ambiente. Protegido de la luz.

Metodología

9. Se añadió 50 μL de solución para detener la reacción en cada pozo y se verificó el color de la reacción.
10. Se determinó la densidad óptica de cada pozo a los 30 minutos a 450 nm. Si la corrección de la longitud de onda (λ) está disponible se lee a 540 nm o 570 nm.
11. Cada ensayo graficó una curva patrón, así como se ajustó a cero en la lectura por duplicado de un pozo.

(Cfr. Manual de Inmunología IPN, México, 2001, e inserto del fabricante, Weir 3° ed.)

ANÁLISIS DE DATOS

ANÁLISIS DE LOS DATOS

1. Cálculo de tamaño de la muestra.

A partir de las proporciones máxima (P) y mínima (p) de una población de pacientes de conveniencia con el tipo de patología a estudiar, se seleccionaron 52 individuos para una $P = 0,3$ y $p = 0,05$; $\alpha = 0,05$ y $\beta = 0,05$, por muestreo simple.

El paquete estadístico utilizado fue el JUMP® 5,3

2. Análisis de las diferencias intra-grupos.

Se realizaron ensayos estadísticos para comparar el grupo de gingivitis frente al de periodontitis, para variables continuas, aplicando la prueba de “t” de Student, y para variables categóricas se utilizó la prueba de Tukey-Kramer; de este modo se pretendió hacer evidente si existe diferencia o no significativa con una $p < 0,0001$ entre las fases inicial, pos-terapéutica y de mantenimiento, de cada patología en estudio.

3. Análisis de las diferencias inter-grupo entre la fase inicial, tras el tratamiento periodontal y mantenimiento.

El ensayo estadístico aplicado fue para grupos independientes: la patología de gingivitis frente a la de periodontitis, con una $p \alpha 0,05$ con la prueba de Pearson.

RESULTADOS

Resultados

RESULTADOS

Al inicio de la investigación se tuvo un total de 52 individuos participantes, 21 en el grupo control (pacientes con gingivitis), y 31 en el grupo experimental (pacientes con periodontitis crónica moderada); sin embargo, 17 pacientes no concluyeron el periodo de tratamiento por razones no asociadas con el mismo: 3 en el grupo control y 14 en el grupo experimental. Por lo tanto, se replanteó la población objetivo.

Para las dos patologías en estudio (gingivitis y periodontitis crónica), se designó un grupo de pacientes de aquellos que acudieron a las clínicas estomatológicas de la UAM-Xochimilco, ubicadas en las zonas suburbanas de San Lorenzo Atemoaya y de Tepepan – al sur de la ciudad de México, D. F. – y que cumplieron con los criterios de inclusión previamente establecidos. Ambos grupos de pacientes recibieron el tratamiento periodontal no quirúrgico en las tres visitas o fases establecidas. Las variables de respuesta clínicas de índice de placa (Quigley y Hein, modificado por Turesky) e índice gingival (Löe y Silness), se obtuvieron mediante el cálculo del porcentaje (%) tanto de los registros obtenidos por cada sujeto en cada visita de monitorización, como del promedio de los datos de todos los individuos por grupo de estudio por cada visita o fase.

La profundidad de surco (para el caso de la gingivitis) y la de bolsa (para la periodontitis crónica), así como el nivel de inserción por cada sitio, fueron el resultado del promedio de las medidas obtenidas por cada sujeto y el promedio de los datos de todos los individuos por grupo, por cada fase del tratamiento. La movilidad dentaria se equiparó con un índice y se obtuvo el promedio en cada sujeto y por el grupo, por visita o fase de tratamiento.

Las variables de respuesta microbiológica fueron obtenidas de la biopelícula subgingival de los pacientes de los dos grupos en estudio y se expresaron a través de la prevalencia bacteriana, valorada ésta como el porcentaje de UFC/mL por especie periodontopatógena por sujeto y por fase, así como por el total de UFC/mL de las especies periodontopatógenas presentes por individuo y por fase.

Las variables de respuesta bioquímicas fueron: 1) la concentración de IL-1 β en el FGC expresada en pg/ μ L y 2) la cantidad total de IL-1 β en pg, cuyos valores

Resultados

fueron el resultado del promedio de las determinaciones de este compuesto en el volumen de FGC obtenido por individuo por fase.

VARIABLES DEMOGRÁFICAS

La Tabla I, así como las gráficas 1 y 2, muestran las características de edad y género del total de los 35 sujetos involucrados en la fase de selección del estudio. El promedio de edad de los participantes en los dos grupos de patologías estudiadas fue de 49,5 años, con una desviación estándar de 12,4 ($49,5 \pm 12,4$ años). En cuanto al género, fue mayor el porcentaje de mujeres en los dos grupos de estudio.

VARIABLES DE RESPUESTA CLÍNICAS

Índice de Placa (IP)

En la tabla II se presenta los valores obtenidos en porcentaje, del parámetro clínico de índice de placa (IP) de los 18 sujetos con gingivitis y de 17 sujetos con periodontitis crónica, en cada una de las tres fases del estudio, donde se muestra las diferencias intragrupo e intergrupo. Las diferencias intragrupo muestran la existencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$). Estos datos, junto con el gráfico 3, permiten la observación en ambas patologías, de una disminución del IP evaluada mediante las pruebas “t” de Student y Tukey – Kramer en las tres fases del tratamiento: (1) fase inicial, (2) después de 2 meses de tratamiento terapéutico no quirúrgico y (3) en la etapa de mantenimiento, a los 6 meses posteriores a la fase 2.

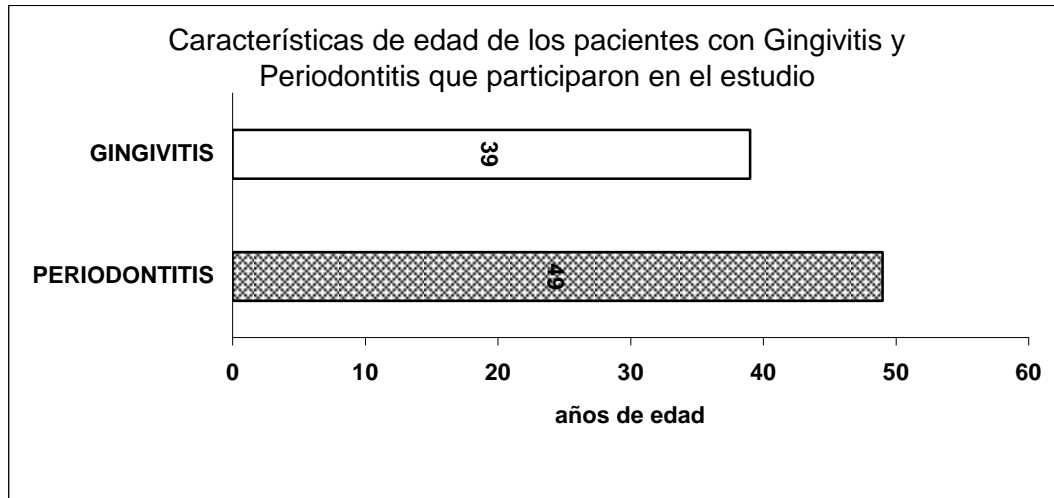
Se observa con claridad que la reducción en el nivel de IP llega a su menor valor en la fase 3 del tratamiento para el caso de los pacientes con gingivitis. Para el caso de los pacientes con periodontitis también fue significativa la disminución de la fase 1 a la 3; no obstante, la principal reducción ocurrió después de 2 meses del tratamiento no quirúrgico (fase 2) y entre ésta y la fase 3 (de mantenimiento), si bien hubo una disminución promedio del IP en el total de pacientes atendidos, la diferencia entre éstas dos fases no fue significativa.

Resultados

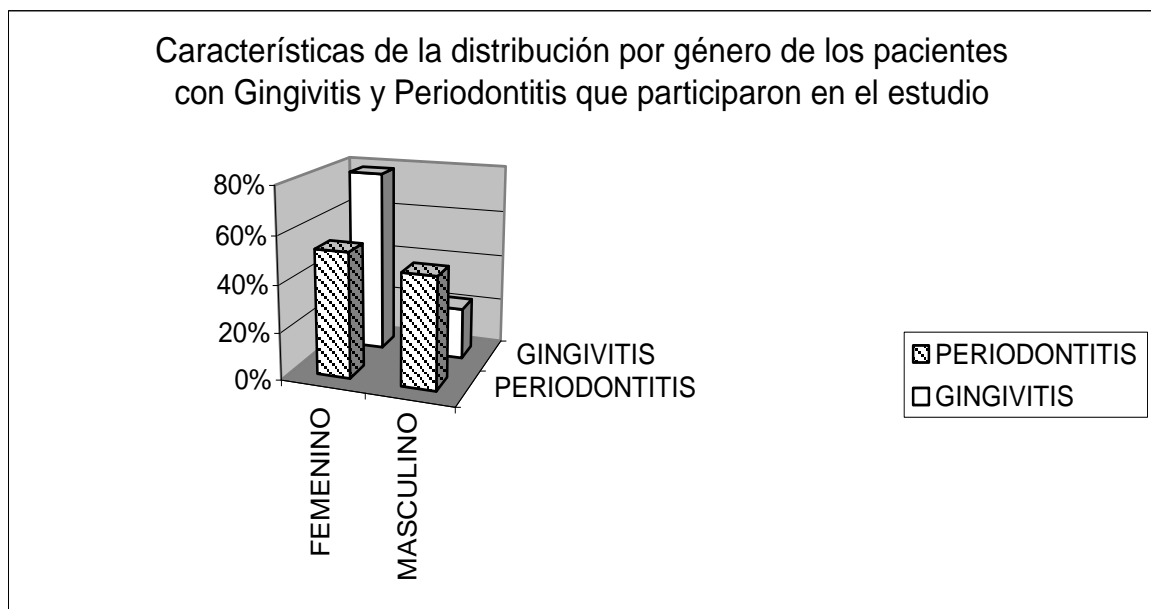
Tabla I. Género y edad de los sujetos participantes en la fase de selección del estudio. (n=18) en gingivitis y (n=17) en periodontitis.

GINGIVITIS		PERIODONTITIS		
Género	Edad	Género	Edad	
F	79	F	53	
F	40	F	66	
F	40	F	48	
F	30	F	54	
F	40	F	26	
F	33	F	49	
F	35	F	50	
F	56	F	59	
F	46	F	54	
F	28	M	27	
F	47	M	42	
F	28	M	44	
F	20	M	72	
F	24	M	63	
M	48	M	51	
M	19	M	50	
M	47	M	35	
M	50			
	n	Edad	Género	
	Pacientes	Años	Femenino (F)	Masculino (M)
Gingivitis	18	X = 39	77%	23%
Periodontitis	17	X = 49	53%	47%

Resultados



Gráfica 1. Características de edad de los dos grupos de pacientes que participaron en el estudio. La edad promedio fue de 39 años para el grupo control (gingivitis) y de 49 años para el experimental (periodontitis).



Gráfica 2. Características de género de los dos grupos de pacientes que participaron en el estudio. El mayor porcentaje en ambos casos correspondió al género femenino (77%, Gingivitis) y (53%, Periodontitis).

Resultados

Tabla II. Diferencias intragrupo e intergrupo así como el valor de $p <$ correspondiente a cada diferencia respecto al Índice de Placa en porcentaje, obtenidos de los pacientes con gingivitis y periodontitis crónica, durante las tres fases de tratamiento en el periodo del estudio.

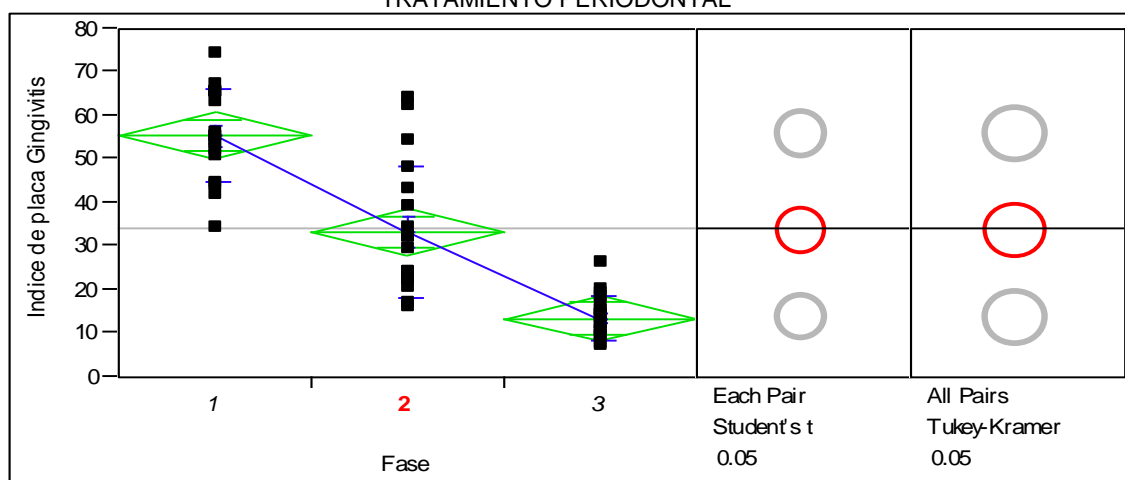
Fases de Tratamiento	Índice de Placa (IP) expresado en porcentaje		
	Gingivitis	Periodontitis	$p \alpha 0,05$
1	55,7 \pm 10,4	33,5 \pm 15,0	0,02184
2	63,4 \pm 20,0	29,2 \pm 19,1	0,02128
3	13,7 \pm 4,9	18,4 \pm 9,5	0,03096
P<	<0,0001	<0,0001	

Esta tabla también muestra la $p \alpha = 0,05$ de grupos independientes: gingivitis y periodontitis, en donde durante las tres fases del tratamiento las dos patologías son independientes.

Las gráficas 3 y 3'' corresponden al grupo de gingivitis y de periodontitis. Los diamantes (verde), permiten comparar de forma gráfica, mediante cada diamante o rombo, el valor promedio del IP (línea central) y la dispersión de los datos dentro de un grupo (amplitud del rombo), para cada fase de tratamiento (1, 2 y 3), a partir de los datos de cada individuo (cuadros negros), por grupo de estudio. De igual forma, los tres círculos de cada columna de la derecha se emplean como una herramienta gráfica de los resultados estadísticos del IP con las pruebas de "t" de Student y de Tukey-Kramer, respectivamente, para hacer evidente, cuando se muestran en forma independiente, que existe diferencia significativa entre los tratamientos (fases) y cuando se superponen, indican los tratamientos en los que no hay diferencia significativa.

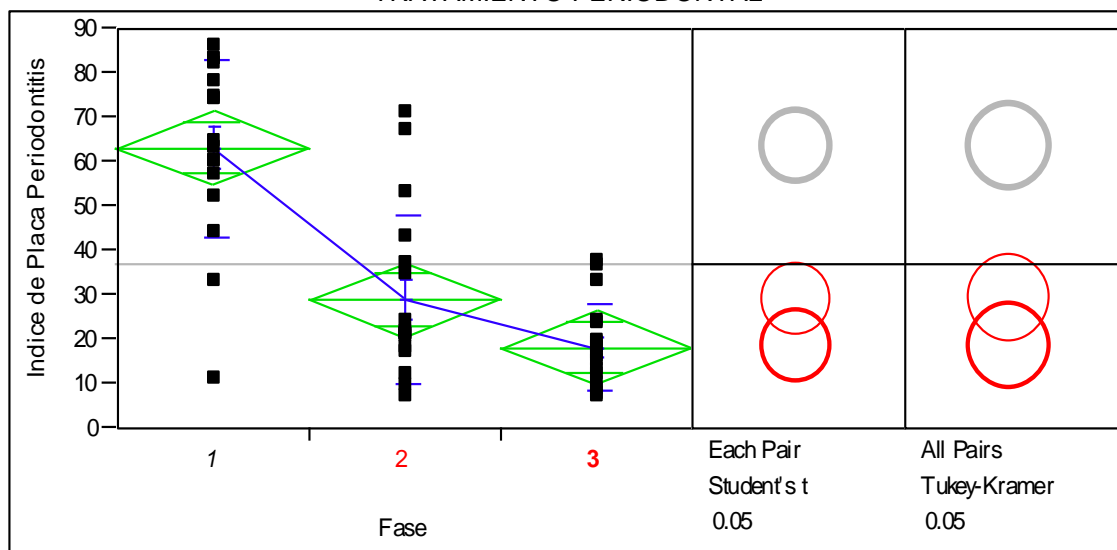
Resultados

INDICE DE PLACA (IP) EN INDIVIDUOS CON GINGIVITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Gráfica 3. Esquema de diamantes, que compara el valor promedio de IP de los pacientes con gingivitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) de tratamiento periodontal no quirúrgico.

INDICE DE PLACA (IP) EN INDIVIDUOS CON PERIODONTITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Gráfica 3''. Esquema de diamantes, que compara el valor promedio de IP de los pacientes con periodontitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) de tratamiento periodontal no quirúrgico.

Resultados

Índice Gingival y Sangrado (IG)

En la tabla III se presenta los valores obtenidos en el índice del parámetro clínico gingival (IG) de los 18 sujetos con gingivitis y de 17 sujetos con periodontitis crónica, en cada una de las tres fases del estudio, donde se muestra las diferencias intragrupo e intergrupo. Para el índice gingival y el sangrado al sondaje se siguió la siguiente codificación: inflamación gingival (IG = 1,0); inflamación y sangrado al sondaje (IG = 2,0); inflamación y sangrado espontáneo (G = 3,0). Se muestran las diferencias intragrupo a lo largo de las tres fases de tratamiento el IG mostró una reducción estadísticamente significativa, con una $p < 0,0001$ en las dos patologías.

Tabla III. Diferencias intragrupo e intergrupo así como el valor de $p <$ de Índice Gingival y Sangrado (IG), obtenidos de los pacientes con gingivitis y periodontitis crónica, durante las tres fases de tratamiento en el periodo del estudio.

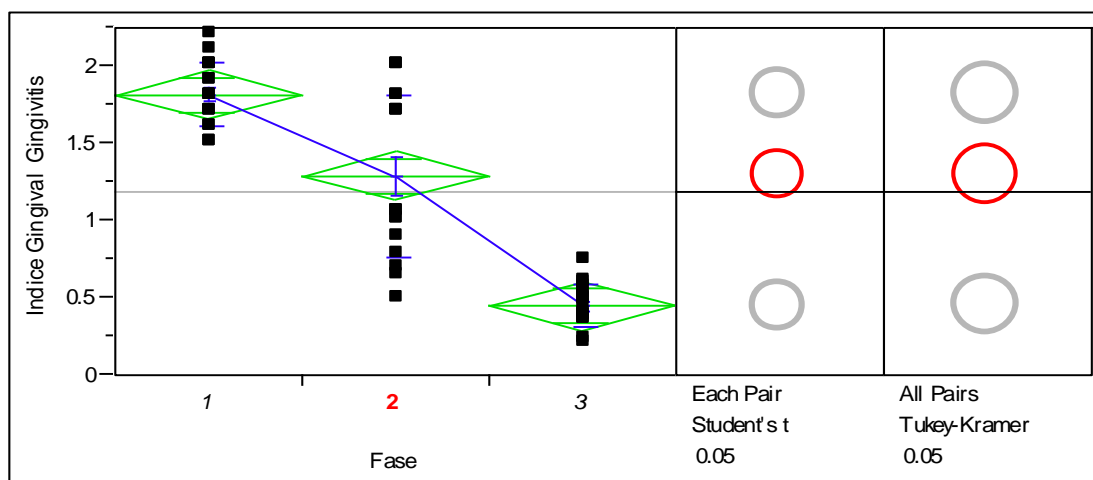
Fases de tratamiento	Índice de Gingival y sangrado (IG)		
	Gingivitis	Periodontitis	$P \alpha 0,05$
1	$1,8 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,5$	0,03415
2	$1,8 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,2$	0,07525
3	$0,4 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,3$	0,03414
P<	0,0001	0,0001	

Esta tabla también muestra la dependencia e independencia de grupos independientes: gingivitis y periodontitis; con una $p \alpha = 0,05$, en donde durante las tres fases del tratamiento las dos patologías son independientes.

De manera semejante a lo observado en el gráfico 3 y 3” el esquema de diamantes presentado en las gráficas 4 y 4” describe con claridad la disminución del IG en las tres fases del tratamiento: (1) fase inicial, (2) después de 2 mes de tratamiento terapéutico no quirúrgico y (3) en la etapa de mantenimiento, a los 6 meses posteriores a la fase 2 para las dos patologías del estudio; comprobándose en este caso mediante las pruebas de “t” de Student y de Tukey-Kramer, que la reducción en el IG fue significativa para cada fase en ambas enfermedades.

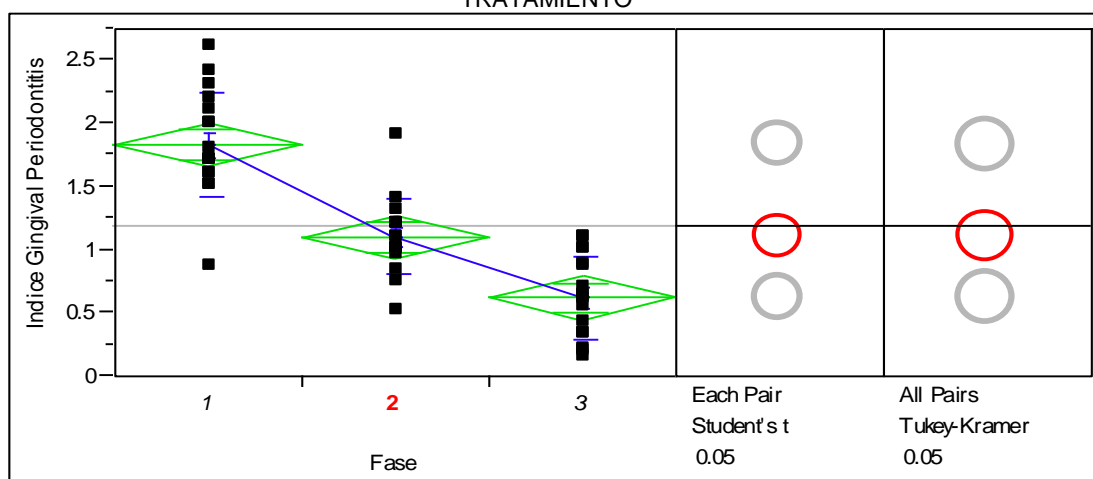
Resultados

INDICE GINGIVAL (IG) EN SUJETOS CON GINGIVITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Gráfica 4. Esquema de diamantes, que compara el valor promedio de IG de los pacientes con gingivitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) de tratamiento periodontal no quirúrgico.

INDICE GINGIVAL (IG) EN SUJETOS CON PERIODONTITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO



Gráfica 4''. Esquema de diamantes (verde), que compara el valor promedio de IG de los pacientes con periodontitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) de tratamiento periodontal no quirúrgico.

Resultados

Profundidad de Surco (PS) y Profundidad de Bolsa (PB)

La Tabla IV muestra el promedio y la desviación estándar del valor en mm, de la Profundidad de Surco gingival (PS), de los pacientes del grupo con gingivitis y de la Profundidad de Bolsa (PB), del grupo con periodontitis así como el valor de $p <$ para las diferencias intragrupo e intergrupo; como una medida de referencia sobre el estado de salud del periodonto en las distintas fases de tratamiento dado a los pacientes.

En el grupo con gingivitis, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el valor de PS entre la fase 1 y la fase 2 del tratamiento, sin que esta diferencia fuera también significativa entre la fase 2 y la de mantenimiento (fase 3), con una $p > 0,0024$. Con relación al valor de PB en el grupo con periodontitis, el comportamiento del decremento en el nivel de profundidad de la bolsa entre las tres fases fue similar al del grupo con gingivitis, con una $p < 0,0001$. Estos resultados se pueden observar de manera esquemática en las gráficas 5 y 5”.

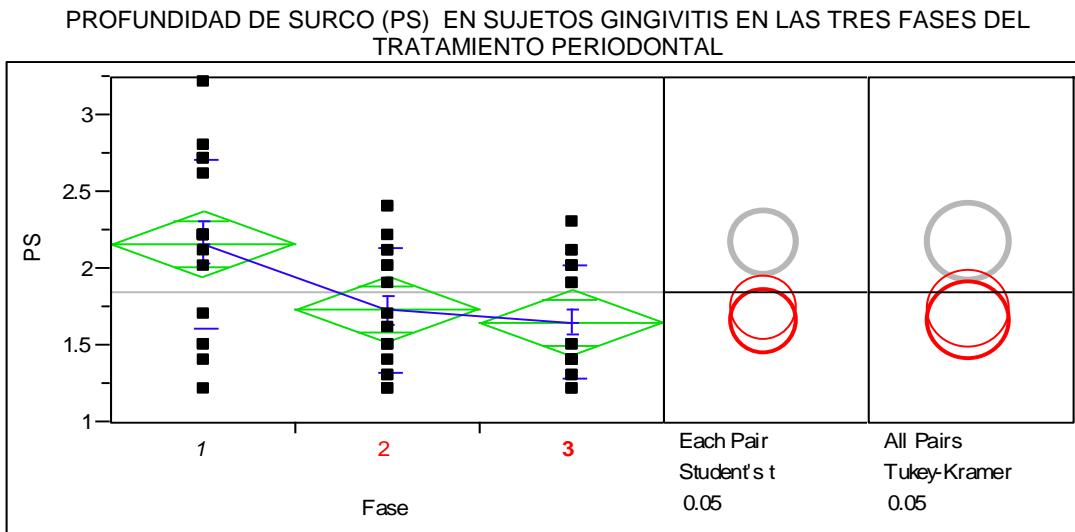
Esta tabla también se muestra una independencia de gingivitis frente a periodontitis utilizando la prueba de Pearson con una $p \alpha 0,05$ durante las tres fases del tratamiento.

Tabla IV. Diferencias intragrupo e intergrupo de Profundidad de Surco gingival (PS), de Profundidad de Bolsa periodontal (PB) así com el valor de $p <$ y $p \alpha$ obtenidos de los pacientes con gingivitis y periodontitis crónica, respectivamente, durante las tres fases de tratamiento en el periodo del

Fases	Valores en mm, de Profundidad de Surco gingival (PS) y de Profundidad de Bolsa (PB), obtenidos por fase de tratamiento		
	GINGIVITIS		PERIODONTITIS
	PS	PB	$P \alpha 0,05$
1	2,1 ± 0,55	4,61 ± 0,74	0,03725
2	1,73 ± 0.4	2,65 ± 0,60	0,03778
3	1,66 ± 0,36	2,59 ± 0,90	0,03596
P<	0,0024	0,0001	

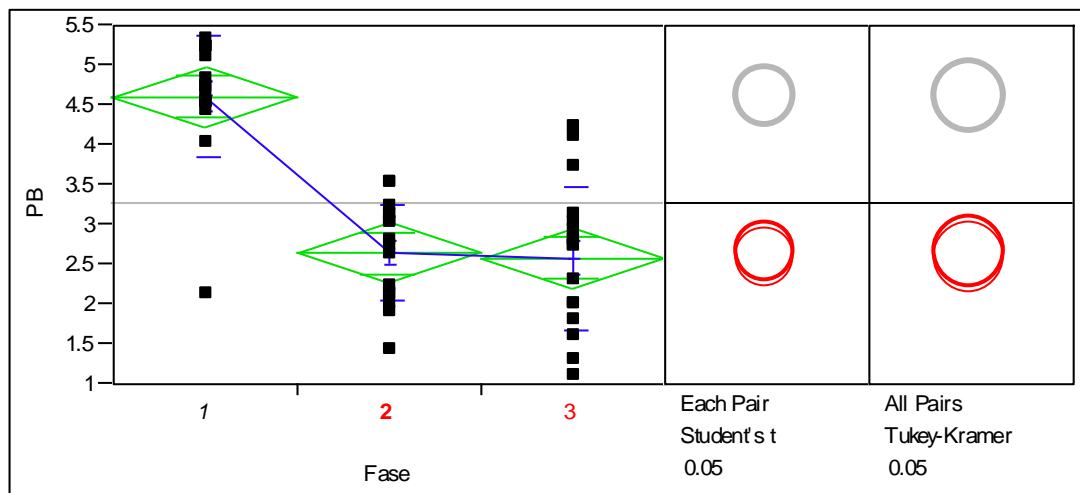
estudio.

Resultados



Gráfica 5. Esquema de diamantes, que compara el valor promedio de PS de los pacientes con gingivitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) del tratamiento periodontal no quirúrgico.

PROFUNDIDAD DE BOLSA (PB) EN SUJETOS CON PERIODONTITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Gráfica 5". Esquema de diamante, que compara el valor promedio de PB de los pacientes con periodontitis, entre las tres fases (1, 2 y 3) del tratamiento periodontal no quirúrgico.

Resultados

Nivel de Inserción Epitelial y Movilidad dentaria

La Tabla V muestra el promedio y la desviación estándar del valor en mm, de el nivel de inserción (NI) del grupo con periodontitis valorado como índice de Enfermedad Periodonal (PDI, Periodontal Disease Index, por sus siglas en inglés) y movilidad dentaria (M).

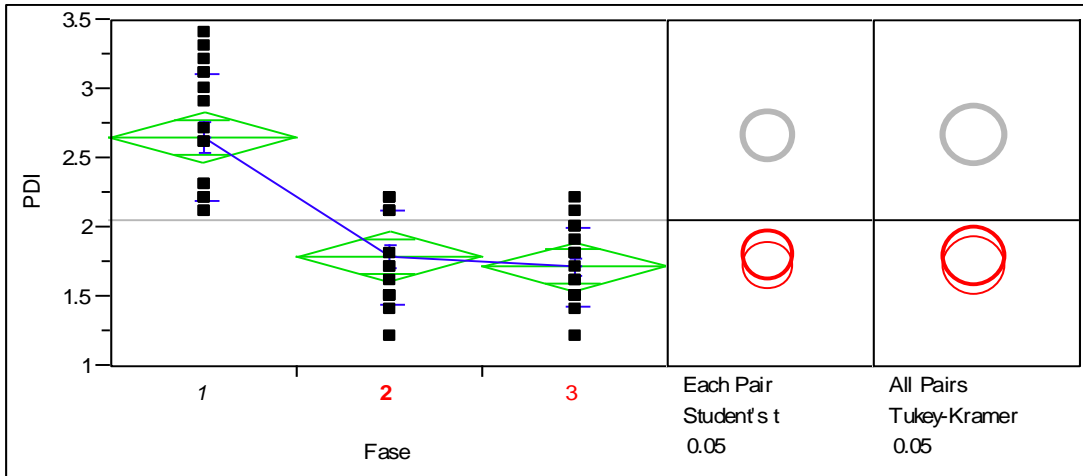
Como una medida de referencia sobre el estado de salud del periodonto en las distintas fases de tratamiento dado a los pacientes; el nivel de inserción mostró un decremento significativo entre las fases 2 y 3 en comparación con la fase 1 obteniéndose entre ellas una diferencia estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$ y la movilidad dentaria (M), si bien presentó una tendencia a disminuir después de la primera etapa del tratamiento, no hubo una diferencia significativa entre las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico, con una $p < 0,1588$ como se puede observar en la tabla 6 y 6''.

Tabla V. Diferencias intragrupo del Nivel de Inserción (NI) y movilidad dentaria (M) así como el valor de $p <$, obtenidos de los pacientes con periodontitis crónica durante las tres fases de tratamiento en el periodo de estudio.

Fases	Valores en mm, de Nivel de Inserción obtenidos por fase de tratamiento		
	PERIODONTITIS		
	NI	M	
1	2,66 ± 0,45	2,05 ± 1,02	
2	1,79 ± 0,33	1,76 ± 0,43	
3	1,73 ± 0,27	1,58 ± 0,50	
P<	0,0001	0,1588	

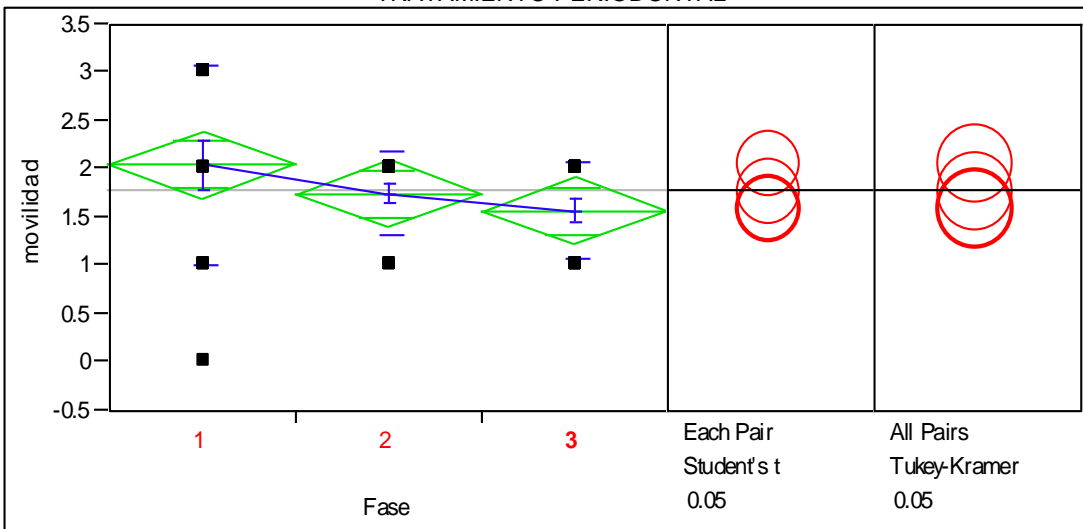
Resultados

NIVEL DE INSERCIÓN (NI) EN SUJETOS CON PERIODONTITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Grafica 6. Esquema de diamantes, con los resultados estadísticos sobre las variable respuesta clínica de nivel de inserción epitelial (NI) obtenidas en las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico en pacientes con periodontitis crónica.

MOVILIDAD DENTARIA (M) EN SUJETOS CON PERIODONTITIS EN LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL



Grafica 6". Esquema de diamantes, con los resultados estadísticos sobre las variable respuesta clínica de movilidad (M) obtenidas en las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico en pacientes con periodontitis crónica.

Resultados

VARIABLES DE RESPUESTA MICROBIOLÓGICAS

Los hallazgos clínicos observados en los dos grupos de pacientes del estudio, se acompañaron por cambios específicos a nivel de la microbiota subgingival; siendo otro de los aspectos a evaluar en esta investigación la identificación de ocho especies de las diversas bacterias anaerobias, facultativas y capnofílicas patógenas orales que pueden coexistir en la placa subgingival. De ese modo se evaluaría también la prevalencia y la proporción de estos microorganismos por individuo, intragrupo e intergrupo, en las tres fases del tratamiento periodontal.

En los 18 pacientes con gingivitis y los 17 individuos con periodontitis crónica moderada, se determinó el recuento bacteriana total promedio, así como las unidades formadoras de colonias (UFC) por especie; obteniéndose en cada caso la respectiva desviación estándar. En ambos grupos se observó (tabla VI y gráfica 7 y 7”), que todas las especies evaluadas presentaron una disminución en el recuento bacteriana total con una diferencia estadísticamente significativa de la fase 1 a la fase 2 y de ésta a la fase 3, se mantuvo el nivel reducido de población de bacterias, con una $p < 0,0001$. Las pruebas estadísticas aplicadas fueron la de “t” de Student y la de Tukey–Kramer.

Tabla VI. Resultados de la recuento bacteriana total promedio, en 18 pacientes con gingivitis y 17 individuos con periodontitis crónica moderada; obtenidos respectivamente, durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Diferencia intragrupo e intergrupo así como el valor de $p <$.

PATOLOGÍA / FASE	RECuento BACTERIANA TOTAL PROMEDIO DURANTE LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO (UFC / mL x 10 ³)			VALOR DE p <
	1	2	3	
Gingivitis	353,16 ± 0,11	88,72 ± 0,07	35,61 ± 0,02	< 0,0001
Periodontitis	318,23 ± 0,13	142,00 ± 0,09	58,17 ± 0,05	< 0,0001
P α 0,05	0,02354	0,02351	0,02351	

Resultados

Diferencia de el Recuento Total de Unidades Formadoras de Colonias Intragrupo e Intergrupo.

La tabla VII presenta las diferencias intragrupo e intergrupo de las patologías gingivitis y periodontitis, respectivamente, así como el valor de $p <$, de los resultados de las UFC por mL obtenidos para las ocho especies bacterianas, con los grupos de pacientes de las dos patologías, durante las tres fases del estudio. Al aplicarse el test de Pearson ($p \alpha = 0,05$) para grupos independientes, todas las especies de bacterias analizadas resultaron dependientes, a excepción de *Tannerella forsythia* en la primera fase, *Actinomyces sp.* en la segunda fase; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *T.forsythia*, *F.nucleatum* y *Actinomyces sp.* en la tercera fase; donde el Test dio una dependencia entre los dos grupos, *P. micra* en la primera fase y *P.intermedia* en la segunda fase fueron independientes estadísticamente pero no concluyentes como marcadores microbiológicos, por lo que hay que reafirmar los datos.

Para *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *F. nucleatum* y *P.micra*, los datos obtenidos mostraron recuentos promedio mayores en los sujetos con periodontitis crónica moderada que en los de gingivitis.

Prevalencia de especies bacterianas en Gingivitis y Periodontitis

Las gráficas 8 y 8", muestran que en la mayoría de los casos, la prevalencia de las bacterias tuvo un descenso de la fase 1 a la fase 3, tanto en gingivitis como en periodontitis; sin embargo, para ciertas especies se observó un incremento en la fase 3 con relación a la fase 1. Así, para el grupo de pacientes con gingivitis las especies en las que aumentó la proporción de bacterias fueron: *P.gingivalis*, *P.micra*, *C.rectus* y *Actinomyces sp*; de igual forma, en los pacientes con periodontitis el incremento se observó con las especies: *P.micra* y *C. rectus*.

Resultados

Tabla VII. Unidades formadoras de colonias por especie, obtenidas durante las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico, en 18 individuos con gingivitis 17 individuos con periodontitis.

GINGIVITIS/ PERIODONTITIS Fase / Especie bacteriana	UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS DURANTE LAS TRES FASES DEL TRATAMIENTO (UFC / mL x 10 ³)			VALOR DE p <
	1	2	3	
<i>Pg</i>	283,33 ± 266,23	611,0 ± 119,5	555,56 ± 175,41	> 0,0011
	664,70 ± 757,41	223,52 ± 420,60	141,17 ± 234,67	> 0,0100
P α 0.05	0,5436	0,1048	0,3503	
<i>Pi</i>	500,00 ± 104,31	111,11 ± 0,323	222,22 ± 548,32	> 0,2439
	174,11 ± 262,46	447,06 ± 100,19	235,29 ± 0,97	> 28,5
P α 0.05	0,9986	0,0685	0,8995	
<i>Tf</i>	111,11 ± 171,11	0,00 ± 0,00	111,11 ± 471,40	> 0,0033
	705,88 ± 168,88	294,11 ± 985,18	0,00 ± 0,00	> 0,1971
P α 0.05	0,0184	0,00	0,00	
<i>Fn</i>	350,0 ± 297,39	150,0 ± 194,85	100,67 ± 190,82	> 0,0054
	982,53 ± 642,91	194,18 ± 213,14	211,65 ± 161,64	> 0,0010
P α 0.05	0,3425	0,2242	0,011	
<i>Pm</i>	183,33 ± 212,32	138,89 ± 232,83	216,67 ± 277,64	> 0,6295
	217,47 ± 283,62	223,29 ± 167,15	252,41 ± 267,02	> 0,9038
P α 0.05	0,0743	0,7942	0,9898	
<i>Cr</i>	555,56 ± 783,82	333,33 ± 766,96	722,22 ± 184,89	> 0,6416
	264,70 ± 492,40	105,90 ± 248,70	824,00 ± 255,50	> 0,1111
P α 0.05	0,2465	0,7619	0,6712	
<i>Aa</i>	183,33 ± 200,34	388,89 ± 103,90	0,00 ± 0,00	> 0,0002
	147,59 ± 200,67	764,71 ± 139,26	58,82 ± 24,25	> 0,0204
P α 0.05	0,5436	0,9609	0,00	
<i>Ac sp</i>	444,44 ± 222,75	133,33 ± 244,49	600,00 ± 108,98	> 0,3990
	423,29 ± 347,64	647,06 ± 122,74	105,82 ± 210,66	> 0,0001
P α 0.05	0,7754	0,0016	0,0177	

Pg = *P.gingivalis*; *Pi* = *Prevotella intermedia*; *Tf* = *Tannerella forsythia*;
Fn = *Fusobacterium nucleatum*; *Pm* = *Parvimonas micra*; *Cr* = *Campylobacter rectus*;
Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; *Ac sp* = *Actinomyces sp.*

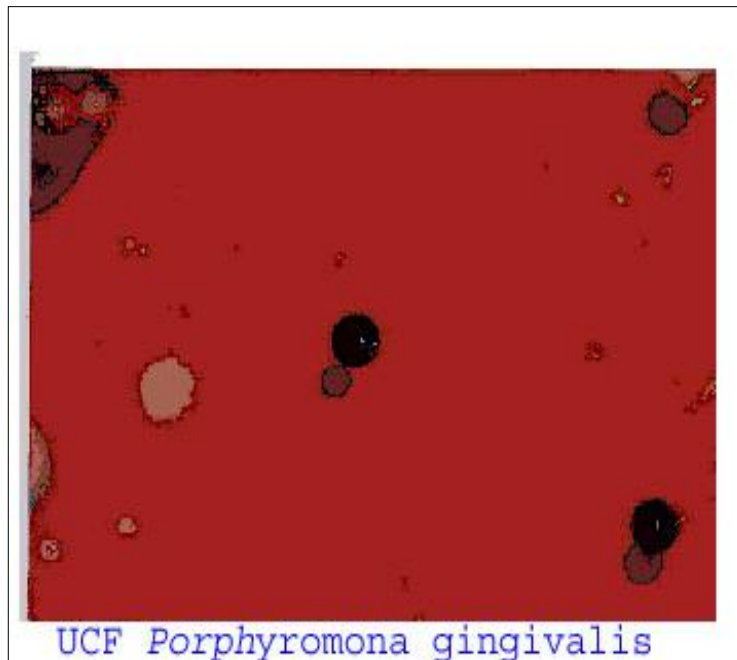
Resultados

Porcentaje de pacientes con Gingivitis y Periodontitis y la presencia de las especies bacterianas estudiadas.

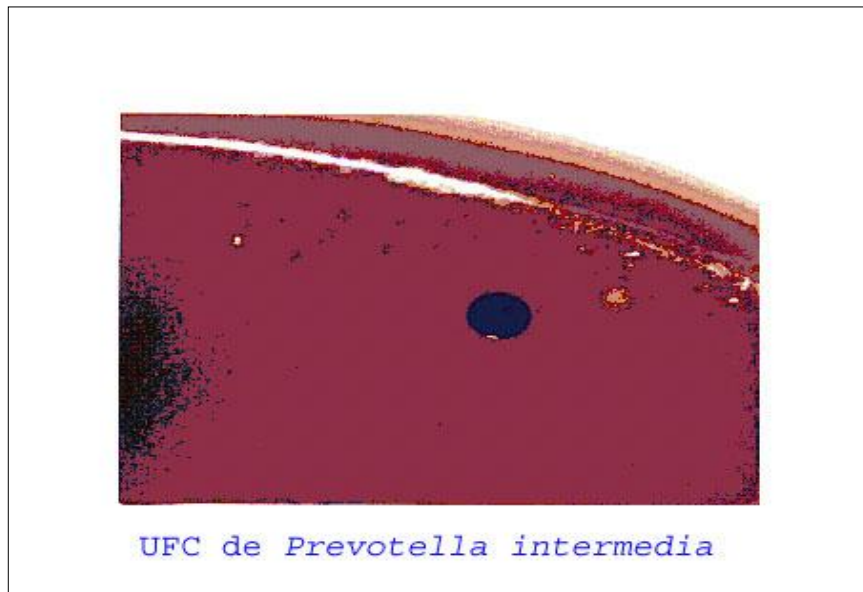
En las gráficas 9 y 9'' se muestra sobre el total de pacientes, tanto del grupo con gingivitis, como el de periodontitis, el porcentaje de individuos que tuvieron en cada grupo, la presencia de cada una de las ocho especies de bacterias durante las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico.

La fotografía 1 muestra una UFC de la bacteria *P.gingivalis* y la fotografía 2 expone una UFC de la bacteria *P.intermedia* identificada en los sujetos de estudio de esta investigación.

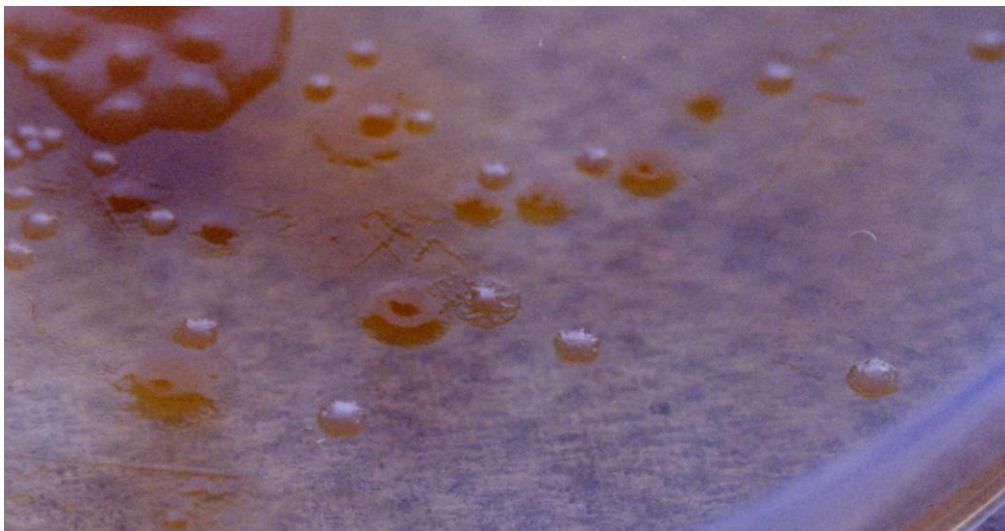
La fotografía 3 muestra una UFC de la bacteria *P.gingivalis* identificada en los sujetos de estudio de esta investigación.



Fotografía 1. Imagen de la UFC de la bacteria *P.gingivalis*



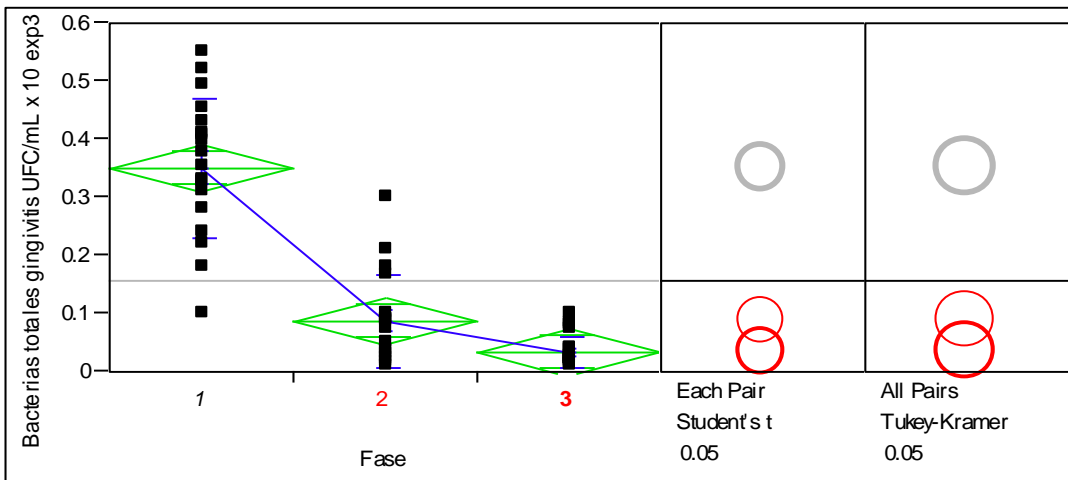
Fotografía 2. Imagen de la UFC de la bacteria *P. intermedia*.



Fotografía 3. Imagen de la UFC de la bacteria *A.actinomycetemcomitans*

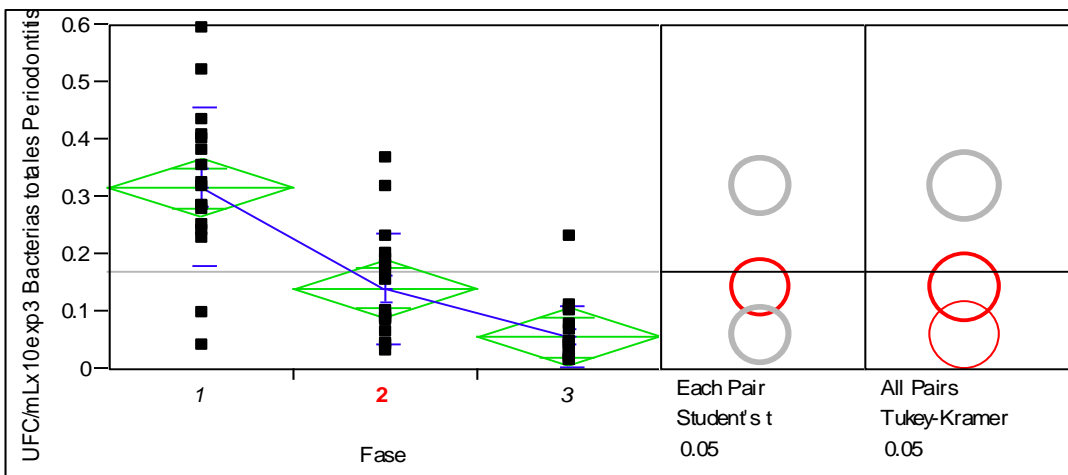
Resultados

BACTERIAS TOTALES EN PACIENTES CON GINGIVITIS (UFC/ mL x10³)

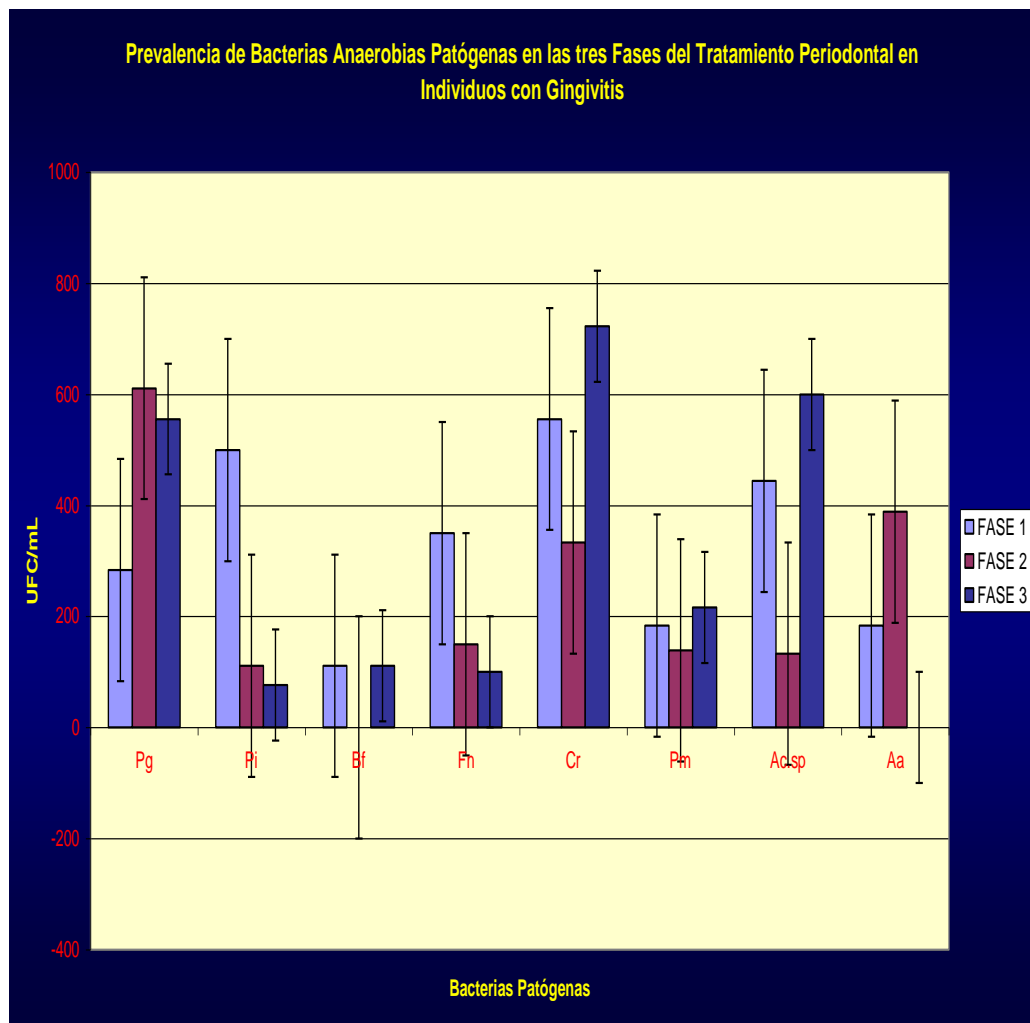


Gráfica 7. Esquema de diamantes con los resultados estadísticos de la recuento bacteriana total promedio de 8 especies bacterianas en muestras tomadas de 18 sujetos con gingivitis; obtenidas en las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico.

BACTERIAS TOTALES EN PACIENTES CON PERIODONTITIS (UFC/ mL x10³)

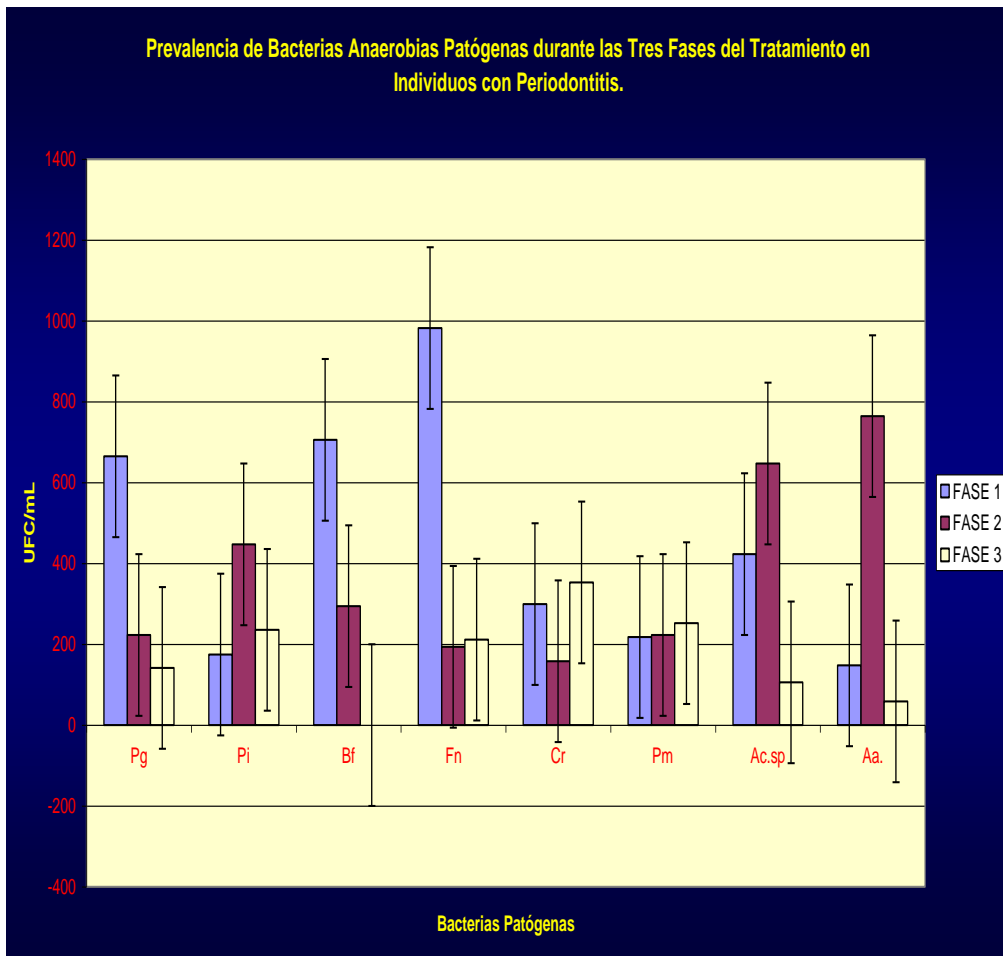


Gráfica 7". Esquema de diamantes con los resultados estadísticos de la recuento bacteriana total promedio de 8 especies bacterianas en muestras tomadas de 17 pacientes con periodontitis crónica moderada; obtenidas en las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico.



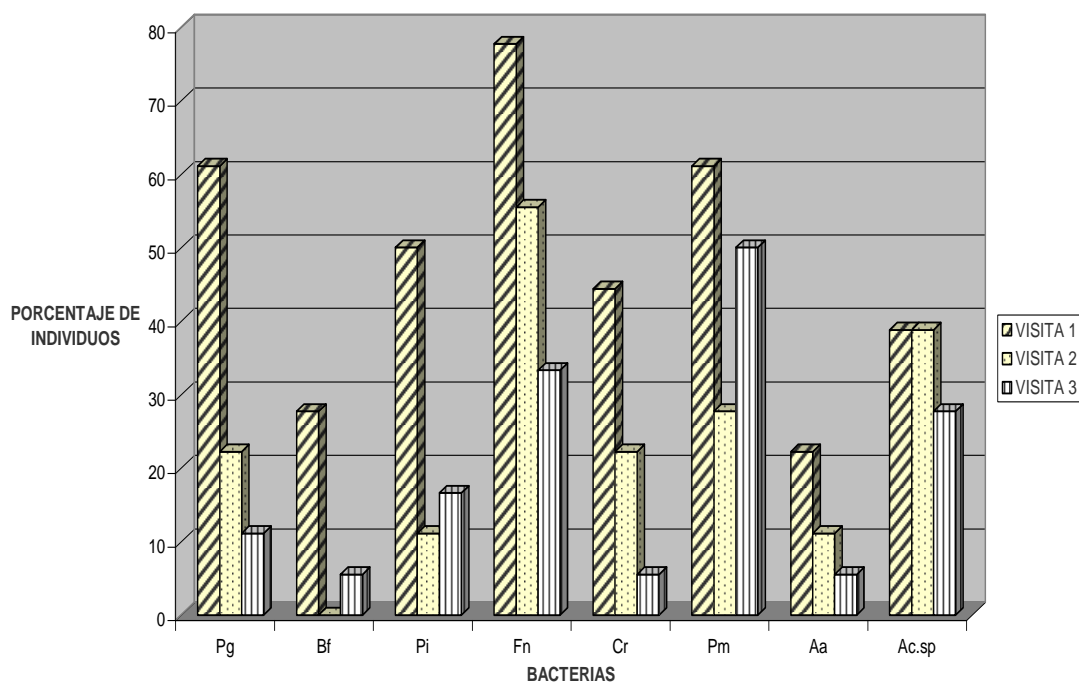
Gráfica 8. Evolución de la prevalencia promedio de UFC/mL de ocho especies de bacterias en los pacientes con gingivitis, durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Las líneas muestran el valor de desviación estándar. Las siglas corresponden a: Pg = *P.gingivalis*; Pi = *P.intermedia*; Tf = *T. forsythia*; Fn = *F.nucleatum*; Pm = *P.micra*; Cr = *C.rectus*; Aa= *A. actinomycetemcomitans*; Ac sp = *Actinomyces sp.*

Resultados



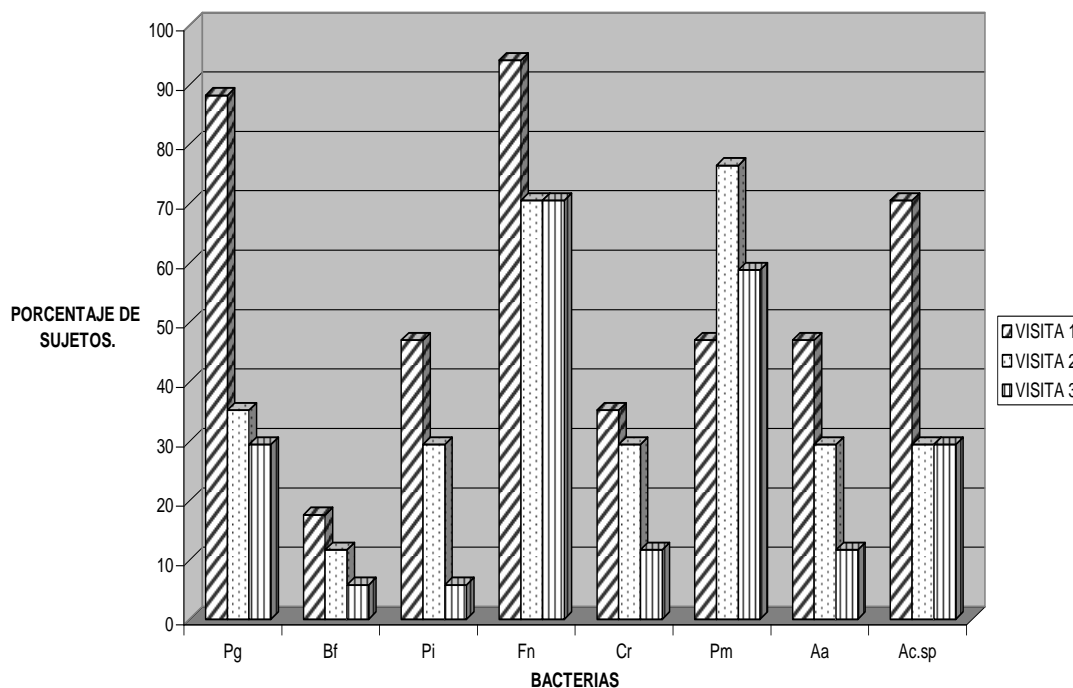
Gráfica 8". Evolución de la prevalencia promedio de UFC/mL de ocho especies de bacterias en los pacientes con periodontitis, durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Las líneas muestran el valor de desviación estándar. Las siglas corresponden a: Pg = *P.gingivalis*; Pi = *P.intermedia*; Tf = *T.forsythia*; Fn = *F.nucleatum*; Pm = *P.micra*; Cr = *C.rectus*; Aa = *A.actinomycetemcomitans*; Ac sp = *Actinomyces sp.*

PORCENTAJE DE SUJETOS CON GINGIVITIS Y LA PRESENCIA DE BACTERIAS PERIODONTOPATÓGENAS EN EL TRATAMIENTO PERIODONTAL NO QUIRÚRGICO.



Gráfica 9. Porcentaje de individuos con gingivitis que tuvieron la presencia de cada una de las ocho especies de bacterias durante las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Las siglas corresponden a: *Pg* = *P.gingivalis*; *Pi* = *P. intermedia*; *Tf* = *T. forsythia*; *Fn* = *F.nucleatum*; *Pm* = *P.micra*; *Cr* = *C. rectus*; *Aa* = *A.actinomycetemcomitans*; *Ac sp* = *Actinomyces sp.*

PORCENTAJE DE SUJETOS CON PERIODONTITIS PRESENCIA DE BACTERIAS PERIODONTOPATÓGENAS EN EL TRATAMIENTO PERIODONTAL NO QUIRÚRGICO.



Gráfica 9". Porcentaje de individuos con periodontitis crónica que tuvieron la presencia de cada una de las ocho especies de bacterias durante las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico.. Las siglas corresponden a: Pg = *P.gingivalis*; Pi = *P. intermedia*; Tf = *T.forsythia*; Fn = *F. nucleatum*; Pm=*P.micra*; Cr=*C.rectus*; Aa = *A.actinomycetemcomitans*; Ac sp =*Actinomyces sp.*

VARIABLES DE RESPUESTA BIOQUÍMICAS

Cuantificación de volumen de Fluido Gingival Crevicular (FGC).

En la tabla VIII y las gráficas 10 y 10" se observan los resultados de volumen promedio de fluido gingival crevicular en μL , obtenidos de 18 pacientes con gingivitis y 17 con periodontitis crónica moderada por fase del tratamiento periodontal.

Resultados

El promedio de volumen de FGC fue mayor en los pacientes con periodontitis, que en el grupo con gingivitis.

Los valores obtenidos revelaron que la diferencia intragrupal en el volumen del FGC de la primera fase (1), a la fase de mantenimiento (3), tuvo una reducción estadísticamente significativa con una $p < 0,0001$ en la gingivitis y de $p < 0,0005$, en la periodontitis, mientras que la diferencia intergrupala con una $p \alpha 0,05$ mostró una independencia de gingivitis frente a periodontitis; siendo evidente que el tratamiento periodontal no quirúrgico tuvo mayor efecto sobre la reducción del volumen del FGC en los pacientes con periodontitis que en los de gingivitis.

Tabla VIII. Volumen promedio de fluido gingival crevicular (FGC) obtenido de 18 pacientes con gingivitis y 17 individuos con periodontitis crónica moderada; durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Diferencias intragrupos e intergrupos así como el valor de $p <$.

PATOLOGÍA / FASE	VOLUMEN PROMEDIO DE FGC (μ L)			VALOR DE $p <$
	1	2	3	
Gingivitis	0,53 \pm 0,22	0,33 \pm 0,16	0,31 \pm 0,11	< 0,0001
Periodontitis	0,81 \pm 0,33	0,52 \pm 0,24	0,36 \pm 0,16	< 0,0005
$P \alpha 0,05$	0,02620	0,02415	0,02846	

Resultados

Cuantificación de la Concentración en picogramos por microlitro (pg/μL) de IL-1β

En la tabla IX y las gráficas 11 y 11'' se observa que hubo una disminución en el valor promedio de la concentración en picogramos por mililitro (pg/μL) de IL-1β obtenido por patología, en los 18 pacientes con gingivitis y 17 con periodontitis crónica moderada por fase del tratamiento periodontal. Esta reducción si bien fue mayor entre la fase 1 y la 3 en el grupo de pacientes con periodontitis, en ambos grupos de pacientes la disminución no fue significativa con una $p < 0,0013$, para el grupo de periodontitis y $p > 0,1726$, para el grupo con gingivitis.

La diferencia intergrupala de gingivitis frente a periodontitis con una $p \alpha 0,05$ mostró una independencia entre ambas patologías.

Los datos fueron el resultado de aplicar, para el volumen, la ecuación C a los valores de capacitancia del Periotron® obtenidas con las tiras de papel impregnadas de FGC de cada paciente de ambos grupos (gingivitis y periodontitis), y con la ecuación D se obtuvo finalmente la concentración de IL-1β en pg/μL para cada paciente. (Ver AnexoVII).

Tabla IX. Concentración promedio en pg por mL de IL-1β, presente en el fluido gingival crevicular (FGC), obtenido de 18 pacientes con gingivitis y 17 con periodontitis; durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Diferencia intragrupo e intergrupo así como el valor de $p <$.

PATOLOGÍA / FASE	CONCENTRACIÓN PROMEDIO DE IL-1β (pg//mL)			VALOR DE $p <$
	1	2	3	
Gingivitis	0,224 ± 0,36	0,177 ± 0,21	0,073 ± 0,08	> 0,1726
Periodontitis	0,256 ± 0,15	0,212 ± 0,14	0,084 ± 0,098	> 0,0013
$P \alpha 0,05$	0,02415	0,02415	0,02415	

Resultados

Cuantificación de los picogramos Totales de IL-1 β

En la tabla X y la gráfica 12 Y 12” se muestra para cada grupo de pacientes, los picogramos totales por fase de tratamiento; habiendo sido mayor la cantidad en los pacientes con periodontitis que en los de gingivitis. Para el grupo con gingivitis se obtuvo una de $p > 0.0666$; y para el de periodontitis fue de $p < 0.0005$; de modo que la diferencia en contenido total promedio de IL-1 β entre la primera fase y la última del tratamiento periodontal no quirúrgico sólo fue significativa para el grupo con periodontitis al haber aplicado las pruebas de “t” de Student y de Tukey-Kramer.

La diferencia intergrupo obtenida con la aplicación de la prueba de Pearson con una $p \alpha 0,05$ entre gingivitis y periodontitis en las tres fases del tratamiento mostró una independencia de gingivitis frente a periodontitis.

Tabla X. Valores de picogramos totales de IL-1 β , obtenido de 18 pacientes con gingivitis y 17 con periodontitis; durante las tres fases de tratamiento periodontal no quirúrgico. Diferencias intragrupo e intergrupo así como el valor de $p <$.

PATOLOGÍA / FASE	PICOGRAMOS TOTALES PROMEDIO DE IL-1 β (pg)			VALOR DE $p <$
	1	2	3	
Gingivitis	0,112 \pm 0,16	0,053 \pm 0,06	0,033 \pm 0,03	> 0,0666
Periodontitis	0,247 \pm 0,18	0,180 \pm 0,17	0,034 \pm 0,05	< 0,0005
$P \alpha 0,05$	0,02415	0,02415	0,02415	

Resultados

VOLUMEN PROMEDIO EN μL DE FGC OBTENIDO EN PACIENTES CON GINGIVITIS

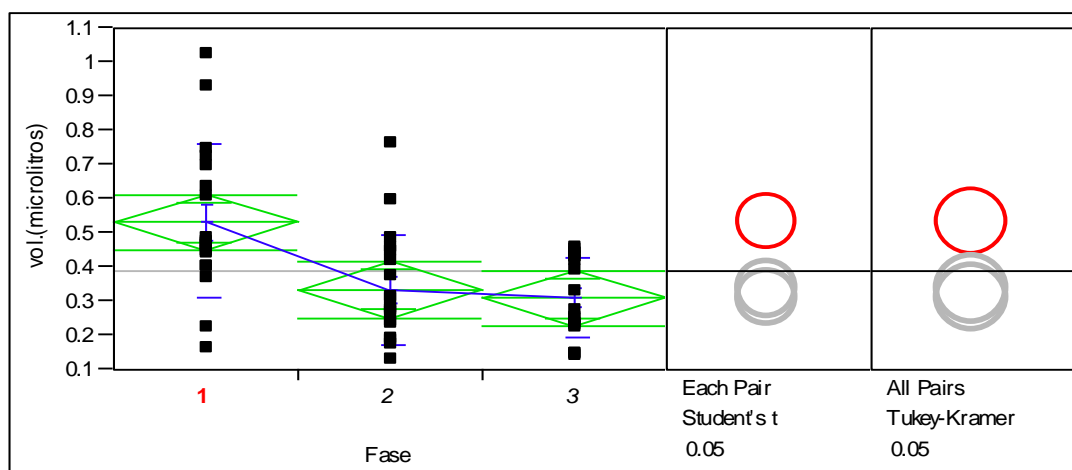


Gráfico 10. Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos del volumen promedio en μL , de fluido gingival crevicular (FGC) obtenido de 18 sujetos con gingivitis; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

VOLUMEN PROMEDIO EN μL DE FGC OBTENIDO EN PACIENTES CON PERIODONTITIS

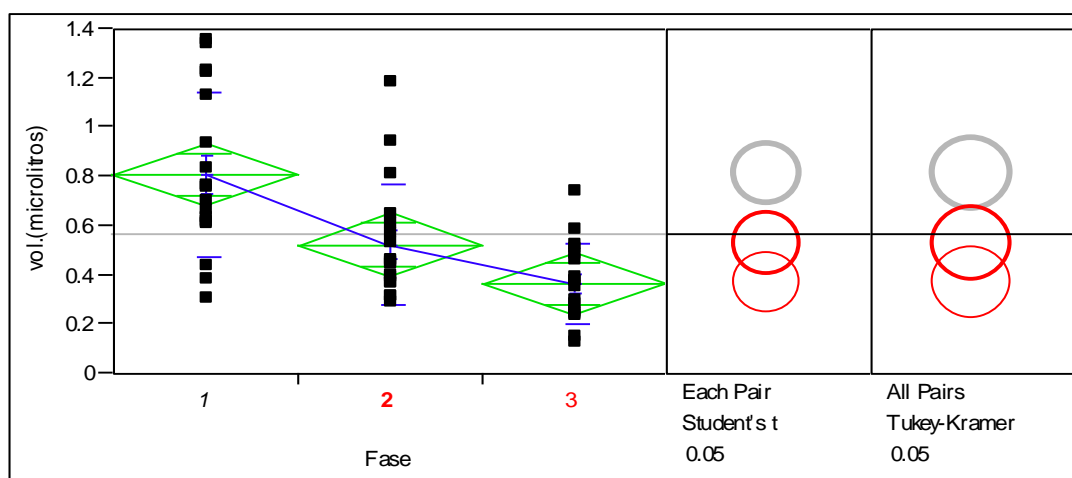
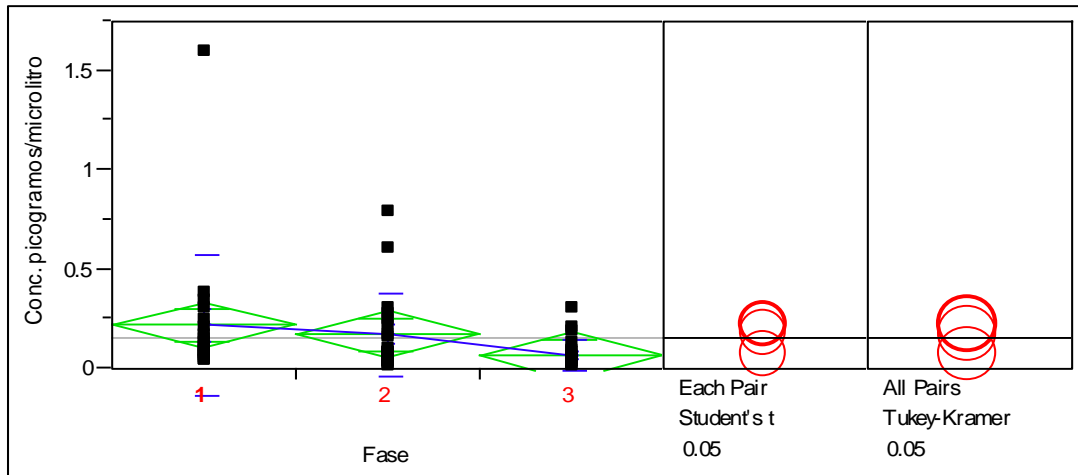


Gráfico 10'’. Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos del volumen promedio en μL , de fluido gingival crevicular (FGC) obtenido de 17 sujetos con periodontitis crónica moderada; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

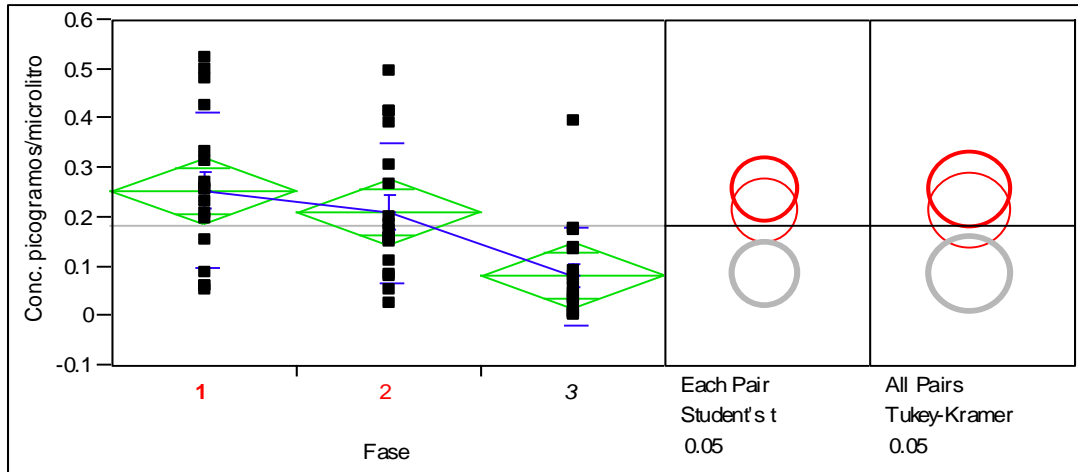
Resultados

CONCENTRACIÓN DE pg/mL DE IL-1 β EN GINGIVITIS



Gráfica 11. Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos de concentración de IL-1 β en pg/mL, obtenidos de 18 pacientes con gingivitis; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

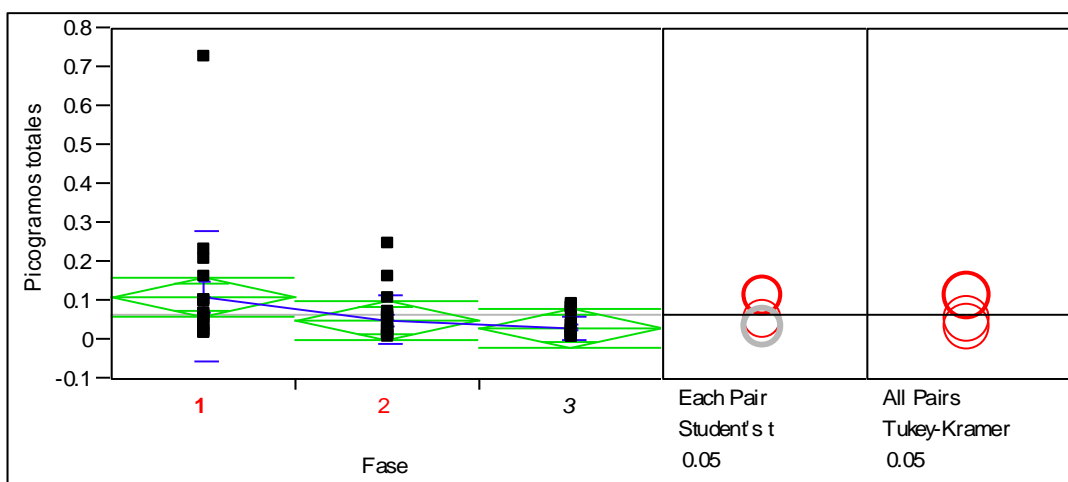
CONCENTRACIÓN DE pg/mL DE IL-1 β EN PERIODONTITIS



Gráfica 11'’. Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos de concentración de IL-1 β en pg/mL, obtenidos de 17 sujetos con periodontitis crónica moderada; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

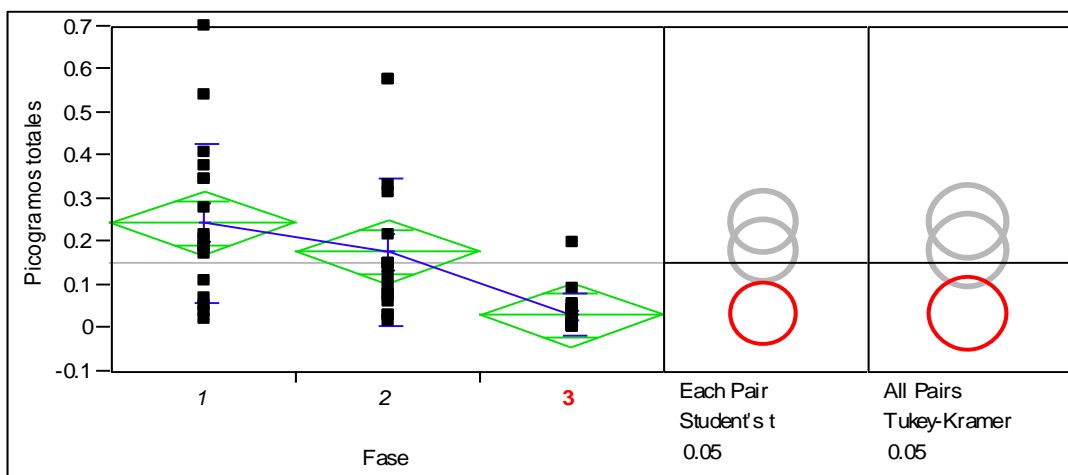
Resultados

PICOGRAMOS PROMEDIO TOTALES DE IL-1 β EN GINGIVITIS



Gráfica 12. Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos de la cantidad total promedio en pg de IL-1 β , obtenida en el grupo de 18 sujetos con gingivitis; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

PICOGRAMOS PROMEDIO TOTALES DE IL-1 β EN PERIODONTITIS



Gráfica 12". Esquema de diamantes (verde) con los resultados estadísticos de la cantidad total promedio en pg de IL-1 β , obtenida en el grupo de 17 sujetos con periodontitis crónica moderada; en las tres fases del tratamiento periodontal no quirúrgico. Los 3 círculos de la derecha representan los resultados estadísticos de dicha variable en cada fase del tratamiento, con las pruebas de “t” de student y de Tukey-Kramer. La superposición de círculos, indica las fases del tratamiento con las que no existe diferencia significativa.

Resultados

Las pruebas para las variables de respuesta clínica microbiológicas y bioquímica, así como los datos experimentales muestran homocedasticidad, pero las desviaciones estándar se muestran altas respecto a la media debido a la respuesta del individuo al tratamiento.

Resultados

DISCUSIÓN

Discusión

DISCUSIÓN

A) FACTORES ETIOLÓGICOS

Para entender la importancia de la microflora en las enfermedades periodontales, es necesario saber que la alteración del epitelio permite la penetración de la bacteria o sus productos en el tejido conectivo gingival e induce una respuesta del hospedador; por lo tanto, la inflamación presente en la encía representa una respuesta altamente eficiente del hospedador hacia la bacteria que coloniza el diente. (Assuma 1998)

El mecanismo de enfermedad periodontal involucra un efecto de campo donde la penetración de la bacteria en la encía se controla por las células inflamatorias presentes. La perturbación de este equilibrio puede llevar al exceso de producción mediadores inflamatorios secundarios que promueven el reclutamiento de células cercanas al hueso, la formación de osteoclastos y la pérdida de hueso. Por esta razón es importante conocer a los principales microorganismos presentes en la biopelícula, ya que la expresión clínica de las enfermedades periodontales (grado y severidad) depende de cómo el hospedador responde a la invasión, la colonización y a los mecanismos de resistencia del patógeno. (Socransky 1992)

La evaluación de los factores etiológicos en el presente estudio, se realizó mediante el análisis de la prevalencia de bacterias anaerobias patógenas periodontales en la biopelícula subgingival, por la cuantificación del porcentaje de sitios colonizados y la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) totales. Con esta metodología se llegó a detectar el nivel de colonización de especies por individuo, así como por la identificación bacteriana durante la terapia periodontal no quirúrgica en el grupo de pacientes con gingivitis y periodontitis.

El análisis del índice de placa y el recuento bacteriana total demostraron que con este tratamiento en las dos entidades patológicas, en las tres fases de estudio, la carga bacteriana total expresada en UFC/mL fue siempre más alta al inicio del

Discusión

estudio en el grupo de gingivitis que en el de periodontitis, por ello se observó que con el tratamiento periodontal convencional la reducción fue mayor en el grupo con gingivitis.

Al contemplarse a la biopelícula supragingival como agente causal de la gingivitis y como el principal reservorio de especies que inician la periodontitis, una eliminación meticulosa de la placa supragingival y un control apropiado de la higiene oral ayudó a evitar la colonización o reinfección de sitios ya tratados periodontalmente.

En nuestro estudio se logró la disminución de las proporciones de bacterias y de UFC totales; sin embargo, al haber sido eliminada la biopelícula subgingival ya existente con el raspado y alisado radicular, se contribuyó a disminuir las especies patógenas anaerobias como el *Actinomyces sp*, más no a eliminarlas. Estos microorganismos se han descrito como los de mayor presencia y mayor proporción en la biopelícula bacteriana asociada a gingivitis (Noguerol 2002).

El *A.actinomycescomitans* y la *P. gingivalis* son bacterias cuyo hábitat es en la biopelícula subgingival, no obstante en la película supragingival o fuera de la cavidad oral no se encuentran, por lo que no se consideran un factor etiológico en la gingivitis; sin embargo su presencia en un número elevado se asocia con periodontitis del adulto y agresiva. Para su eliminación se ha observado que las terapias que logren la eliminación o disminución de estas bacterias en los nichos subgingivales lograrán con éxito el tratamiento periodontal (López 2005).

Es notorio que en este trabajo se observó la persistencia de *P.gingivalis* en gingivitis y de *P. intermedia* en periodontitis, así como la de *C.rectus*, con una proporción semejante tanto en gingivitis como en periodontitis crónica moderada después de 12 meses, es decir, en la fase de mantenimiento. Lo anterior señala la incapacidad del sistema inmunológico de algunos individuos para eliminar a estos patógenos, ya que las dos primeras especies duplicaron su proporción y la tercera la triplicó (estos datos se pueden observar en la tabla VII).

Dicho resultado obedece ya sea porque existe cierto estado de inmunodeficiencia por parte de los pacientes o bien, por la interferencia de los mecanismos de resistencia del hospedador como parte de los mecanismos de evasión de la respuesta inmunitaria por estas bacterias, lo que implica una alteración de la

Discusión

respuesta del hospedador o bien por un exceso de los factores de virulencia de estos patógenos, lo que compromete su persistencia.

Un hallazgo importante es que aun cuando a los seis meses del inicio del tratamiento se detectó un aumento de *A.actinomycetemcomitans* en los pacientes de ambos grupos, se logró su control a los doce meses en la fase de mantenimiento, pese a que este microorganismo tiene gran capacidad en la modulación de la respuesta inmune del hospedador y además se le ha adjudicado actividad inmunosupresora. (Slots 1984).

La identificación de las ocho bacterias patógenas halladas en la fase inicial del tratamiento, se presentaron tanto en gingivitis como en periodontitis, pero con una independencia estadística ($p \alpha = 0,05$) intergrupar, en donde la mayor proporción de especies de *P.intermedia*, *C.rectus*, *A.actinomycetemcomitans* y *Actinomyces sp* fue para gingivitis y de *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *F.nucleatum* para periodontitis; siendo estos datos semejantes a los de otros investigadores. (Socransky 1994, Hafajee 1994, Nisengard 1998, Ximénez-Fyvie 2000a, Ximénez-Fyvie 2000b, Liébana 2002)

Es importante notar que por el análisis intergrupar entre las patologías de gingivitis y periodontitis a los 12 meses de post-tratamiento, las bacterias *A.actinomycetemcomitans*, *T.forsythia*, *F.nucleatum* y *Actinomyces sp* mantienen una in

dependencia entre ambas patologías mientras que *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *C.rectus* y *P.micra* son dependientes (ver tabla VII).

La reducción de la cuenta bacteriana de UFC para *P.intermedia*, , *F.nucleatum* y *A.actinomycetemcomitans* en gingivitis y de *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *F.nucleatum*, *A.actinomycetemcomitans* y *Actinomyces. sp* en periodontitis, durante la fase de mantenimiento a los 12 meses post tratamiento, demostró que el tratamiento periodontal no quirúrgico resultó efectivo no sólo en la disminución de los factores etiológicos, sino en la reducción de la profundidad de la bolsa y de los niveles de inserción. Sin embargo, se debe considerar que el reestablecimiento de las especies periodontopatógenas es inmediato al no tener mantenimiento en el control de la biopelícula subgingival. Y si bien es cierto que el tratamiento logró una disminución en la prevalencia de las bacterias identificadas, éstas no fueron erradicadas, para lo

Discusión

cual se podría proponer la administración de antimicrobianos con liberación local o sistémica según lo establece Loesche (1996) y Haffajee (1997a).

El único estudio comparativo previo al presente, sobre la microflora en sujetos mexicanos con periodontitis crónica se publicó en 2005, (Almaguer 2005) en el cual se demuestra que las principales bacterias patógenas anaerobias periodontales encontradas fueron *P.intermedia*, *P.gingivalis*, *F.periodonticum*, *F.nucleatum*, y *P.micra*; en contraste, con nuestro estudio las bacterias más frecuentes fueron: *P.gingivalis*, *T.forsythia*, *F.nucleatum*, y *Actinomyes. sp*; así pues, la explicación de estas diferencias se puede deber a que probablemente las técnicas para la identificación bacteriana fueron distintas, ya en el informe de Ximenez-Fyve se realizó por técnicas de Biología molecular (sondas de hibridación DNA-DNA) y en el nuestro se purificaron en condiciones de anaerobiosis e identificaron las bacterias periodontopatógenas por pruebas metabólicas.

B) FACTORES DEL HOSPEDADOR

Las bacterias periodontopatógenas son ubicuas en la cavidad oral y en muchos individuos la infección y patología están limitadas y no existen. De aquí la importancia de la respuesta del hospedador como determinantes potenciales de susceptibilidad. (Van Dyke 2007)

Existen muchas evidencias clínicas y experimentales en donde la periodontitis no es una infección bacteriana convencional (como se considera a la gingivitis), sino que es una enfermedad inflamatoria disparada por la respuesta inmune del hospedador hacia la infección polimicrobiana de la biopelícula asociada. (Xiaoze 2007). Ante esta agresión, el hospedador reacciona a los microorganismos produciendo citoquinas, eicosanoides, activadores del complemento y metaloproteinasas, entre otras sustancias. Algunos de estos mediadores participan en la destrucción del ligamento periodontal y del hueso alveolar.

La respuesta inflamatoria está regulada por modificadores genéticos y ambientales. Las bacterias son esenciales pero no suficientes para causar periodontitis, y son los factores del hospedador, como la herencia y el ambiente, al igual que el tabaquismo, la obesidad y la diabetes, entre otros, los determinantes de la presencia de las enfermedades periodontales y su severidad. (Ishikawa 2007).

Por lo tanto, el equilibrio o el desequilibrio entre la biopelícula y el proceso inflamatorio es lo que determina la severidad de la lesión en la periodontitis.

Para evaluar la capacidad de resistencia del hospedador es necesario conocer el microambiente en donde se desarrolla esta respuesta, el cual es el surco gingival, que constituye un microsistema capaz de albergar múltiples géneros bacterianos, casi todos son anaerobios estrictos y facultativos, lo cual a su vez es debido a su bajo potencial redox, a la baja oxigenación y a la gran cantidad de nutrientes para las bacterias, pese a que posee el líquido gingival crevicular (FGC), que es sangre filtrada a través del epitelio de inserción.

El FGC posee enzimas, anticuerpos, factores de complemento, interleuquinas y otros factores antibacterianos. Los niveles de estos factores aumentan en cantidad según la medida de la inflamación gingivo-periodontal y su profundidad es un signo inequívoco de estas enfermedades (Falotico 2006). Por lo tanto, el FGC se convierte en un medio ideal de monitoreo de los cambios ocurridos durante el proceso de salud-enfermedad periodontal.

Dicho líquido puede ser transudado (en condiciones basales de normalidad) o exudado (en el proceso inflamatorio). El valor del FGC como fuente de biomarcadores radica en el hecho que es un fluido obtenido del flujo de la filtración capilar de los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y de los epitelios de unión y el surcular. Este hecho hace que el FGC pueda tener mediadores bioquímicos y/o productos metabólicos, específicamente el contenido de proteínas plasmáticas, enzimas bacterianas y mediadores inflamatorios, así como también productos de degradación de la matriz de colágena y extracelular que pueden convertirse en ayuda diagnóstica temprana aplicable en la práctica clínica.

Se han encontrado más de 40 componentes en el FGC, que se han clasificado de la siguiente manera: a) Mediadores bioquímicos y productos de la inflamación (citocinas, quimiocinas, anticuerpos), b) enzimas derivadas del hospedador (colagenasa, elastasa de neutrófilo, catepsinas, fosfatasa alcalina, α -glucuronidasa, arilsulfatasa y aspartato-aminotransferasa) y c) componentes de matriz extracelular (condroitin-sulfato). (Arce 2004)

Por lo tanto, la determinación del volumen del FGC y las citoquinas proinflamatorias son útiles para evaluar el desarrollo y/o control del proceso inflamatorio. Así mismo, las citoquinas son útiles para predecir y asociar con la pérdida de inserción progresiva, como lo es la IL-1 liberada por macrófagos,

Discusión

polimorfonucleares, linfocitos y fibroblastos gingivales. A esta molécula se le involucra con procesos inflamatorios, destrucción de matriz y cicatrización, además de que hay una fuerte relación con el proceso de resorción ósea, que sugiere estadios destructivos de la enfermedad. (Eley 1998) Así, la IL-1 es la principal citoquina proinflamatoria que se produce en la encía asociada con la periodontitis (Tokoro 1996).

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la presencia del volumen del FGC correlaciona con el proceso inflamatorio característico de la gingivitis. (Kinane 1992, González 2001) Así mismo, se observó una correlación de este volumen con los niveles de la IL-1 asociados con este proceso en la periodontitis. (Hou 1994, Tsai 1995, Figueredo 1999, Yoshinari 2004, Castrillón 2007) (Ver tabla VIII).

Muchos estudios han demostrado la asociación de la IL-1 con la severidad de la enfermedad periodontal; (Wilton 92, Hou 94, Liu 96, Lerner 98, Mogi 99, Gorska 2003, Goutodi 2004, Orozco 2006) sin embargo, es importante para el clínico saber si el paciente está perdiendo periodonto de forma progresiva o su enfermedad se encuentra en un periodo de estabilidad. Por esta razón se ha propuesto a la IL-1 como marcador de actividad en la enfermedad periodontal, en donde se ha demostrado positivamente este hecho. (Yavuzylimaz 1995, Lee 1995, Hou 1995, Ishibara 1997, Gamonal 2000, Suwatanapondched 2000, Gorska 2003, Castrillón 2007) Esto puede explicarse a la vez por la actividad destructiva (resortiva) hacia el hueso alveolar asociado con esta citoquina. (Liu 1996, Lerner 1998, Rasmussen 2000, Holmlund 2004).

La determinación de IL-1 en los pacientes del presente estudio demostró una disminución en su concentración en el FGC y si bien esta reducción fue mayor entre la fase 1 y 3 en ambos grupos de pacientes, no fue estadísticamente significativa. La diferencia inter-grupal entre ambos grupos fue independiente, lo que sugiere que los parámetros clínicos deben ser consecuencia de la reducción de la IL-1.

Los resultados obtenidos para la cantidad total expresada en picogramos (pg) de esta citoquina, si presentó diferencia significativa intra-grupal en los pacientes con periodontitis, no así para el grupo de pacientes con gingivitis, lo cual posiblemente sea explicado por el hecho de que durante el tratamiento periodontal no quirúrgico, en el proceso de curación los sitios inflamados producen una elevación de este marcador como reflejo del trauma tisular y por el retraso de la curación. (Reinhardt

Discusión

1993, Yoshinari 2004) Sin embargo, si se observó una diferencia inter-grupal que pudiera ser asociada a diferentes factores modificadores, como los ambientales.

La respuesta positiva que al final del estudio se obtuvo con las variables clínicas en ambos grupos de pacientes y la reducción (aunque no significativa en gingivitis) de los pg totales de IL-1, obtenidos a los 12 meses post-tratamiento (fase 3), coincide con los informes de Alexander (1996) y Yoshinari (2004). No obstante lo anterior, ciertos pacientes aumentan los niveles de esta citoquina en la fase 2 del tratamiento, que posiblemente pueden ser explicados por la respuesta individual apoyados por los trabajos de Figueredo (1999), Gamonal (2000) y Bickel (2001) y que actualmente podría ser interesante evaluar el polimorfismo a IL-1 para estos casos (Engebretson 1999).

En presencia de infección gingival o periodontal se encuentran elevados IL-1 e IL-1 receptor antagonista (IL-1Ra) en biopsias y en FGC, por lo tanto son moléculas sugerentes de enfermedad periodontal. (Olorun 2006.) Sin embargo, el aumento de los niveles de IL-1 con la disminución de IL-1Ra correlacionan con la enfermedad periodontal (Rawlinson 2000), Este hallazgo ha permitido proponer que la relación:IL-1 total/IL-Ra como un índice de actividad asociado con la enfermedad periodontal (Ishihara 97) y puede ser un mejor marcador del daño periodontal que la determinación individual de cada marcador inmunológico.

La asociación de la elevación de los niveles de IL-1 con la prevalencia de las especies bacterianas se ha evaluado en estudios de gingivitis experimental (González 2001, Washul 2003,) y en periodontitis refractaria estableciendo la incidencia en la pérdida de inserción con la presencia de *P.gingivalis*, *A.actinomycetemcomitans* (Reinhardt 1993, Liu 1996 y Mogi 1999). En un estudio publicado recientemente por Arila Mansson en 2006 se ha relacionado la presencia de la microbiota con los marcadores inflamatorios, encontrándose una asociación entre *T. forsythia* y *P. gingivales* o de *T. forsythia* y *P. nigrescens* con la promoción en la liberación de mediadores que se asocian con la severidad periodontal.

Con nuestros resultados se ha determinado que las especies de *P.intermedia*, *C.rectus* y *P.micra* en la periodontitis, y *P.gingivalis*, *P.micra* y *C.rectus* en la gingivitis; no fueron eliminadas en la carga bacteriana, lo que puede explicar la producción de FGC y de IL-1 en estos pacientes, y sería interesante en un estudio posterior la búsqueda de posibles asociaciones que expliquen estos resultados.

Por otra parte, se ha demostrado que la eliminación de la placa bacteriana modula la producción de citoquinas *in situ*, lo cual modifica la interacción dinámica entre las citoquinas, su velocidad de producción y concentración que son factores que controlan la inducción, perpetuación y colapso de la red de citoquinas presentes en la enfermedad periodontal (Gamonal 2000).

C) RESPUESTA AL TRATAMIENTO PERIODONTAL

Índice de placa (IP)

El índice de placa bacteriana (IP) depende directamente de los hábitos de higiene del individuo. En este estudio, la variabilidad individual en relación al tratamiento periodontal, determinó de manera importante los resultados obtenidos en cuanto a la disminución en la proporción y la prevalencia de determinadas bacterias patógenas anaerobias facultativas periodontales. De tal forma, la reducción en los valores de estas variables microbiológicas fue acompañada de una mejoría en las variables clínicas estudiadas; habiéndose podido demostrar que, no obstante que dicha variabilidad es dependiente del paciente, hubo un efecto positivo de la terapia periodontal no quirúrgica sobre las variables microbiológicas, clínicas y bioquímicas en los dos grupos de estudio.

Se reconoce la existencia de altos niveles de IP (fase I) como un factor predisponente para el desarrollo de la enfermedad periodontal, ya que una vez que la biopelícula entra en contacto con los tejidos se da inicio a los mecanismos bacterianos y de defensa del hospedador que llegan a causar daño en el periodonto. (Noguerol 2002, Maiotti 1999)

Se obtuvo una disminución en el IP con una diferencia significativa intra-grupal con relación a la fase de inicio (fase 1); para gingivitis y periodontitis, Lo anterior se puede atribuir además de la variabilidad individual, a factores tales como el hecho de que en estos pacientes el nivel de la biopelícula inicial fue alto y que la destreza en el cepillado y el uso de los aditamentos de higiene, así como el cumplimiento del tratamiento en algunos pacientes, fue menor en ambos grupos. La diferencia inter-grupal para ambas patologías fue independiente lo cual se puede atribuir a los factores antes mencionados.

Discusión

Índice Gingival (IG) y sangrado

Se presentó una diferencia significativa intra-grupal para ambos grupos, comprobándose en este caso mediante las pruebas de “t” de Student y de Tukey-Kramer. Mostrándose también una independencia (tabla III) inter-grupal entre ambas patologías. Esto se puede atribuir a que la respuesta obtenida en el IG obedece de manera directa al mismo factor del índice de placa (IP), es decir, están en concordancia con la acción bacteriana, ya que aquel mostró un decremento en los resultados. De tal forma, la inflamación gingival en ambos grupos se redujo de la fase 1 a la 3, desde un valor de 1,8 hasta valores de 0,4 y 0,6 respectivamente, para el grupo de gingivitis y el de periodontitis; habiéndose conseguido así, una mejora en el tejido gingival así como una reducción en el porcentaje de sitios colonizados por bacterias periodontopatógenas, como respuesta directa al tratamiento, que disminuyó la carga bacteriana.

Profundidad de surco

Los datos clínicos de profundidad de surco gingival (PS) para el grupo control y de profundidad de bolsa periodontal (PB) para el grupo experimental, obtenidos en la fase I, permitieron establecer el diagnóstico diferencial de ambos grupos para posteriormente realizar el tratamiento periodontal correspondiente y evaluar el efecto de éste sobre la reducción en los valores de PS y PB, así como en los demás parámetros clínicos interrelacionados con las variables microbiológicas y bioquímicas.

La reducción que se obtuvo en los niveles de PS y de PB para cada grupo con los correspondientes valores de IP e IG obtenidos en las fases 1 a 3, corroboró que el tratamiento periodontal favoreció las condiciones clínicas para la salud del periodonto, coincidiendo con los estudios de Haffajee (1997). Así, en el grupo con gingivitis, se encontró una diferencia estadísticamente significativa intra-grupal en el valor de PS. Por otra parte, con relación al valor de PB en el grupo con periodontitis, se presentó una diferencia significativa intra-grupal en el nivel de profundidad de la bolsa similar al del grupo con gingivitis. La diferencia inter-grupal fue independiente, comprobando la relación existente con los parámetros clínicos anteriores.

Nivel de Inserción.

Este parámetro únicamente se valoró en el grupo de periodontitis. El índice de enfermedad periodontal (PDI), fue determinado como nivel de inserción epitelial (NI) (a través de la ganancia de 1 mm en promedio en los pacientes con periodontitis crónica moderada). Dicho indicador puso de manifiesto, junto con la reducción de los valores de índice de placa (IP), índice gingival (IG), profundidad de surco (PS) y profundidad de bolsa (PB), que hubo una respuesta positiva al tratamiento periodontal no quirúrgico con un beneficio en los tejidos periodontales, manifestando un menor daño tisular, tanto para la gingivitis como para la periodontitis.

Cabe señalar sin embargo, con respecto a la posible relación del índice de placa con el nivel de inserción, que si bien algunos estudios como el de Neely (2001), no asocian al índice de placa con la pérdida de inserción. En esta investigación si se observó correlación entre la reducción del índice de placa con el mayor nivel de inserción. Esto manifiesta de manera positiva la respuesta al tratamiento no quirúrgico, lo que fue significativo para el grupo experimental entre las dos primeras fases del tratamiento – en la tercera fase el valor prácticamente se mantiene -, concordando con los resultados de la variable microbiológica en lo que a proporción se refiere.

La variable clínica de movilidad dentaria (M) también se registró únicamente con el grupo de periodontitis, no habiéndose obtenido una diferencia significativa intra-grupal después de la fase 1 (inicial). De esta manera, la disminución en el grado de movilidad no fue el resultado de la ganancia en inserción y no coincidió con el efecto favorable de los demás parámetros clínicos, microbiológicos y bioquímicos. que a su vez no se reflejaron clínicamente en un periodonto con menor lesión en los tejidos con relación a lo observado en la fase inicial del estudio. Esto es no es congruente con lo notificado por Shiloah (1997) y Stephen (2001).

La búsqueda de la asociación de los parámetros clínicos con los niveles de IL-1 ha demostrado que existe una fuerte correlación de los niveles elevados de esta citoquina con los el índice gingival, profundidad al sondeo, nivel de inserción e índice de sangrado en pacientes con periodontitis. (Yavuzylmaz 1995, Hou 1995, Liu 1995, Alexander 1996, Mogi 1999, Engeberson 2002 y Lein-Tuan 2003) En contraste se tienen los trabajos de Wilton 1992, Wilton 1993 y Gorska 2003, que

Discusión

establecen que no hay correlación de los niveles de esta citoquina en el FGC con las variables clínicas.

Finalmente, por el análisis integral de los resultados de este trabajo, podemos concluir que las principales aportaciones en el área de la periodontología son la evaluación de la posible asociación de los parámetros microbiológicos, inmunológicos y clínicos en población mexicana con periodontitis crónica moderada, encontrando que no existen diferencias cualitativas de la microbiota subgingival en ambas patologías, aunque si aparecen diferencias cuantitativas entre ellas.

También se demostró la eficacia del tratamiento periodontal no quirúrgico, ya que los parámetros clínicos, microbiológicos e inmunológicos disminuyeron satisfactoriamente durante las fases de estudio, lo que concuerda con los hallazgos reportados en la literatura. Sin embargo, se lograron detectar algunas diferencias en los resultados presentados que pueden deberse a la variabilidad individual, la cual puede ser consecuencia de factores de riesgo inmodificables, como son el polimorfismo genético y las enfermedades sistémicas, así como los factores de riesgo ambientales como son el tabaquismo, el estrés y el estilo de vida, entre otros. (Clarke 1995, Novaes 1999, Bruce 2005). Estos factores se controlaron por los criterios de inclusión, eliminando también del estudio a pacientes diabéticos y/o pacientes sometidos a farmacoterapia.

Para dar una posible explicación a esta variabilidad individual es importante mencionar como una probable causa la desregulación de la respuesta inmunitaria dependiente del hospedador o como consecuencia de la presencia de los factores de virulencia del periodontopatógeno.

Finalmente, es importante delimitar el papel que juega la IL-1 \square como posible marcador pronóstico de enfermedades periodontales, ya que ha demostrado ampliamente su papel como citoquina con actividad pro inflamatoria. Lo anterior permite que la determinación en el aumento de sus niveles en el FGC correlacione directamente con la gingivitis y con los parámetros clínicos de la inflamación, como lo es el índice gingival de Loë y Silness. Sin embargo, en la periodontitis la función de la IL-1 se asocia directamente con su participación en la resorción ósea. Por esta razón consideramos que la determinación de la IL-1 puede servir como mejor marcador pronóstico si se lograra determinar conjuntamente con los niveles de su

Discusión

molécula reguladora que es la IL-1Ra ya que se podrá determinar así el índice de actividad (IL-1 total/IL-1Ra) que nos refleja el estatus periodontal.

CONCLUSIONES

Conclusiones

CONCLUSIONES

FACTORES ETIOLOGICOS.

1. Los resultados del tratamiento periodontal no quirúrgico que incluye raspado y alisado radicular, así como el control personal de placa, mostraron ser efectivos para reducir la proporción de las especies: *P.gingivalis*, *A.actinomycetemcomitans*, *P.intermedia*, *F.nucleatum*, *C.rectus* y *T.forsythia* Lo mismo aplicó a los parámetros clínicos y a las variables bioquímicas.

No obstante lo anterior, cuando no se alcanza a erradicar las especies microbianas señaladas, éstas pueden reestablecerse, siendo necesario que para algunos pacientes con periodontitis crónica, se realice un estricto control de la placa bacteriana, junto con la administración de antibióticos de elección.

2. Las especies de *P.micros* en la primera fase y de *P.intermedia* en la segunda fase, resultaron ser estadísticamente independientes, más no concluyentes, como marcadores microbiológicos, por lo que habrá que reafirmar estos datos.
3. La interacción entre las bacterias periodontopatógenas y las células del hospedador inducen la liberación de citoquinas. El tipo de citoquinas producidas depende principalmente de la naturaleza de las bacterias y de las células que se encuentren comprometidas con la reacción inmunológica.

Conclusiones

FACTORES DEL HOSPEDADOR.

1. Los resultados obtenidos por esta investigación confirman que en la terapia periodontal no quirúrgica, la fase de mantenimiento es primordial para consolidar la mejoría clínica, microbiológica y bioquímica del tratamiento.
2. La obtención para cada paciente de los valores de volumen de FGC a través de las unidades de capacitancia del Periotron® 8000, junto con los datos de concentración en pg/mL de IL-1 β , proporcionados por la técnica de ELISA, así como la técnica clínica utilizada; resultaron ser en su conjunto, una metodología sensible para el diagnóstico y como medida de la severidad y de la progresión de la enfermedad periodontal.
3. La diferencia obtenida en los niveles de IL-1 β con los pacientes con gingivitis y con los de periodontitis crónica moderada, permitió a su vez confirmar la utilidad de la IL-1 β como marcador inmunológico en cada patología.
4. La utilización de la IL-1 β como un marcador pronóstico de la enfermedad periodontal, ha permitido demostrar que los niveles locales de esta molécula manifiestan cambios dinámicos dependiendo del grado de avance de la enfermedad periodontal, siendo muy elevados cuando hay inflamación y destrucción tisular, y muy bajos o ausentes en los tejidos normales. Esto sugiere que la cuantificación IL-1 β puede ser una herramienta valiosa para monitorizar la actividad y la progresión en la periodontitis.
5. Con este trabajo se confirma también, que un exceso de estimulación inmunitaria conduce al daño del tejido periodontal, lo cual se explica por la presencia de grandes cantidades de la interleuquina IL-1 β , molécula que ha demostrado tener gran actividad proinflamatoria y destructiva, y que a su vez tiene la capacidad de diferenciar y activar a los osteoclastos, justificándose así la resorción ósea característica de la periodontitis.

Conclusiones

Conclusiones

RESPUESTA AL TRATAMIENTO PERIODONTAL.

1. La presente investigación proporcionó resultados mediante los cuales se confirma que el tratamiento periodontal no quirúrgico, puede controlar la progresión de la enfermedad periodontal, teniendo mayor impacto en la en la periodontitis crónica, con una disminución en su avance hasta casi el 60% (17 *versus* 31 pacientes), en sujetos que fueron tratados y mantenidos con esta terapia.
2. La presente investigación proporcionó resultados mediante los cuales se observa que en los primeros seis meses posteriores a la fase inicial del tratamiento periodontal no quirúrgico, se percibe la mejora en las variables clínicas, así como en las variables bioquímicas y en general una importante disminución de las especies periodontopatógenas. En la fase de mantenimiento, estos parámetros se estabilizan.

Conclusiones

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

BIBLIOGRAFIA

1. AAA position paper: Supportive Periodontal Therapy (SPT).(1998) *J. Periodontol.* **69** (4), 496-501.
2. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (2000) *Inmunología Celular y Molecular 10a. Edición.* Editorial Interamericana. *Mc Graw –Hill.* España.
3. Airila-Mansson, S., Soder, B., Kari, K., Meurman, J.H. (2006) Influence of combinations of bacteria on the levels of prostaglandin E₂, inteleukine 1-beta, and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid and on the severity of periodontal disease. *J. Periodontol.* **77**, 1025 – 1031.
4. Albandar, J.M., Kingman, A. & Lamster, I.B. (1998). Crevicular fluid level of beta – glucoronidase in relation to clinical periodontal parameters and putative periodontal pathogens in early – onset periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **25**, 630 – 639.
5. Albandar, J.M., Rams, T.E. (2002). *Periodontol 2000 Global epidemiology of periodontal diseases 29.* Copenhagen, Denmark: Munksgaard Blackwells.
6. Alexander, D.C., Martin, J.C., King, R.J., Powel, J.C., Caves, J., Cohen, M.E. (1996). Interleukin 1-beta, prostaglandin E₂, and immunoglobulin G subclasses in gingival crevicular fluid in patients undergoing periodontal therapy. *J. Periodontol.* **67**: 755-762.
7. Almaguer-Flores, A., Jacobo-Soto, V., Sánchez-Vargas, L.O., Lara-Córdoba, M., Alcántara-Marur, E., Ximénez-Fyvie, L.A. (2005). Descripción de la microbiota subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica. *Rev. Odontol. Mex.* **9** (1): 7 – 15.
8. Alves Uhoa Lins, R.D., Godoy, P.G., Vieira de Figueiredo, C.R., Dantas da Silveira, E.J., Gordon-Núñez, M.A., Almeida-Freitas, R. (2006). Estudio comparativo del patrón de expresión

Bibliografía

- inmunohistoquímico de las células CD4+ y CD20+ en la enfermedad periodontal. *Rev. Esp. Pathol.* **39** (1):19-25.
9. American Academy of Periodontology (2001). Parameter on chronic periodontitis with advances loss of periodontal support. *J Periodontol.* **71** (5 suppl): 856-8.
 10. American Academy of Periodontology (2001). Guidelines for Periodontal Therapy. *J. Periodontol* **72**: 1624 – 1628
 11. Arce RM. (2004). Terapia periodontal del futuro. *Colombia Med.* **35** (Supl 1): 40-47.
 12. Armitage, G.C., Dickinson, W.R., Jenderseck, R.S., Levine, S.M. & Chambers, D.W. (1982). Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. *J. Periodontol.* **53**: 550 – 556.
 13. Armitage, G.C. (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontal 2000.* **34**: 217-29.
 14. Armitage, G. (1999). Development of classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol.* **4** (1): 1-6.
 15. Asman, B., et al. (1997). Gingival crevicular neutrophils: membrana molecules do not distinguis between periodontitis and gingivitis, *J. Clin. Periodontol.* **24**: 927-931.
 16. Assuma, R., Oate, T., Cochran, D., Amar, S. and Graves, D.T. (1998). IL-1 and TNF Antagonists Inhibit the Inflammatory Response and Bone Loss in Experimental Periodontitis. *J. Immunol.* **160**: 403-409.
 17. Atkins, E. (1960). The pathogenesis of fever. *Physiol. Rev.* **40**: 580-646.
 18. Auron, P.J., Warner, S.J.C., Webb, A.C., Cannon, J.G., Bernheim, H.A. Mc Adam, K.J., Rosenwasser, L.J., LoPreste, G., Mucci, S.F., Dinarello, C.A. (1987). Studies on the molecular nature of human interleukin -1. *J Immunol* **138**: 3403 – 3407.

Bibliografía

19. Axtelius, B., Söderfeldt, B., Edwarsson, S., Attström, R. (1997). Therapy-resistant periodontitis (I). Clinical and treatment characteristics. *J. Clin Periodontol* **24**: 640-645.
20. Baker, P.J. (2000). The role Immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes and Infection* **2**:1181-1192.
21. Bas, H.A., Kremer, T.J., Martijn, van Steenberghe. (2000). *Peptostreptococcus micros* coaggregates with *Fusobacterium nucleatum* and non-encapsulated Porphyromona gingivalis. *FEMS Microbiol. Letters* **182**: 57-61
22. Beck, J.D., Garcia, R.G., Heiss, G., Volconos, P., Offenbacher, S. (1996) Periodontal disease and cardiovascular disease. *J. Periodontol.* **67** (suppl); 1123-1137.
23. Beck, J.D., Offenbacher, S., Williams, R.C., Gibbs, P., Garcia, R. (1998). Periodontitis: a risk factor for coronary heart disease? *Ann. Periodontol.* **3**: 127-141.
24. Bergey, DH., Holt, JG. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ed. Baltimore Williams & Wilkins. 787 p.
25. Bergstrom, J., Persson, L. and Preber, H. (1988). Influence of cigarette smoking on vascular reaction during experimental gingivitis. *Scand. J. Dent. Res.* **96**: 34 – 39.
26. Bickel, M., Axtelius, B., Solioz, C., Allström, R. (2001) Cytokine gene expression in chronic periodontitis. *J. Clin Periodontol.* **28**: 840.
27. Biesbrock, A, Yeh, C.H. (2000). Relationships of surface epithelium concentrations of IL-1 alpha and IL-1 beta to clinical inflammation during experimental gingivitis. *Monogr. Oral Sci.* **17**: 20-31.
28. Birkedal-Hansen H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal disease. *J. Periodontol.* **64**: 474-484
29. Birkedal-Hansen H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissues destruction. *J. Periodont. Res.* **28**: 500 - 510.

Bibliografía

30. Black RA, Kronheim SR., Cantrell M., Deeley MC., March CJ., Prickett KS., Wingnall J., Conlon PJ., Cosman D, Hopp TP., Mochiziki DY. (1988). Generation of biologically active interleukin-1 by proteolytic cleavage of inactive precursor. *J. Biol. Chem.* 263: 9437-9442.
31. Brex MC., Gautschi M., Gehr P., Lang NP. (1987). Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingival. *J. Periodont. Res.* 22: 468-472.
32. Brown, LJ., and H. Loe. (2000) Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2: 57-71.
33. Brownlee M. (1994) Glycation and diabetic complication. *Diabetes.* 43; 836-841.
34. Chaple CC., Srivastava M., Hunter N. (1998) Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease. *J Pathol* 186: 281-286.
35. Castellanos MR, Guevara RM, Robinson RR, Vázquez RL. (2000). Respuestas inmunes innata y adaptativa. *Medisan* 4 (2): 64-74.
36. Castrillón L, Macín-Cabrera S. A. Palma A. (2007). Participación de Interleucina 1 β en periodontitis. *Rev. Odontol. Mexicana.* 11 (4): 185 – 200.
37. Carrillo MJ., Castillo GM., Hernández R. HG., Zermeño I.J. (2000). Estudio Epidemiológico de las enfermedades periodontales en pacientes que acuden a la Facultad de Estomatología de la UASLP. *Revista ADM.* LVII (6): 205-213.
38. Ciancio SG. (1996). Mediations as a Risk Factors for Periodontal Disease. *J. Periodontol.* 67: 1055 - 1059
39. Cimasoni G. (1983). Crevicular fluid update. *Monogr. Oral Sci.* 12: 1-37)
40. Clark RE. & DB. Giddon. (1971). Body geometry of patients who had recurrent attacks of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *Arch. Oral Biol.* 16: 205 – 213.

Bibliografía

41. Clarke NG. & Hirsch RS. (1995). Personal Risk factors for generalized periodontitis. *J. Clinical Periodontol.* **22**: 136-145.
42. Colotta F., Dower SK., Sims JE., Mantovani A. (1994). The type II “decoy receptor”: a novel regulatory pathway for interleukin-1. *Immunol. Today* 15: 1557-1565.
43. Cugini MA. Haffajee C., Kent RL.Jr., and Socransky SS. (2000). The effect of scaling and root planning on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease: 12- month results. *J. Clinical Periodontol.* **27**: 30-36
44. Dagmar S., Preiss & J. Meyle. (1994). Interleukin-1 β Concentration of Gingival Crevicular Fluid. *J. Periodontol.* **65**: 423-428.
45. David JP. (2007). Osteoimmunology: A view from the bone. *Advance Immunol.* **95**: 149-165.
46. Davis BD. Dubelcco R., Eisen HN., Ginsberg HS., Wood W.B. (2003). *Microbiología*. Editorial Salvat, España.
47. Dayer JM. (2002) Evidence for biological modulation of IL-1 activity: The role of IL-1Ra. *Clin Exp Reumathol.* **20**:S 14-S 20
48. Delima AJ, Oates T, Assuma R, Schwartz Z, Cochran D, Amar S, Graves DT. (2001). Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **28**: 233-240.
49. De Souza AP, Da Silva RA, Da Silva MAD, Catanzaro-Guimarães SA, Line SRP (2005). Matrix metalloproteinases: the most important pathway involved with periodontal destruction. *Braz. J. Oral Sci.* **4** (15): 884-890.
50. Del Nero-Viera G. (2005). La resorción como proceso inflamatorio. Aproximación a la patogenia de las resorciones dentaria y periodontal. *RCOE* **10** (5-6): 545-556.
51. di Giovine, FS., JB. Mee, and GW. Duff. (1996). Immunoregulatory cytokines, p. 38-65. In B. Henderson and M.W. Bodmer (ed.),

Bibliografía

- Therapeutic modulation of cytokines. *CRC Press*. London, United Kingdom.
52. Dinarello, CA. (1984). Interleukin-1. *Rev. Infect. Dis.* 6: 51-95.
 53. Dinarello, C. (1996). Biologic basis for interleukine-1 in disease. *Blood* 87: 2095-2147.
 54. Dinarello CA. (1994). The biological properties of interleukin – 1. *Eur Cytokine News* 5: 517 – 531.
 55. Dinarello A. (1994). The interleukin – 1 family: 10 years of discovery. *FASEB J.* 8: 1314 – 1325.
 56. Dinarello CA., Goldin NP., Wolff SM. (1974). Demonstration and caracterizacion of two distinct human leukocytic pyrogen. *J. Exp. Med.* 139: 1369 – 1381.
 57. Dinarello Charles A. (1988). Biology of interleukin 1. *FASEB J.* 2: 108.115.
 58. Dinarello CA. (1989). Interleukin and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* 44: 153 – 205.
 59. Ding Y., Xu Y., and Zhou T. (2006) Association between 5 periodontal pathogens and clinical parameters following SRP. *Sichuan University, Ghengdu, China.*
 60. Dirección General de Regulación de los Servicios de Salud. Dirección de Planeación e Innovación para la Calidad. Subdirección de Investigación de Calidad. (2000). *Manual de Presentación de Protocolos.* México.
 61. Doan N., Contreras A., Flynn J., Marrison J., Slots J. (1999) .Proficiencies of three Anaerobic Culture System for Recovering Periodontal Pathogenic Bacteria. *J. Clinical Microbiol.* Jun. 171 – 174.
 62. Dounquodomdacha S., Rawlinson A., Walsh TF. and Doglas CWI. (2001) Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*

Bibliografía

- intermedia* and *Actinobacillus actinomycetecomitans* at adult periodontitis sites. *J. Clinical Periodontol.* 28: 437-445
63. Dowsett SA., Kowolik MJ., Archila LA., Eckert GJ., LeBlanc DJ. (2002) Subgingival microbiota of indigenous Indians of Central America. *J. Clinical Periodontol.* 29 (2): 159 – 67
64. Doxey DL., Cutler CW., Iacopino AM. (1998). Diabetes prevents periodontitis-induced increase in gingival platelet derived growth factor B and interleukin 1- betain a rat model. *J. Periodontal* 69 (7): 759-764.
65. Dripps DJ., Brandhuber BJ., Thomson RC., Eisenberg SP., (1991) Interleukin – 1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80 KDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J. Biol. Chem.* 266: 10331 – 10336.
66. Duncan M., Dewhirst F., Chen T. (2000, 2001, 2002). *Porphyromona gingivalis*. Genome Project. *The Forsyth Institute*.
67. Ebersole JL., Taubman MA. (1994). The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 5: 112-141.
68. Ebersole JL., Capelli D., & MJ. Steffen. (1995). Longitudinal dynamics of infection and serum antibody in *A. actinomycetemcomitans* periodontitis. *Oral Dis.* 1: 129-138.
69. Ebersole JL., Machen RL., Steffen MJ., Willman DE. (1997). Systemic acute phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin in adult periodontitis. *Clin. Exp. Immunol.* 107: 347-352.
70. Ebersole JL., Capelli D., Holt SC., Singer R.e., Fillon T., (2000). Gingival Crevicular Fluid inflammatory mediators and bacteriology of gingivitis in nonhuman primates related to susceptibility to periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 15: 19-26
71. Edwardsson S, M. Bing, B. Axtelius, B. Lindberg, B. Soderfeldt, and R. Attstrom. (1999). The microbiota of periodontal pockets with different depth in therapy-resistant periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 26: 143-152.

Bibliografía

72. Eley BM. (1998). Advances in periodontal diagnosis 5. Potencial inflammatory and immune markers. *British Dent. J.* 184: 220-223.
73. Engebretson SP. et al. (1999). The influence of Interleukin Gene Polimorphism on Expresión of Interleukin - 1 β and Tumor Necrosis Factor α in Periodontal Tissue and Gingival Crevicular Fluid, *J Periodontol.* 70 (6): 567-573.
74. Engebretson SP., Lalla E., & IB Lamster. (1999). Periodontitis and systemic disease. *NYSMJ.* October; 30-32.
75. Engebretson SP, Grbic JT, Singer R, Lamster IB. (2002). GCF IL-1 β profiles in periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 29: 48-53.
76. Espejel MM, Martínez RI, Delgado RJ, Guzmán FC, Monterde CM. (2002). Gingivitis. *Rev. ADM.* LIX: 216-219.
77. Ezzo P., Cutler C. (2003). Microorganisms as a risk indicators for periodontal disease. *Periodontol 2000.* 32: 24 – 35.
78. Falotico PG., Farias RF., (2006). El Surco Gingival. Aspectos clínicos y anatomofisiomicrobiológicos. *Oduros Científ.* VII (2): 16-26
79. Fantone JC., Ward PA. (1990). Inflamación Cap. 2. En: Patología. E. Rubin, Farber L.J. (editors). *Ed. Med. Panam.* México, D.F. p. 33-59
80. Feldner BD, Reinhardt RA, Grabin CP, Seymour GC, Casey JH. (1994). Histological evaluation of interleukin -1 beta and collagen in gingival tissue from untreated adult periodontitis. *J. Periodontol. Res* 29: 54-61
81. Figueredo CMS., Ribeiro MSM., Fischer RG. And Gustafsson A. (1999). Increased Interleukin - 1 β Concentration in Gingival Crevicular Fluid as a characteristic of Periodontitis, *J. Periodontol.* 70 (12): 1457-1463.
82. Figueredo, LC., B. E. Toledo., & SL. Salvador. (2000). The relationship between plaque BANA reactivity and clinical parameters in subjects with mental disabilities. *Spec. Care Dentist.* 20: 195 – 198.

Bibliografía

83. Fournier D., Mouton C. (1993). Phenotypic characterization of human and animal biotypes within the species *Porphyromonas gingivalis*. *Res Microbiol.* 144 (6): 435 – 44.
84. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. (2000). Levels of interleukin-1 beta and IL-10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and effect of periodontal treatment. *J. Periodontol.* 71: 1535-1545.
85. Geerts SO., Nys M., De Mol P., Charpentier J., Albert A., Legrand V., Rompen EH. (2002) Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J. Periodontol.* 73: 73-78.
86. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. (1997) Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 14: 112-43
87. Gemmell E., Seymour GJ. (1998). Cytokine profiles of cells extracted from human with periodontal diseases. *J. Dent. Res.* 77: 16-26
88. Gemmell E., Carter CL, Seymour GJ. (2001). Chemokines in human periodontal disease tissues. *Clin. Exp. Immunol.* 125: 134-141
89. Gemmell E., Yamasaki K., Seymour G. J. (2002)(a). Destructive Periodontitis Lesions are Determined by the Nature of the Lymphocytic Response. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 13 (1): 17 – 34.
90. Gemmell E., Carter CL., Grieco DA., Sugerman PB., Seymour GJ. (2002)(b). *P.gingivalis*-specific T-cell lines produce Th1 and Th2 cytokines. *J. Dent Res.* 81: 303 – 307.
91. Genco RJ., T. E. Van Dyke., MJ. Levine., RD. Nelson. And ME. Wilson. (1986)(1985 Kresover lecture) Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal disease. *J. Dent. Res.* 65: 1379 – 1391.
92. Genco, RJ., (1992). Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J. Periodontol.* 63: 338 – 355.

Bibliografía

93. Genco, CA., Van Dyke, TE. & Amar, S. (1998). Animal models for Porphyromonas gingivalis-mediated periodontal disease. *Trends in Microbiol.* 6: 444-449.
94. Genco, RJ., AW. Ho, SG. Grossi, RG. Dunford, & LA. Tedesco. (1999). Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. *J. Periodontol.* 70: 711-723.
95. Gmür , R. & B. Guggenheim. (1994)(a). Interdental supragingival plaque – A natural habitat of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus, Campylobacter rectus and Prevotella nigrescens. *J. Dent. Res.* 73: 1421- 1428.
96. Gmur R, Saxer UP. & B. Guggenheim. (1994)(b). Effect of blunt scaling on periodontal status and subgingival microorganisms. A pilot study. *Schw. Monatschrift Zahnmedizin.* 104: 430-439.
97. González JR., Herrmann JM., Boedeker RH., Fancz PI., Biesalsk H. & J. Meyel. (2001). Concentration of Interleukin-1 β and neutrophil elastasa activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* 28 (6): 544-549.
98. Górská R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliski K. (2003). Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 30: 1046.
99. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. (2004). Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 beta and interleukin-10 leveles in chronic periodontitis. *J. Dent.* 32: 511-520.
100. Grossi, SG., Zambon JJ., Ho AW., Koch G., Dunford RG., Machtei EE., Norderyd O.M. & RJ. Genco. (1994). Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J. Periodontol.* 65: 260 – 267.
101. Grossi, SG., Genco RJ., Machtei EE., Ho AW., Koch G., Dunford R, Zambon JJ., & E. Hausmann. (1995). Assessment of risk for

Bibliografía

- periodontal disease. II. Risk indicators for alveolar bone loss. *J. Periodontol.* 66: 23–29.
102. Gunsolly JC, Zambon JJ, Mellot CA, Brooks CN. & Kaugars CC. (1994). Maintenance therapy in young adults with severe generalized periodontitis. *J. Periodontol.* 65: 274-279.
103. Haffajee AD., Socransky SS., Smith C., & S. Dibart. (1992). The use of DNA probes to examine the distribution of subgingival species in subjects with different levels of periodontal destruction. *J. Clin. Periodontol.* 19: 84–91.
104. Haffajee AD., Socransky SS., Goodson JM. (1993). Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J. Clin Periodontol.* 10: 257–265.
105. Haffajee, AD. & Socransky, SS. (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontol 2000.* 5: 78-111.
106. Haffajee AD., Dibart SK Jr. RL., & Socransky SS. (1995). Factors associated with different responses to periodontal therapy. *J. Clinical Periodontol.* 22: 628-636.
107. Haffajee AD, MA. Cugini, S. Dibart, C. Smith, RL. Kent Jr. & SS. Socransky. (1997a). The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 24: 324-334.
108. Haffajee AD., Cugini MA., Dibart S., Smith C., Kent Jr. RL., & Socransky SS. (1997b). Clinical and Microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planning. *J. Clin. Periodontol.* 24: 767-776.
109. Haffajee A., et al (1998). Subgingival microbiota in healthy, well – maintained elder and periodontitis subjects, *J. Clin. Periodontol.* 25: 346-353.
110. Han X., Kawai T., Taubman MA. (2007). Interference with immune cell-mediated bone resorption in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 45 (1): 6-94.

Bibliografía

111. Hart TC., (1996) Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J. Periodontol.* 67: 355-366.
112. Hartroth B., Seyfahrt I., Conrads G. (1999). Sampling of periodontal pathogens by paper points evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol. Immunol.* 14: 326-330.
113. Hayes C., Sparrow D., Cohen M., Vokonas P., Garcia RI. (1998). Periodontal disease and pulmonary function: the longitudinal study. *Ann Periodontol.* 3: 257-261.
114. Henderson, B., & M. Wilson. (1996). Bacterial induction of cytokines: beyond LPS. *Cytokine* 8: 269- 282.
115. Hernández-Urzúa MA, Alvarado-Navarro A. (2001). Interleucinas e inmunidad innata. *Rev. Biomed.* 12: 272-280.
116. Herrera G.D., Stijine-van N.A., Bosch T.CJ., Dentokom M. EC., Boersme H., Zeiler G., Winkelhoff AJ. (1998). Microbiological Procedures with Periodontal Anaerobic Bacteria. Protocolo de trabajo. Lab. Microbiología, Fac. Odontología, UCM, España.
117. Holmund A, Hanstrom L, Lerner UH. (2004). Bone resorbing activity and cytokine levels in crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 31: 475-482.
118. Honig J, Rordorf-Adam C., Siegmund C., Wiedemann W., Erard F. (1989). Increases interleukin-1 beta (IL-1 β) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J. Periodont. Res.* 24: 362-367.
119. Horuk R., Huang JJ., Covington M., Newton RC. (1987). A biochemical and Kinetic analysis of the interleukin- 1 receptor. Evidence for differences in molecular properties of IL-1 receptors. *J. Biol. Chem.* 262: 16275 – 16278.
120. Horowitz MC., Lorenzo JA., (1996). Local regulators of bone: IL-1, TNF, Lymphotoxin, Interferon- γ , IL-8, IL-4, the LIF/IL-6 family, and additional cytokines. En : Principles of bone biology, eds. Bilezikian JP., Raiz LG., Rodan GA., *San Diego: Academia Press* .pp. 687-700.

Bibliografía

121. Hou LT., Liu CM., Chang WK. (1994). Increased interleukin-1 beta levels in gingival fluid of Chinese periodontal patients. *J. Formos Med. Assoc.* 93: 99-103.
122. Hou LT., Liu CM., Rossomando EF. (1995). Crevicular interleukin-1 beta in moderate and severe periodontitis patients and the effect of phase I periodontal treatment. *J. Clin. Periodontol.* 22: 162-167.
123. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Departamento de Inmunología. (2001). *Manual del Curso Teórico Práctico de Inmunología*. México, D. F.
124. Irigoyen ME., Velásquez C., Zepeda M.A. Mejía A. (1999). Caries dental y enfermedad periodontal en un grupo de personas de 60 o más años de edad de la Ciudad de México. *Rev. ADM.* LVI (2): 64-69.
125. Ishihara, K., Y. Naito, T. Kato, I. Takazoe, K. Okuda, T. Eguchi, K. Nakashima, N. Matsuda, K. Yamasaki, K. Hasegawa, et al. (1992). A sensitive enzymatic method (SK-013) for detection and quantification of specific periodontopathogens. *J. Periodontol Res.* 27: 81-85.
126. Ishihara Y., Mishihara T., Kuroyanagi T., Shirozu N., Yamagishi E., Ohguchi M., Koide M., Ueda N., Amano K., Noguchi T. (1997) Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J. Periodontol. Res.* 32: 524-529.
127. Ishikawa I., Nakashima K., Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S., Nitta H., Nishihara T. (1997). Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000.* 14: 79-111
128. Ishikawa I. (2007). Host responses in periodontal diseases: a preview. *Periodontol 2000.* 43: 9-13.
129. Jeffcoat MK., Geurs NC., Reddy MS., Cliver SP., Goldenberg RI., Hauth JC. (2001). Periodontal infection and pre-term birth: result a prospective study. *JADA*; 132: 875-880.

Bibliografía

130. Jenkins WMM., Mc Farlane TW., Gilmour WH. (1988). Longitudinal study of periodontitis. *J.Clin Periodontol* 15: 324–330.
131. Kaldahl, WB., Kalkwarf KL., Patil K. (1993). A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J. Periodontol.* 64: 243-253.
132. Kantarci A, Van Dyke TE. (2005). Resolution of inflammation in periodontitis. *J. Periodontol.* 76 (Suppl): 2168-2174.
133. Kelk P., Claesson R., Hånström L., Lerner UH., Kalfas S., Johansson A. (2005). Abundant Secretion of Bioactive Interleukin - 1 β by Human Macrophages Induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Leukotoxin. (2005). *Infection and Immunity*, Jan, 453-458.
134. Kelso A. (1995). Th1 and Th2 subsets – paradigm lost. *Immunol. Today* 16: 374–379.
135. Kent WL., Rahemtulla F. and Michalek MS. (1999) Interleukin (IL)-1 and *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide Stimulation of IL-6 Production by Fibroblasts Derived from Healthy or Periodontally Diseased Human Gingival Tissue. *J. Periodontol.* 70: 274-282.
136. Ketabi M., Hirsch RS., (1997). The effects of local anesthetic containing adrenaline on gingival blood flow in smokers and non-smokers. *J. Clin. Periodontol.* 24 (12): 888-892.
137. Kim JH., Chung HJ., Kim YK., Kim HJ., Kim SH. (2006). Clinical changes during maintenance phase after surgical/non surgical periodontal therapy. *Chonnam National University. Gwangju, South Korea*. Abstract.
138. Kinane DF., Winstanley FP., Adonogiana RE., Moughal NA. (1992). Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch. Oral. Biol.* 37(2): 153-156.
139. Kinane DF., Chestnult IG. (2000). Smoking and Periodontal Disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 11 (3): 356–365.
140. Kinane DF., Marshall GJ. (2001) Periodontal manifestations of systemic disease. *Australian Dent. Journal* 46: (1) 2-12.

Bibliografía

141. Kjeldsen M., Holmstrup P., Lindemann R.A., Beudtzen K. (1995). Bacterial – Stimulated cytokine production of peripheral mononuclear cells from patients of various periodontitis categories. *J. Periodontol.* 66: 139–144.
142. Kornman KS, Page, RC. & Tonetti, MS. (1997)(a). The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 14: 33- 53
143. Kornman KS., Crane A., Wang HY., di Giovane FS., Newman MG., Pirk FW., Wilson TG., Higginbottom FL., Duff GW. (1997)(b). The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 24: 72-77.
144. Krane, SM., Dayer ,J.M., Simon, LS., Byrne, S. (1985). Mononuclear cell-conditioned medium containing mononuclear cell factor (MCF), homologous with interleukin 1, stimulates collagen and fibronectin synthesis by adherent rheumatoid synovial cells: effects of prostaglandin E2 and indomethacin. *Collagen Relat.. Res.* 5: 99-117.
145. Kroes I., Lepp PW., Relman DA. (1999). Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96: 14547–52.
146. Kusano K., Muyauro Ch., Inada M., Tamura T., Ito A., Nasage H., Kamoi K., Suda T. (1998) Regulation of matrix metalloproteinases (MMP 2, -3, -9 and -13) by interleukin -1- and interleukin – 6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinol.* 139: 1338-1354.
147. Lafita J. (2003). Fisiología y fisiopatología ósea. *Ann. Sist. Sanit. Navar.* 26 (Suppl. 3): 7-17.
148. Lai CH., Listgarten, MA. Shirakawa., M. & Slots, J. (1987). *Bacteroides forsythus* in adult gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 2: 152–157.
149. Lappin DF., Mc Gregor AMP., Kinane DF. (2003). The systemic immune response is more prominent than the mucosal immune response

Bibliografía

- in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 30: 778–786.
150. Lamster IB. (1992). Host Response in gingival crevicular fluid: potential applications in periodontitis clinical trials. *J. Periodontol.* 63: 1117–1123.
151. Lang, NP., RA: Kiel, & K. Anderhalden. (1983). Clinical and Microbiological effects of subgingival restorations with overhanging or clinically perfect margins. *J. Clin. Periodontol.* 10: 563- 578.
152. Lee HJ, Kang IK, Cheng CP, Choi SM. (1995). The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 22: 885–890.
153. Lee,WS. Aitken, J. Sodek, and CA. McCulloch. (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo; role of active enzyme in human periodontitis. *J. Periodontol. Res.* 30: 23–33.
154. Lein TH., Chein ML., Bu YL., Shih JL., Chia SL., Rossomando EF. (2003). Interleukin 1- β clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsed gingival tissue from periodontal patients. *J. Periodontol. Res.* 38: 247.
155. Lerner UH., Modeer T., Krekmanova L., Claesson R., Rasmussen L. (1998). Gingival crevicular fluid from patients with periodontitis contains bone reasorbing activity. *Eur. J. Oral Sci.* 106: 778 -787.
156. Liébana U. J., Quindós, A.G., Ruiz, G. M. (2002). Bacilos Gramnegativos anaerobios facultativos de interés oral. Capítulo:34 *Microbiología Oral*. 2a. ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México.pg. 355-363.
157. Castillo, P. A-M., Liébana, U. J., Gómez, A. M-T. (2002) Bacterias anaerobias estrictas de interés oral (II). Anaerobios no esporulados. Capítulo:36 *Microbiología Oral*. 2a. ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México.pg. 374-386.

Bibliografía

158. Liébana, U. J., San Emeterio, P.J., De Cárdenas, B. L. (2002) Bacilos Grampositivos anaerobios facultativos de interés oral. Capítulo:33 *Microbiología Oral*. 2a. ed. Mc Graw Hill- Interamericana. México.pg. 345-354..
159. Liébana, U. J., Castillo, A. M., Álvarez, M. (2004) Enfermedades periodontales: consideraciones microbiológicas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* **9**, Suppl:S75-91.
160. Lima FL., Farias F., Costa JE., Carvalho RMA., Alviano CS, Farias LM. (2002). Bacteriocin production by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from the oral cavity of humans with periodontal disease, periodontally healthy subjects and marmosets. *Research in Microbiology*. 153: 45-52.
161. Lindhe J., Haffajee AD. & SS. Socransky. (1983). Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J. Clin. Periodontol.* 10: 433–442.
162. Lindhe, J. & B. Liljenberg. (1984). Treatment of localized juvenile periodontitis. Result after 5 years. *J. Clin. Periodontol.* 11: 399-410.
163. Lindhe, J. & S. Nyman. (1984). Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 11: 504-514.
164. Lindhe, J., Wesfelt, E., Nyman, S., Socransky, SS. & AD. Haffajee. (1984). Long term effect of surgical/nonsurgical treatment of periodontal disease. *J. Clinical Periodont.* 11: 448-458.
165. Lindhe, J., Okomoto, H., Yoneyama, T., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (1989). Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J. Clin. Periodontol.* 16: 662–670.
166. Lindhe, J., Karring, T. & Lang, NP. (editors). (2005). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. 4^a ed. Editorial Médica Panamericana; Argentina, p. 132 – 133.
167. Ling, TY., Sims, TJ., Chen, HA., Whitney, C., Moncla, B., Engle, LD., Page, RC. (1993). Titer and subclass distribution of serum IgG antibody

Bibliografía

- reactive with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J. Clin. Immunol.* 13: 100 – 11.
168. Listergarten, MA. & Hellden, L. (1978). Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J. Clin. Periodontol.* 5: 115-132.
169. Listgarten, MA. (1976). Structure of microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J. Periodontol.* 47: 1-18.
170. Liu, CM, Hou, LT, Wong, MY., Rossomando, EF. (1996). Relationships between clinical parameters, interleukin 1 β and histopathologic of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine* 8: 161-167.
171. Loe, H. (1973). Plaque control periodontal disease. *J. Am. Dent. Assoc.* 87: 1034-1036.
172. Loe, H., Theilade, E., and Jensen, HB. (1965). Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.* 36: 177 - 181
173. Loesche, WJ., Lopatin, DE., Giordano, J., Alcoforado, G. & Hujoel, P. (1992). Comparison of the benzoyl-DL-arginine-naphthylamide (BANA) test, DNA probes, and immunological reagents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Bacteroides forsythus*. *J. Clin. Microbiol.* 30 (2): 427-433.
174. Loesche, WJ., Bretz, WA., Kerschensteiner, D., Stoll, J., Socransky, SS., Hujoel, P. & Lopatin, DE. (1990). Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide. *J. Clin. Microbiol.* 28: 1551-1559.
175. Loesche WJ., Giordano J., Soehren S., Hutchison R, Rau CF., Walsh L., Schork MA. (1996) Nonsurgical Treatment of Patients With Periodontal disease. *Oral Surg. Oral Med., Oral Pathol. Radiol. Endod.* 81 (5): 533-43

Bibliografía

176. Loesche, WJ. (1999). The antimicrobial treatment of periodontal disease: changing the treatment paradigm. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 10: 245-275.
177. Loesche, WJ. (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol. Rev.* 50: 353-380.
178. Loesche, WJ., SA. Syed, Schmidt E., & EC. Morrison. (1985). Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J. Periodontol.* 56: 447-456.
179. Loesche, WJ., F. Gusberti, G. Mettraux, Higgins T., & S. Syed. (1983). Relationship between oxygen tension and subgingival bacterial flora in untreated human periodontal pockets. *Infect. Immun.* 42: 659-667.
180. Loesche, WJ. & SA. Syed. (1978). Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. *Infect. Immun.* 21: 830-839.
181. Loesche, WJ Grossman N. (2001) Periodontal Disease as a Specific, albeit Chronic, Infection: Diagnosis and Treatment. *Clinical Microbiol Review.* 14 (4): 727-752.
182. López M. (2005). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* en relación a periodontitis agresiva. *Rev Estomatol. Heredina.* 15 (2): 178-183.
183. Lowenguth RA, Chin I, Caton JG, Cobb CM, DriskoCL, Killoy WJ, Goodson JM. (1995) Evaluation of periodontal treatment using controlled-release tetracycline fibers: Microbiological response. *J. Periodontol* 66: 700-707.
184. Mac Faddin. (1993). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. *Editorial Médica Panamericana.* 2ª. ed. México.
185. Mac Gregor IDM., Edgar WM., Greenwood AR. (1985) Effects of cigaret smoking on the role of plaque formation. *J. Clin. Periodontal.* 12: 35-41.

Bibliografía

186. Mc Guire JR., Mc Quade MJ., Rossmann JA., et al. (1989). Cotinine insaliva and gigival crevicular fluid of smokers with periodontal disease. *J. Periodontal.* 60: 176-181.
187. MacLaughlin WS., Lovat GM., MacGregor ID., Kelly PJ. (1993). The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *J. Clin. Periodontol.* 20: 448-451.
188. Mandalunis MP. (2006). Remodelación ósea. *Actual. Osteol.* 2 (1): 16-18.
189. Mandell RL., & SS. Socransky. (1981). A selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. *J. Periodontol.* 52: 593 – 598.
190. Mariotti A. (1999). Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. *Ann. Periodontol.* 4 (1): 7-17.
191. Mathur A, Michalowics BS. (1997). Cell-mediated immune system regulation in periodontal diseases. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 8 (1): 76-89.
192. Matthews DC. (2000) Periodontal Medicine: A New Paradigm. *J. Can. Dent. Assoc.* 66: 488–491.
193. Masada MP., Pesson R., Kenney JS., Lee SW., Pae RC., Allison AC. (1990). Measurement of interleukin-1 α and 1 β in gingival crevicular fluid: Implications or the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodontal Res.* 26: 156-163.
194. McDevitt J.M., Wang JH., Knobelman C., Newman G.M., Giovine Di SF., Janice T., Duff W G. & Kornman SK. (2000). Interleukin -1 Genetic Association with Periodontitis in Clinical Practice. *J. Periodontal.* 71 (2): 156-163.
195. Mac Donald HR., Lees RK., Baschieri S., Herrmann T., Lussow AR. (1993). Peripheral T – cell reactivity to bacterial superantigens in vivo: the response/ anergy paradox. *Immunol. Rev.* 133: 105–117.
196. Medzhitov R, Janeway Ch. (2000). Innate Immunity. *NEJM*: 343 (5): 338-344.

Bibliografía

197. Michalowicz BS., Aepli D., Virag JG., Kliump DG., Hinricas JE., Segal NL., et al. (1991). Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol.* 62: 293-299.
198. Michalowicz BS., Diehl SR., Gunsolley JC., et al. (2000). Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *J. Periodontol* 71: 1699–1707.
199. Mogi M., Otogoto J., Ota N., Inagaki H., Minami M., Kojima K. (1999). Interleukine 1 beta, interleukin 6, beta 2-microglobulin, and transforming growth factor alpha in gingival crevicular fluid from human periodontol disease. *Arch. Oral Biol.* 44 (6): 535-539.
200. Mombelli A, Gmur R, Gobbi C. & Lang NP. (1994). Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis (II). Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J. Periodontol.* 65: 827-834.
201. Mombelli A., B. Schmid, A. Rutar & NP. Lang. (2000). Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J. Periodontol.* 71: 14-21.
202. Moore, WE., LV. Holdeman, RM. Smibert, IJ. Good, J.A. Burmeister, KG. Palcanis & RR. Ranney. (1982). Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. *Infect. Immun.* 38: 651- 667.
203. Moore WE., Holdeman LV., Cato EP., Smibert RM., Burmeister JA. & Ranney RR. (1983). Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans. *Infect. Immun.* 42: 510–515.
204. Moore WE., LV. Holdeman., RM. Smibert EP. Cato, JA. Burmeister, KG. Palcanis, and RR. Ranney. (1984) Bacteriology of experimental gingivitis in children. *Infect. Immun.* 46: 1–6.
205. Moore, W.E., and LV. Moore. (1994). The bacteria of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 5: 66 – 77.
206. Morantes MF., Yepes JF., Pinto A. (2003). Consideraciones del uso de antibióticos en infecciones odontogénicas. *Rev. ADM.* LX (5): 185-192.

Bibliografía

207. Mousques, T., MA. Listgarten & NH. Stoller. (1980). Effect of sampling on the composition of the human subgingival microbial flora. *J. Periodontal Res.* 15: 137-143.
208. Murakami Y., Imai M., Nakamura H., Yoshimura F. (2002). Separation of the outer membrane and identification of major outer membrane proteins from *Porphyromona gingivalis*. *Eur. J. Sci.* 110 (2): 157-62.
209. Nakajima T., Ueki-Maruyama UK., Oda T., Ohsawa Y., Ito H., Seymour GJ., Yamazaki K. (2005). Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. *J. Dent. Res.* 84 (7): 639-643.
210. Neely AL., Löe T., Anerud A., Boysen H. (2001). The natural history of periodontal disease in man. Risk factors for progression of attachment loss in individuals receiving no oral health care. *J. Periodontol.* 72 (8): 1006-1015.
211. Nieminen A., Asikainen S., Torkko H., Kari K., Uitto V., Saxen L. (1996). Value of some laboratory and clinical measurement in the treatment plan for advanced periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 23: 572-581.
212. Nieminen A, Siren E, Wolf J. & Asikainen S. (1995). Prognostic criteria for the efficiency of non-surgical periodontal therapy in advanced periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 22: 153-161.
213. Nisengard R. & Newman (1998). *Oral Microbiology and Immunology*. 2nd ed., W.B. Saunders Company. USA.
214. Noak B., Genco RJ., Trevisan M., Grossi S., Zambon JJ., De Nardin. (2001). Periodontal infections contribute to elevated C-reactive protein level. *J. Periodontol.*:72: 1221-1227.
215. Noguero Rodríguez B, Liébana Ureña J, Sanz Alonso M, Herrera González D, Mesa Aguado F. (2002). Microbiología Periodontal y Periimplantaria. Cap. 55. En: Liébana-Ureña J., Microbiología Oral. 2^a ed. *MacGraw-Hill Interamericana*. Madrid, pp. 571-596.
216. Novaes AB Jr., Novaes A., Bustamanti A., Villavicencio B., Muller E., Pulido J. (1999). Supportive periodontal therapy in South America. A

Bibliografía

- retrospective multi-practice study on compliance. *J Periodontol.* 70: 301-306
217. Odorus (2006). El surco gingival.. *Científica* VII, 2: 16-26.
218. Offenbacher S. (1996). Periodontal disease: patogénesis. *Ann Periodontol.* 1: 821–878.
219. Offenbacher S., Katz V., Fertik G., Collins J., Boyd D., Maynor G., McKaig R., Beck J. (1996). Periodontal infection as a possible risk factor for pre-term low birth weight. *J. Periodontol.* 67: 1103-1113.
220. Okada H, Shimabukuro Y, Kassai Y, Ito H, Matsuo T, Ebisu S, Harada Y. (1988) The function of gingival lymphocytes on the establishment of human periodontitis. *Adv. Dent. Res.* 2 (2): 364-367.
221. Okada H., Murakami S. (1998). Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 9 (3): 248-266.
222. Orozco A., Gemmell E., Bickel M., Seymour GJ. (2006). Interleukin -1 beta, interleukin-12 and interleukin -18 levels in gingival fluid serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 21: 256-260.
223. Page RC. & Schroeder HE. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.* 34: 235–249.
224. Page RC. Periodontal Disease: A New Paradigm. (1998). *J. Dent. Education.* 62 (10): 812-821.
225. Page RC., Beck JD. (1997). Risk assessment for periodontal diseases. *Internat. Dent. J.* 47: 61–87.
226. Papapanou PN., Neiderud AM., Sandros J, Dahlén G. (2001) Interleukin -1 gene polymorphism and status. *J. Clin Periodontol.* 28: 389-396.
227. Papapanou PN. (2005). En: Periodontología Clínica e Implantología Odontológica Lindhe J. 4a. ed.. *Editorial Médica Panamericana*, Buenos Aires, Argentina.

Bibliografía

228. Pihlstrom BL. (2001) Periodontal risk assessment, diagnosis and treatment planning. *Periodontol 2000*. 25: 37-58
229. Pihlstrom BL., B. Michalowicz., NW. Johnson (2005). Periodontal disease. *Lancet* 366: 1809–1820.
230. Preshaw PM., Lauffart B., Zak E., Jeffcoat M.K., Barton I. & PA. Heasman. (1999) Progression and treatment of chronic adult periodontitis. *J. Periodontol.* 70 (10): 1209-1220.
231. Preiss DS., Meyle J. (1994). Interleukine -1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J. Periodontol.* 65: 423-428.
232. Quantikine® Human IL-1 β Immunoassay. For the quantitative determination of human interleukin 1 beta (IL-1 β) concentrations in cell culture supernate, serum, and plasma. Manual User. USA.
233. Radvar M, Pourtaghi N. & Kinane DF. (1996) Comparison of 3 periodontal local antibiotic therapies in persistent periodontal pockets. *J. Periodontol.* 67: 860-965.
234. Rasmussen L., Hänström L., Lerner UH. (2000) .Characterization of bone resorbing activity in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis. *J. Clinical Periodontol.* 27: 41-52
235. Rawlinson A, Duerden BI. & Goodwin L. (1993) Effect of root planning on the distribution of microorganism at adult sites. *European J. Prosth & Rest. Dentis.* 1: 103-110.
236. Rawlinson A., Dalati MHN., Rahman S., Walsh TF., Fairclough (2000) AL. Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J. Clinical Periodontol.* 27: 738-743.
237. Reinhardt RA., Masada MP., Johnson GK., DuBois LM., Seymour GJ, Allison AC. (1993). IL-1 in gingival crevicular fluid following closed root planning and papillary flap debridement. *J. Clinical Periodontol* 20: 514-519.
238. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, DuBois LM, Kornman KS, Choi JI, Lalkawarf KL, Allison AC. (1993). Gingival fluid IL-1 and

- IL-6 levels in refractory periodontitis. *J. Clinical Periodontol.* 20: 225-231.
239. Renvert S., Dahlén G. & M. Wikström. (1996). Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. *J. Periodontol.* 67: 562-571.
240. Reynolds JJ, Meikle MC. (1997). Mechanisms of connective tissue destruction. Importance of the balance of metalloproteinases and inhibitors in tissue destruction and implication for human periodontitis and its treatment. *Periodontol 2000.* 14: 144-57.
241. Riviere GR., Smith SK., Tzagaroulaki E., Kay SL., Zhu X., DeRouen TA. (1996). Periodontal status and detection frequency of bacteria at sites of periodontal health and gingivitis. *J. Periodontol.* 67: 109-115.
242. Riviere GR., KS. Smith, N. Carranza., Jr. E. Tzagaroulaki, S L. Kay and M. Dock. (1995). Subgingival distribution of *Treponema denticola*, *Treponema socranskii*, and pathogen-related oral spirochetes: prevalence and relationship to periodontal status of sampled sites. *J Periodontol.* 66: 829–837.
243. Riviere GR. & TA. DeRouen. (1998). Association of Oral Spirochetes from Periodontally Healthy Sites with Development of gingivitis. *J. Periodontol.* 69: 496 – 501.
244. Roberts FA., Hockett RD., Bucy RP., Michalek SM. (1997). Quantitative assessment of inflammatory cytokine gene expression in chronic adult periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.* 12: 336-344.
245. Roitt. Inmunología. Fundamentos. (2003). 10^a ed. Ed. Médica Panamericana, Argentina.
246. Rojas Espinosa O, Arce-Paredes P. (2003). Fagocitosis: mecanismos y consecuencias. Primera parte. *Bioquímica* 28 (4): 19-30.
247. Rojas Espinosa O, Arce-Paredes P. (2004a). Fagocitosis: mecanismos y consecuencias. Segunda parte. *Bioquímica* 29 (1): 18-31.
248. Rojas Espinosa O, Arce Paredes P. (2004b) Fagocitosis: mecanismos y consecuencias. Tercera parte. *Bioquímica* 29 (2): 55-67.

Bibliografía

249. Rosan B., Lamont RJ. (2000). Dental plaque formation. *Microb. infec.* 2: 1599-1607.
250. Rossomanda EF., Kennedy JE., Hadjimichael J. (1990). Tumor necrosis factor alpha in gingival crevicular fluid as a possible indicator of periodontal disease in human *Arch Oral Biol.* 35: 431-434.
251. Safkan-Seppala B., Ainamo J. (1992). Periodontal conditions in insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Periodontol.* 19: 24-29.
252. Sanz M., Lau L., Herrera D., Morillo JM. Silva A. (2004). Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromona gingivalis* and *Tennerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *J. Clin. Periodontol.* 31: 1034-1047.
253. Sasaki H., Hou L., Belani A., Wang CY., Uchiyama T., Muller R., et al. (2000). IL-10, but not IL-4, suppresses infection-stimulated bone resorption *in vivo*. *J. Immunol* 165: 3626-3630.
254. Saxen, L., and S. Asikainen. (1993). Metronidazole in the treatment of localized juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 20: 166-171.
255. Saklatvala, J., Sarsfield, SJ., Townsend, Y. (1985). Pig interleukin-1. Purification of two immunologically different leukocyte proteins that cause cartilage resorption, lymphocyte activation, and fever. *J. Exp. Med.* 162: 1208-1222.
256. Scannapieco FA., Papandonatos GD., Dunford RG. (1998). Associations between oral conditions and respiratory disease in a national sample survey population. *Ann Periodontol.* 3: 251-256.
257. Scannapieco FA., Ho AW., (1999) Association of periodontal disease: analysis of NHANES III. *J. Dent. Res.* 78; Abstr 3491.
258. Schmidt AM., Weidman E., Lalla E. (1996). Advanced glycation end-products (AGEs) induce oxidant stress in the gingival: A potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J. Periodont. Res.* 31: 508-515.

Bibliografía

259. Schroeder, HE., & MA. Listgarten. (1997). The gingival tissue: The architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000*. 13: 91-120.
260. Shlossman M., Knowler WC., Pettitt DJ., Genco RJ. (1990). Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *J. Am. Dent. Assoc.* 121: 532-536.
261. Seymour GJ. (1987). Possible mechanism involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J. Dent. Res.* 66: 2-9.
262. Seymour GJ. (1991) Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol.* 18: 421 – 426.
263. Seymour GJ., Gemmell E. (2001). Cytokines in periodontal disease: where to from here? *Acta Odontol. Scand.* 59: 167 – 173.
264. Shiloah J., Patters MR., Dean JW 3rd., Bland P., Toledo G. (1997). The survival rate of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromona gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* following 4 randomized treatment modalities. *J. Periodontol.* 68: 720-728.
265. Simonson, LG., P.J. Robinson, RJ. Pranger, ME. Cohen, and H.E. Morton. (1992). *Treponema denticola* and *Porphyromona gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. *J. Periodontol.* 63: 270-273.
266. Slots-Taubman. (1992). Contemporary Oral Microbiology and Immunology. Edit. Mosby- Year Book, pp. 267-273; 425-443; 542-553.
267. Slots J. (1981). Enzymatic Characterization of Some Oral and Nonoral Gram-Negative Bacteria with the API ZYM System. *J. Clinical Microbiol.* 14: 288-294.
268. Slots J. (1982). Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clinical Microbiol.* 15: 606 – 609.
269. Slots J., Genco RJ. (1984). Microbial pathogenicity. Black pigmented species, Capnocytophaga species and Aa in human periiodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J. Dent. Dis.* 63 (3): 412-421.

Bibliografía

270. Smalley JW. (1994) Pathogenic mechanisms in periodontal disease. *Adv Dent Res.* 8(2):320-328.
271. Socransky SS., Haffajee AD. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J. Periodontol* 63 (4suppl): 322-331.
272. Socransky SS., Haffajee AD. (1994 a). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000.* 5: 7 – 25.
273. Socransky., Haffajee A., Cugini M., Smith C. and Kent R. (1998). Microbial complex in subgingival plaque, *J. Clinical Periodontol.* 25: 134-144.
274. Socransky, SS., AD. Haffajee, C. Smith, and S. Dibart. (1991). Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J. Cliical Periodontol.* 18: 766-775.
275. Socransky, SS., Smith, C., Martin, L., Paster, BJ., Dewhirst, FE. Levin, A. E. (1994b). “Checkerboard” DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 17 (4): 788-792.
276. Sorsa, T., T. Ingman, K. Suomalainen, M. Haapasalo, YT. Konttinen, O. Lindy, H. Saari, and VJ. Uitto. (1992). Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast- type interstitial collagenases. *Infect. Immun.* 60: 4491-4495.
277. Sodek J., Overall C. (1992). Matrix metalloproteinases in periodontal tissue remodeling matrix. (Suppl) 352-362.
278. Soder, B., U. Nedlich, and LJ., (1999). Longitudinal effect of nonsurgical treatment and systemic metronidazole for 1 week in smokers and non-smokers with refractory periodontitis: a 5 year study. *J. Periodontol.* 70: 761-771.
279. Stashenko P., Fujiyoshi P., Obernesser MS., Prostack L., Hafajee AD., Socransky SS. (1991). Levels of interleukin 1 β in tissue from sites of active periodontal disease. *J. Clinical Periodontol.* 18: 548-554.

Bibliografía

280. Steffen MJ., Holt SC., Ebersole JL. (2000). *Porphyromona gingivalis* induction of mediator and cytokine secretion by human gingival fibroblast. *Oral Microbiol. Immunol.* 15: 172-180.
281. Stephen K. Harrel & ME. Nunn. (2001). Longitudinal Comparison of the Periodontal Status of Patients with Moderate to Severe Periodontal Disease Receiving No Treatment, Non-Surgical Treatment, and Surgical Treatment Utilizing Individual Sites for Analysis. *J. Periodontol.* 72: 1509-1519
282. Suda T., Udagawa N. (1996). Cell of bone: osteoclast generation. En: Bilezikian JP., Raisz LG., Rodan GA. (eds.). *Principles of bone biology*, Academic Press, San Diego, USA, pp. 87-102.
283. Suwatanapongched P., Laohapand P., Surarit R., Ohmoto Y., Ruxruntham K. (2000). Interleukin – 1beta level in gingival crevicular fluid of patients with active periodontitis. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 18 (4): 201-207.
284. Syed, SA., & WJ. Loesche. (1978). Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque age. *Infect. Immun.* 21: 821-829.
285. Takada K., Fukatsu A., Otake S., Hirasawa M. (2003). Isolation and characterization of hemolysin activated by reductant from *Prevotella intermedia*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 35: 43-47.
286. Takahashi K., Takashiba S., Nagai A., Takigawa M., Mioukai F., Kurihara H., Murayama Y. (1994). Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodontol.* 65: 147-153.
287. Takamatsu N., K. Yano, T. He, M. Umeda & I. Ishikawa. (1999). Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Periodontol.* 70: 574-580.
288. Takayanagi H. (2007). Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nature.* 7: 292-304.

Bibliografía

289. Takeuchi Y., Umeda M., Benno Y., Huang Y. (2001). *Treponema socranski*, *Treponema denticola*, y *Porphyromona gingivalis* are Associated with Severity of Periodontal Tissue Destruction. *J. Periodontol.* 72: 1354-1363.
290. Tanaka S., Murakami Y., Ogiwara T., Shoji M., Seto K., Nagasaki M. & S. Fujisawa (2002). Frequency of reactivity for *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella ssp.* in supra and subgingival plaques, and periodontal clinical parameters according to subject age. *J. Periodontol.* 73: 877-885.
291. Tanner A., Malden M., Macuch P., Murray L. & R. Kent. (1998). Microbiota of health, gingivitis and inicial periodontitis, *J. Clinical Periodontol.* 25: 85-98.
292. Tashenko P., Jandnsi J., Fujiyoshi P. (1998). Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J. Periodontol.* 62: 504-509.
293. Taubman M.A., Kawai T. (2001). Involvement of T- lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 12: 125 – 135.
294. Thomason JM., Seymour RA., Ellis J. et al. (1995). Iatrogenic gingival overgrowth in cardiac transplantation. *J. Periodontol.* 66: 742-746.
295. Tokoro Y., Yammamoto T., Hara K. (1996). IL-1 RNAm as the predominant inflammatory cytokine transcript: correlation with inflammatory cell infiltration into human gingiva. *J. Oral Pathol. Med.* 25: 225-231.
296. Tsai CC., Ho YP., Chen CC. (1995). Levels of interleukin – 1 beta and interleukin – 8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J. Periodontol.* 66: 852-859.
297. Uchida Y., Shiba H., Komatsuzawa H., Takemoto T., Sakata M., Fujita T., Kawaguchi H., Sugai M., Kurihara H. (2001). Expression of IL-1 β

Bibliografía

- and IL-8 by Human Gingival Epithelial Cells in Response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Cytokine*.14 (3):152-161.
298. Van Dyke TE. (2007). Cellular and molecular susceptibilities determinants for periodontitis. *Periodontol 2000*. 45: 10-13
299. Vega-Navarro A., Zambrano-Zaragoza JF., Ruiz de Esparza AO., García-Latorre EG., Arroniz-Padilla S., Jiménez-Zamudio LA. (2006). Asociación entre la periodontitis crónica y la respuesta inmunológica TH2. *Rev. Odontol. Mex*. 10: 69-73.
300. Vrotsos JA., Parashis AO., Theofanatos GD., Smulow JB. (1999). Prevalence and distribution of bone defects in moderate and advance adult periodontitis. *J. Clin Periodontol* 26: 44-48.
301. van Winkelhoff, AJ., CJ. Tjihof, & J. de Graaff. (1992). Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J. Periodontol*. 63: 52.57.
302. Walker DM. (2004). Oral Mucosal Immunology: An Overview. *Ann Acad Med Singapore* 33(Suppl)27S-30S.
303. Walsh MC., Kim N., Kadono Y., Rho J., Lee SY., Lorenzo J., Choi Y. (2006) Osteoimmunology: Interplay Between the Immune System and Bone Metabolism. *Ann. Rev. Immunol*. 24: 33-63
304. Wiebe BC. Putnins EE. (2000). The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology. An Update. *J. Can. Dent. Assoc*. 66 (11): 594 – 7.
305. Wilson, M., Reddi K., & B. Henderson. (1996). Cytokine- inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J. Periodontal Res*. 31: 393-407.
306. Wilton JM., Bampton JL., Griffiths GC., Life JS., Johnson NW., Poer JR., Harrap GC., Critchey P. (1992). Interleukine -1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence o destructive periodontitis. A cross sectional study. *J. Clinical Periodontol*. 19: 53-57.

Bibliografía

307. Wilton JM, Bampton JL, Hurst TJ, Caves J, Powell JR. (1993) Interleukine 1 beta and IgG subclass concentrations in gingival crevicular fluid from patients with adult periodontitis. *Arch. Oral Biol.* 38: 55-60.
308. Weidlich P., Lopes de Souza MA., and Opperman Rui Vicente. (2001). Evaluation of Dentogingival Area During Early Plaque Formation. *J. Periodontol.* 72: 901-910.
309. Weir DM. MD .Handbook of Experimental Immunology. Application of Immunological Methods. Vol. 3, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, USA.
310. Wu YF, Tan C, Zhang JY, Meng S, Guo YH. (2004). Interleukin-1 beta and IL-1 receptor antagonist levels in gingival crevicular fluid and their relationship to clinical indices of periodontitis. *Shuan Da Xue Bao Yi Xue Ban.* 35: 683-686. Abstract.
311. Ximénez-Fyvie, L.A., Haffajee, A.D.,,Socransky, S.S.(2000)(a) Microbial composition of supra and subgingival plaque in subject with adult periodontitis. *J. Clinical Periodontol.* 27: 722-732.
312. Ximénez-Fyvie, L.A, Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (2000b). Comparison of the microbiota of supra – and subgingival plaque in health and periodontitis. *J. Clinical Periodontol.* 27: 648-657.
313. Ximénes-Fyvie, L.A., Haffajee, A.D., Socransky, S.S. (1998). Comparison of the microbial composition of supra – and subgingival plaque in health. Program and Abstracts, 27th Annual Meeting of the AADR, Minneapolis, MN, abs. # 150.
314. Yamamura, M., Wan, X.H., Ohmen, J.D., Uyemura, K., Rea, T.H., Bloom, B.R. (1992). Cytokine patterns of immunologically mediated tissue damage. *J. Immunol.* 149: 1470–1475.
315. Yeng-Tung, A. (2003). The role of acquired immunity and periodontal disease progression. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 14 (4): 237-252.
316. Yoshinari, N., Kawase, H., Mitani, A., Ito M., Sugüshi, S., Matsuloa, M., Shirozu, N., Ihaibara, Y., Bitto, B., Hiraga, M., Arakawa, K.,

Bibliografía

- Noguchi T. (2004). Effects of scaling and root planning on the amounts of interleukin-1 and interleukin -1 receptor antagonist and the mRNA expression of interleukin-1 beta in gingival crevicular fluid and gingival tissue. *J. Periodontol. Res.* **39**: 158-167.
317. Yuichiro, N., Shigeyuki, E. (2000). Identification of Periodontol Disease- Associated Bacteria in the “Plaque – Free Zone”. *J. Periodontol.* **71**: 1319-1326.
318. Zambon, J.J., T. Umemoto, E. De Nardin, F. Nakazawa, Christerson L.A. & R. J. Genco. (1988). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of human periodontal disease. *Adv. Dent. Res.* **2**: 269-274.
319. Zambon, J.J. (1996). Periodontal disease: microbial factors. *Ann Periodontol.* **1**: 879–925.
320. Zee, K.Y., Samaranayake LP. & R. Attstrom. (1996). Predominant cultivable supragingival plaque in Chinese “rapid” and “slow” plaque formers. *J. Clinical Periodontol.* **23**: 1025–1031.

Bibliografía

ANEXOS

ANEXO I

MEDIO REDUCIDO DE TRANSPORTE (RTF)

Las cantidades de las sales se calcularon para 1 L de medio.

Sales: K ₂ PO ₄	0,45g
KH ₂ PO ₄	0,45g
NaCl	0,90g
(NH ₄)SO ₄	0,90g
MgSO ₄	0,18g
EDTA	0,38g
Na ₂ CO ₃	0,40g
Ditiotreitol	0,20g

Procedimiento.

1. Se pusieron las sales en un matraz esterilizado.
2. Se adicionó 1 L de agua destilada estéril y se agitó en dirección hacia arriba y hacia abajo.
3. Se esterilizó el medio con un filtro 0,22 µM y un portafiltro.
4. Se transfirieron alícuotas en viales de 50 mL y almacenó a 4°C.
5. El pH final del medio fue de 7.

SOLUCIÓN SALINA DE FOSFATOS (PBS) 0,1M pH 7,4

Las cantidades de las sales se calcularon para preparar 1 L de medio.

Sales: NaCl	80,0 g
KCl	2,0 g
Na ₂ HPO ₄	9,17 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g

Procedimiento.

1. Se pusieron las sales en un matraz estéril.
2. Se adicionó 1 L de agua destilada y se agitó.
3. Se alicuotaron en viales de 50 mL
4. Se esterilizaron a 121°C con presión de 21 lb por 15 minutos.
5. Se almacenaron a 4°C.

(Cfr. Herrera 1998, Bergey 1994).

ANEXO II

MEDIO DE CULTIVO NO SELECTIVO AGAR – SANGRE

Uso:

Para cultivo de microorganismos anaerobios obligados estrictos, obligados moderados, facultativos, aerotolerantes y microaerofilicos a partir de muestras clínicas, cuenta total de organismos anaerobios en líquidos, entre otros.

Principio:

En la formulación de este medio se tienen dos peptonas y el extracto de levadura que proporcionan la fuente y los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos, el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico, la hemina es el factor de enriquecimiento, la L-cistina hace al medio más nutritivo.

Procedimiento agar-sangre:

1. Se rehidrataron 40 g del medio base para agar sangre en 1 L de agua destilada. Se dejó reposar de 10 a 15 minutos.
2. Se calentó agitando con un agitador magnético hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolver por completo.
3. Se esterilizó en autoclave esta solución a 121°C con presión de 21 lb durante 15 minutos.
4. Se dejó enfriar hasta alcanzar los 45°C y se mantuvo en una parrilla con agitación suave.
5. Se adicionaron 50 mL de sangre de caballo desfibrinada y una solución de hemina- menadiona (25 mL por 2 L), se vertió suavemente evitando formar burbujas.
6. Se vaciaron 20 mL de medio por cada caja de Petri estériles. Cuando el agar se solidificó se incubaron a 37°C en posición invertida durante 24 horas para comprobar su esterilidad se colocaron en posición invertida una noche. Después se conservaron en refrigeración a 4°C para su

posterior utilización envueltas en plástico para evitar pérdida de agua.
(Cfr. Scott 1996, Herrera 1998)

Procedimiento hemina-menadiona:

1. Se disolvieron en un matraz estéril 50 mg de menadiona en 10mL de alcohol etílico absoluto 96°, mezclando con agitador magnético durante algunos minutos.
2. Se disolvieron en un matraz estéril 25 mg de hemina en 5 mL de NaOH (40 g/L). Se mezcló con un agitador magnético hasta homogeneizar la solución.
3. La solución de hemina se vierte en 485 mL de agua destilada y se mezcla a está se adiciona también la solución de menadiona para obtener un volumen final de 500 mL de solución de hemina – menadiona.
4. La solución se esterilizó con un filtro 0,45 µM y un portafiltro. Se transfirieron alícuotas en viales estériles de 50mL y se almacenó a 4°C.

ANEXO III

MEDIO DE SOJA TRIPTICASA BACITRACINA VANCOMICINA. TSBV

(AGAR SELECTIVO)

Procedimiento.

1. Se rehidrataron 40 g de agar soya tripticasa y 1 g de extracto de levadura en 1 L de agua .
2. Se movió la suspensión brevemente con un agitador magnético y se cubrió con una gasa.
3. Se calentó hasta el punto de ebullición mezclando con un agitador magnético durante 10 minutos.
4. Se esterilizó en autoclave a 121°C 21 lb durante 15 minutos.
5. Se dejó enfriar la solución a 45°C y se puso sobre parrilla-mezcladora y se introdujo un agitador magnético en condiciones de esterilidad se le agregan 100 mL de suero de caballo estéril, y se filtró con un sistema de filtro 0,22 µM y un portafiltro en el matraz con la primera solución.
6. Se movió brevemente el matraz que contenía la solución y se le adicionaron las soluciones de antibiótico muy lentamente, utilizando para su esterilización un filtro 0,22µm y un portafiltro primero la vancomicina y por último la bacitracina y se volvió a mover la solución hasta homogenizar.
7. Se vertió 20 mL de medio en cada caja de Petri estériles evitando la formación de burbujas utilizando un mechero. Cuando el agar se solidificó se incubaron en posición invertida en estufa durante 24 horas para comprobar su esterilidad.
8. Se conservaron las placas en refrigeración a 4°C para su ulterior utilización. (*Cfr.* Scott 1996, Herrera 1998).

Solución de Antibióticos

Anexos

Procedimiento.

1. Se disolvieron 5 mg de vancomicina en 5 mL de agua destilada.
2. Se disolvieron 75 mg de bacitracina en 3 mL de agua destilada.

Ambas soluciones se utilizaron inmediatamente después de ser preparada en condiciones de esterilidad y se utilizaron por cada litro de medio de cultivo.

ANEXO IV

PRUEBA DE BANA – INDOL (BI)

N α -Benzoyl-DL-Arginine β -Naphthylamide (BANA)

Esta prueba se realizó a las bacterias que producen pigmento negro u oscuro, de las cuales en ocasiones se requirieron subcultivos con catorce días de incubación.

PREPARACION DE BANA

Procedimiento.

1. Para una concentración de 800 nmol/mL se necesitaron 3,25 mg de BANA
2. Se disolvieron en 10 mL de agua destilada y estéril.
3. Se guardó la solución a 37°C por una noche.
4. Se mantuvo a 4°C hasta su utilización.

REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE LA ACTIVIDAD DE BANA

Procedimiento.

1. Se pusieron 50 μ l de la solución de BANA en los pocillos necesarios según el número de muestra de una placa de ELISA.
2. Se marcó cada con plumón indeleble pozo para su identificación.
3. Se tomó con una asa bacteriológica de metal estéril las colonias de la caja Petri con agar-sangre y se depositaron en los pozos conteniendo la solución BANA.
4. Se depositó cada especie por pozo.
5. La placa se cubrió con Parafilm “M”® Laboratory Film Pechyney Plastic Packaging por un tiempo de 1 hora y evitando ser expuesta a la luz.
6. Si la reacción es positiva se manifiesta un color naranja. Si el líquido es amarillo la prueba es negativa.

PRUEBA DE INDOL

Procedimiento.

Reactivo empleado: Reacción del indol, de Ehrlich. Modificación de Kovacs.

1. Se adicionaron 50µl del reactivo de Ehrlich. Se deja que la reacción se realice por un lapso de 24 horas.
2. Interpretación: Prueba positiva: Un anillo rojo en la superficie del medio o semilíquido.

Prueba negativa: No se produce color en la superficie del medio semilíquido.

Variable (\pm): Un color anaranjado en la superficie del medio debido a desarrollo de escatol, un compuesto metilado que puede ser un precursor de la formación del indol.

MEDIO SEMILÍQUIDO DE SIM

Este medio semilíquido se emplea para las pruebas bioquímicas de indol, ácido sulfhídrico así como movilidad.

Procedimiento.

1. Se rehidrató el medio.
2. Se suspendieron 36 gramos de medio semilíquido SIM en un matraz y se adicionaron 1000mL de agua destilada estéril.
3. Se llevo a punto de ebullición para disolver el medio utilizando un agitador magnético.
4. Se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121°C con una presión de 21 libras.
5. Se alicuotaron 2mL del medio en tubos estériles de ensayo.
6. Se incubaron a 37°C por 24 horas para comprobar su esterilidad.
7. Se mantuvieron a 4°C hasta su utilización.

8. Se inoculó por picadura el microorganismo en estudio con una asa bacteriológica recta de metal estéril en un tubo conteniendo el medio semilíquido de SIM .
9. Se incubo a 37°C por un periodo de siete días.
10. La reacción es positiva al ácido sulfhídrico al manifestarse un color negro en el medio semilíquido.
11. La reacción es positiva al movimiento si se observa el medio semilíquido con una franja turbia.

PRUEBA A LA CATALASA

La prueba a la catalasa es útil para la diferenciación de algunas especies debido a la actividad de esta enzima, dando catalasa positiva o catalasa negativa.

Procedimiento.

1. Se toma muestra con una asa bacteriológica de metal estéril de la caja Petri conteniendo el medio selectivo de TSBV o medio no selectivo Agar-Sangre.
2. Se coloco la colonia muestra sobre un portaobjeto limpio y estéril.
3. Se adiciono una gota de agua oxigenada (H₂O₂) al 3% sobre la muestra.
4. La reacción se observa inmediatamente con la producción de burbujas en aquellas colonias catalasa positiva.

(Cfr. Slots 1981, Ishihara 1992, Mac Faddin 1993, Herrera 1998, Hartroth 1999).

ANEXO V

TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram, descrita hace aproximadamente más de 100 años por Hans Christian Gram, se utiliza con frecuencia para examen microscópico directo de muestra y de cultivo.

La tinción de cristal violeta es una tinción primaria que se une a la pared celular bacteriana después del tratamiento con una solución débil de yodo, lo cual sirve como mordente para la unión del colorante. Algunas especies bacterianas, debido a la naturaleza química de su pared celular, tienen la capacidad de retener el cristal violeta aún después del tratamiento con un decolorante orgánico, como es la mezcla en partes iguales de alcohol etílico al 95% y acetona. Las bacterias que retienen el colorante se observan al microscopio azul/morado y se denominan Gram positivas. Otro tipo de bacterias pierden tinción primaria con el cristal violeta cuando son tratadas con el decolorante, esto es debido a su alto contenido en lípidos en su pared celular. Estas bacterias decoloradas captan la contratinción con safranina y al microscopio se observan de color rojo y se denominan Gram-negativas. (Davis 2003).

Preparación de las soluciones de tinción Gram.

Solución de Cristal Violeta.

Procedimiento.

1. Se disolvieron en un matraz 0,5 g de cristal violeta en 100 mL de agua destilada.
2. Se agitó frecuentemente la solución para garantizar la completa disolución de los ingredientes.
3. Se filtró la solución colorante con papel filtro en un frasco oscuro previamente etiquetado con la fecha del procesamiento.

Solución Yodada de Gram.

1. Se disolvieron en un matraz tapón 1g de yodo (I) en 100 mL de agua destilada.
2. Se adicionó el yoduro potásico (KI) y se agitó para disolver completamente los ingredientes.
3. Se aforó con 200 mL de agua destilada una vez obtenida la solución.
4. Se filtro con papel filtro en un frasco oscuro previamente etiquetado con la fecha del procesamiento.

Solución de Safranina.

1. Se disolvieron en un matraz tapón, 1 g de safranina, 45 en 100 mL de agua destilada.
2. Se agitó frecuentemente la solución para garantizar la disolución de los ingredientes.
3. Se filtró la solución colorante con papel filtro en un frasco oscuro previamente etiquetado con la fecha del procesamiento.

Procedimiento.

1. Se hizo un frotis fino de la muestra y se coloco sobre un portaobjeto
2. Se fijó la muestra en el portaobjeto pasándolo 3 o 4 veces a través de la llama de un mechero Bunsen de manera que el material no sea eliminado durante el procedimiento de tinción.
3. Se colocó el frotis sobre un soporte para tinción y se cubrió esta con solución de cristal violeta.
4. Se dejo el frotis en exposición al cristal violeta durante 60 segundos.
5. Se enjuago con suficiente agua destilada para eliminar el cristal violeta no fijado.
6. Se cubrió la superficie del frotis con solución de yodo durante 60 segundos.

Anexos

7. Se enjuagó aproximadamente durante 10 segundos con solución decolorante alcohol acetona hasta que se elimine toda la solución de cristal violeta.
8. Se cubrió la superficie del frotis con una solución de contra-tinción de safranina durante 60 segundos.
9. Se enjuago con suficiente agua para eliminar la solución de safranina.
10. Se colocó el preparado en posición vertical para que el exceso de agua se elimine y se seque a temperatura ambiente.
11. Se observó al microscopio el frotis teñido con aceite para inmersión con el objetivo 100 X.

(*Cfr.* Mac Faddin 1993, Herrera 1998).

ANEXO VI

6.1 MATERIAL ODONTOLOGICO

- Jeringa hipodermica 5ML PLASTIPAK® B-D®
- Gasa estéril.
- Puntas de papel estéril Periopaper
- Hielera
- Geles para congelar

6.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- ❖ Micro test tubo Eppendorf 1.5 mL
- ❖ Gradilla EPPENDORF® para tubos de 1,5-2mLp/24
- ❖ Caja EPPENDORF® para puntas amarillas
- ❖ Caja ROBBINS SCIENTIFIC® para puntas azules
- ❖ Parafilm “M”® Laboratory Film
- ❖ Vaso de precipitado 600mL KIMAX®
- ❖ Vaso de precipitado 250mL PYREX®
- ❖ Matras Elenmeyer Pirex® No.4980 500mL
- ❖ Matras Elenmeyer Pirrex® No.4980 250mL con tepón No.5
- ❖ Tubo de ensayo de 13x100 Pirex®
- ❖ Tubo de ensayo 14x100 Pirex® con rosca con tapa.
- ❖ Cajas Petri estériles 100x15 SyM Laboratorios®
- ❖ Frasco viales de 100 mL
- ❖ Puntas amarillas
- ❖ Puntas azules
- ❖ Agitador magnético.
- ❖ Protector de pozos: 4 tiras adhesivas.
- ❖ Papel filtro 2 QUALITATIVE WHATMAN LTD®
- ❖ Espátula de plástico Via Medic SI-LAB®.
- ❖ Sistema de filtro CORNING® 250 mL .0,22 µM acetato de celulosa
- ❖ Filtro tipo H.A. 0,45µM MILLIPORE®
- ❖ Filtro tipo GS 0,22µM MILLIPORE®
- ❖ Portafiltro SWINNEX-25 MILLIPORE®
- ❖ Frasco LUX con rosca y tapón.
- ❖ Portaobjetos ELSOL® 76X26 mm.

6.3 MATERIAL DE PAPELERIA

- Cuestionarios para selección de pacientes
- Carta de conformidad de los pacientes.
- Hojas de Historias Clínicas
- Periodontograma
- Hojas para control de placa bacteriana
- Hojas de resultados API ZYM
- Etiquetas adhesivas LESA®
- Cuadernos
- Marcador permanente AZOR®
- Papel aluminio
- Plumón indeleble
- Lápiz # 2
- Goma
- Bolígrafo .

6.3 REACTIVOS

- DL-Dithiotreitol SIGMAN-ALDRICH Co. D-0632.
- KH₂PO₄ TECNICA QUÍMICA S.A.® F-1280
- K₂HPO₄ SIGMA-ALDRICH P-3786
- NaCl J.T.BAKER 3624-01
- (NH₄)₂ SO₄ Alle van Merck ® 40514R
- MgSO₄ J.T.BAKER® 2506
- EDTA SIGMA-ALDRICH Co.® E-6750
- Na₂CO₃ TÉCNICA QUÍMICA S.A.®. 1455
- KCl SIGMA-ALDRICH® P-9333
- Na₂HPO₄ J.T.BAKER® 3822
- NaOH J.T.BAKER® 3722-20
- Agar Soya Trypticasa DIFCO™ 236950
- Suero de caballo filtrado estéril EQUITECH-BIO,INC.®
- Extracto de levadura BIOXON® 155-3
- Vancomicina Hydrochloride SIGMA-ALDRICH Co.® V-2002
- Bacitracina SIGMA-ALDRICH Co® B- 0125
- Agar base sangre Alle van Merck® 10886
- Sangre de caballo desfibrinada HEMO-PROVEEDORES®
- Hemina SIGMA – ALDRICH Co.® H-5533
- Menadiona SIGMA-CHEMICAL Co® M- 5625

Anexos

- BANA Hydrochloride SIGMA-CHEMICAL® B- 4750
- B β -Glucoronidasa SIGMA – ALDRICH Co.® G-7396.
- Alcohol Etilico Absoluto J.T.BAKER 9014-02
- Reactivo de EHRlich Modificación de Kovac HYCEL DE MEXICO®, S.A. DE C.V.
- Cristal Violeta SIGMA-ALDRICH Co.® V-5
- Safranina SIGMA-ALDRICH Co.® S-45
- Yoduro pótasico (KI) SIGMA-ALDRICH Co.® P-2963
- Yodo (I) Resublimado PRODUCTOS QUÍMICOS MONTERREY® Y-I
- Agua HPLC J.T.BAKER®
- Acetona REACTIVO J.T.BAKER®
- Medio SIM BACTO MEDIUM DEHYDRATED DIFCO® 582032
- Diluyente NaCl .99% DIFF3 SYSTEM COULTER DIAGNOSTICS®
- Agua destilada UAM-X
- Sobres de Sistema Anaerobio generadores de Hidrogeno (H₂) + Dioxido de Carbono CO₂ BECTON DICKINSON BBL™ GasPak™ Anaerobic System Envelopes: filtro de papel, tableta de borohydride de sodio, tableta de bicarbonato de sodio y ácido cítrico).
- ❖ Tiras indicadoras para anaerobiosis No.70504 BBL® GasPak®, BECTON DICKINSON®
- ❖ Estuche para ensayo inmunoenzimatico Quantikine® human IL-1 β ; R & D, SYSTEMS.
- ❖ Pozos IL-1 β : 96 posillos de poliestireno (8 hileras con 12 posillos) conteniendo anticuerpos monoclonales de murine contra IL-1 β .
- ❖ Conjugado de IL-1 β : 21mL de anticuerpo polyclonal contra conjugado de IL-1 β para peroxidasa de rábano, con preservativo.
- ❖ Estándar IL-1 β : 1.25 ng de recombinante IL-1 β humano en una base de proteína amortiguadora con preservativo, liofilizada.
- ❖ Diluyente RD1C assay : 6mL de base de proteína amortiguada con Tiras indicadoras para anaerobiosis No.70504 BBL® GasPak® BECTON DICKINSON®
- ❖ Estuche para ensayo inmunoenzimatico Quantikine® human IL-1 β R&D SYSTEMS. Número de Catalogo DLB50
- ❖ Pozos IL-1 β : 96 posillos de poliestireno (8 hileras con 12 posillos) conteniendo anticuerpos monoclonales de murine contra IL-1 β .

Anexos

- ❖ Conjugado de IL-1 β : 21mL de anticuerpo polyclonal contra conjugado de IL-1 β para peroxidasa de rábano, con preservativo.
- ❖ Estándar IL-1 β : 1.25 ng de recombinante IL-1 β humano en una base de proteína amortiguadora con preservativo, liofilizada.
- ❖ Diluyente RD1C assay : 6mL de base de proteína amortiguada con preservativo.
- ❖ Diluyente calibrador RD6C: 21mL de suero animal con preservativo.
- ❖ Concentrado de agua amortiguada: 21mL de solución concentrada de revestimiento amortiguado con preservativo.
- ❖ Color reactivo A: 12.5 mL de peróxido de hidrógeno estabilizado.
- ❖ Color reactivo B: 12.5mL de cromógeno estabilizado (tetrametilbenzidina).
- ❖ Solución de suspensión de la reacción: 6mL de 2N de ácido sulfúrico.
- ❖ Alcohol 96°. GL Sin desnaturalizar
- ❖ Acetona J.T.BAKER® 9006-02
- ❖ Aceite para inmersión SIGMA-ALDRICH Co.® viscosidad tipo A 64287
- ❖ Agua oxigenada H2O2 al 3%
- ❖ API ZYM BIOMÉRIEUX, INC.®
- ❖ Reactivo ZYM A
- ❖ Reactivo ZYM B
- ❖ Cloruro sódico al 0,85%

6.4 INSTRUMENTAL ODONTOLÓGICO.

- Espejo bucal # 5 MARTIN GERMANY®
- Mango para espejo No. 42-728-01 MARTIN GERMANY®
- Explorador EX –L5 RODAX INOX®
- Excavador 1145 POB BECHT®
- Sonda periodontal F-6 SE PGF HU-FRIEDY®

- Sonda periodontal GF/W HU-FRIEDY®
- CK-6 NORDENT®
- Asada Goldman Fox 21 GF/21 HU-FRIEDY®
- Cureta Mc Call 17S/18S MC HU-FRIEDY®
- Cureta Mc Call
- Cureta Gracey
- Portaradiografías
- Pinzas de curación

6.5 INSTRUMENTAL PARA LABORATORIO.

- ❖ Micropipetas de 20 a 200µL Finnpipette Thermolasystems®
- ❖ Micropipetas de 100 a 1000µL Finnpipette Thermolabsystems®.
- ❖ Asa bacteriológica de cristal
- ❖ Asa bacteriológica de alambre.
- ❖ Jeringa de alta Precisión de 1µl HAMILTON ALLTECH ASSOCIATES INC®
- ❖ Gradilla para tubos de ensayo./ 90
- ❖ Gradilla para microtubos Eppendorf /24
- ❖ Mechero BUNSEN MOD.AE-022
- ❖ Pipeta multiple Brinkmann Transferpette™ -8.

6.6 EQUIPO

- Periotron 8000® Oraflow, Inc®
- Agitador-mezclador para tubos y vasos Mistral Mixer Lab-line Instrument. Inc® (Vortex)
- Estufa (Laboratory Equipment UL® REVCO/ LINDBERG ASHEVILLE, N.C).

Anexos

- Jarras de Anaerobiosis SISTEMA GAS – PACK(2.5 litros OXOID Ltd., AnaeroJar™ AG 25)
- Autoclave Industrias MAN_PLAY®
- Lector de Micro placas TIPO 352 LABSYSTEMS MULTISKAN MS®
- Impresora para lector de micro placas FX-870 EPSON®
- Parrilla-mezclador Cimerac 2 BARNSTEAD THERMOLYNE®
- Congelador Modelo ULT 1375-5-A12 REVCO SCIENTIFIC, INC®
- Mechero Bunsen
- Microscopio Óptico Axiolab HBO 50/AL CARL ZEISS®
- Lupa Modelo 561-1 AMERICAN OPTICAL CORPORATION®
- Cabina de Seguridad Biológica Clase II Tipo A/B3 NAUIRE™
- Centrifuga Modelo J.12/8cabezales APARATOS CIENTIFICOS SOLBAT®
- Balanza Granataria capacidad 2Kg HARVAD TRIP BALANCE OHAUS®
- Balanza Analítica GmbH D-7470 Sauter®
- Contador de Colonias LABORATORY COUNTER CLAY ADAMS BECTON DICKINSON.®
- Desecador Completo 160 MM Pirex 7.0 LB13. 2Kg CORNING INC®

ANEXO VII

CALIBRACIÓN DEL PERIOTRÓN® 8000

Para los tres fluidos analizados con el Periotron® en el intervalo de 0,05 a 1,0 μL , se observó que la relación entre las unidades de capacitancia proporcionadas por el equipo y el volumen de cada fluido, tuvo un comportamiento polinomial de 4° orden. Para el caso del agua, el valor de r^2 fue 0,9908. Para el suero humano, el valor de r^2 fue de 0,9885 y para el suero diluido el valor de r^2 fue de 0,9815. El análisis de varianza mostró la existencia de una correlación polinomial significativa entre las variables, con un valor de $p \geq 0,05$. Estos resultados concuerdan con los datos proporcionados por el proveedor del equipo.

Las tres curvas polinomiales fueron a su vez linealizadas mediante la aplicación de logaritmos de base 10, habiéndose obtenido las siguientes expresiones matemáticas:

FLUIDO	EXPRESIÓN	r^2	ECUACIÓN
Agua	$\log y = 2,1577 + \log 0,7845x$	0,9896	A
Suero humano	$\log y = 2,1237 + \log 0,7912x$	0,9942	B
Suero humano diluido	$\log y = 2,1531 + \log 0,7671x$	0,9924	C

El análisis de varianza, mostró la existencia de una correlación lineal significativa entre las variables, con un valor de $p \geq 0,05$, para los tres casos. Estos datos permitieron seleccionar la curva proporcionada por la ecuación C, como la curva de calibración a utilizar con el Periotron® para la determinación de los volúmenes de muestra de FGC contenidos en las tiras de papel para cada paciente con gingivitis o periodontitis crónica.

Anexos

Por otra parte, la curva de calibración de absorbancia versus pg/mL de IL-1 β de la técnica de ELISA, se obtuvo con la siguiente ecuación (tabla 1, con una r^2 de 0,9630).

$$-\log y = -1,7907 + \log 0,5702x \quad (\text{ecuación D})$$

El análisis de varianza, mostró la existencia de una correlación lineal significativa entre las unidades de absorbancia y la concentración de IL-1 β en pg/mL, con un valor de $p \geq 0.05$, tabla 2.

Así pues, al aplicar la ecuación C a los valores de capacitancia del Periotron® obtenidas con las tiras de papel impregnadas de FGC de los pacientes con gingivitis y periodontitis, se determinó el volumen de muestra de este fluido por paciente y con la ecuación D se obtuvo finalmente la concentración de IL-1 β en pg/mL para cada paciente.

Tabla 1. Prueba de t de Student para los parámetros de la ecuación D.

Parámetros				
Parámetro	Estimado	Error estándar	t	Prob > /t/
Intercepto	-1,790706	0,069265	-25,85	0.00000
Log pg/mL	0,570219	0,055848	10,21	0.0005

Tabla 2. Análisis de varianza de la curva de calibración de absorbancia versus pg/mL de IL-1 β de la técnica de ELISA.

Análisis de varianza (ANOVA)				
Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F cal
Modelo	1	0.29739503	0.297395	10,24
Error	4	0.01141115	0.002853	P > F
C Total	5	0.30880617		0,0005

En la tabla 3 se muestran los valores de “t” de Student y en la tabla 4 se muestra el análisis de varianza de una vía.

Tabla 3. Análisis de la “t” de Student de los datos de pg Totales de IL-1 β versus Tratamientos.

Prueba de t de Student		
t de Student	Grados de Libertad	Prob. > /t/
3,11680032	104	0,0024
Asumiendo varianzas iguales		

Tabla 4. Análisis de varianza de los datos de pg totales de de IL-1 β versus tratamientos.

Fuente	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	F calculada
Modelo	1	1,8288	1,8288	9,7174
Error	104	19,5790	0,1882	Prob>F
C total	105	21,4078		0,0024

La tabla del análisis de varianza permite rechazar la hipótesis nula con una significancia de 0,0024, menor a 0.05, es decir existe evidencia de que hay una diferencia estadística significativa entre las medias en respuesta a los tratamientos.