OD
53

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
BIBLIOTECA CENTRAL

TITULO : ALTERACIONES EN LA FAGOCITOSIS DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES EN RELACION A PACIENTES DIABETICOS CON ENFERMEDAD PERIODONTAL

Tesis Para Obtener El Titulo Profesional de CirujanoDentista
Presentado Por

BACHILLER: JORGE RAÚL COLCHADO CARHUAVILCA

LIMA – PERU
1999

20652



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Colchado J. Alteraciones en la fagocitosis de los leucocitos creviculares en relación a pacientes diabéticos con enfermedad periodontal [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 1999.

A Dios el Todopoderoso
que ilumina cada paso de mi vida

A mis Padres, Francisco y Delia,
por su abnegada preocupación
y constante apoyo

A Dilma por su comprensión
y ayuda incondicional.

A mis Hermanos Marco y Gina,
a mi primo Fernando y demás familiares
que me ayudaron en los momentos
más difíciles.

AGRADECIMIENTOS

- A mi Asesor, Dr. Luis Mayta Veliz, Profesor Principal de Periodoncia de la Facultad de UNMSM, por su excelente guía académica, por brindarme su amistad y confianza para la realización de la presente investigación.

- A mi Consultora en Inmunología, Mg. Blga. Libertad Alzamora G., Profesora asociada de Inmunología de la Facultad de Biología de la UNMSM, por brindarme su apoyo ayuda académica y facilitarme las instalaciones del Laboratorio de Inmunología Parasitaria, para la realización de esta Investigación, que sin ello no hubiese sido posible realizarlo.

- A mi Consultor en Endocrinología Dr. Basaldua, Jefe del Servicio de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del HCPNP, por su apoyo desinteresado para la realización de la presente Investigación.

- Al Dr. César Olaya S. Medico Asistente del Servicio de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas del HCPNP, por brindarme su amistad, guía y ayuda desinteresada.

- Al mi Consultor en Periodoncia, Dr. Oscar García Schultz, Jefe del Servicio de Periodoncia del HCPNP por brindarme su amistad, apoyo académico y laboral.

- Al Dr. Carlos Campodónico Reátegui Profesor del Dpto. de Estomatología Bio - Social Facultad de Odontología de la UNMSM, por brindarme su ayuda académica desinteresada en todo momento y por sobre todo ser un gran amigo.

- Al Dr. Ubaldo Fonseca y al Dr. José L. Oré M. Médicos Patólogos Clínicos del Dpto. de Laboratorio HCPNP, por facilitarme las instalaciones de los Servicios de Bioquímica y Microbiología para la realización de los exámenes.

- A todos mis profesores, amistades y Pacientes que de una u otra forma me brindaron su ayuda e hicieron posible la realización de la Investigación

ALTERACIONES EN LA FAGOCITOSIS DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES EN RELACION A PACIENTES DIABETICOS CON ENFERMEDAD PERIODONTAL

INDICE

I.-	INTRODUCCION	6
II.-	MARCO TEORICO	7
	2.1. ANTECEDENTES	8
	2.2. BASES NOSOGRAFICAS	12
	2.2.1. DIABETES	12
	2.2.2. ENFERMEDAD PERIODONTAL	24
	2.2.3. DIABETES MELLITUS - ODONTOLOGIA	33
	2.2.4 SISTEMA FAGOCITARIO	36
	2.2.5. FUNCIONES DE LOS FAGOCITOS - ENFERMEDAD PERIODONTAL	50
	2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	53
	2.4. FOMULACION DEL PROBLEMA	54
	2.5. JUSTIFICACION	54
	2.6. OBJETIVOS	55
	2.7. HIPOTESIS	57
	2.8. OPERACIONALIZACION DE LA VARIABLE	58
III.-	MATERIALES Y METODO	62
	3.1. TIPO DE ESTUDIO	63
	3.2. UNIVERSO Y MUESTRA	64
	3.3. MATERIALES	66
	3.4. METODO	69
	3.4.1. PROCEDIMIENTOS Y TECNICAS	69
	3.4.2. ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS	79
IV.-	RESULTADO	83
	4.1. RESULTADO	84
	4.2. ANALISIS ESTADISTICO	91
V.-	DISCUSION	101
VI.-	CONCLUSIONES	105
VII.-	RECOMENDACIONES	107
IX.-	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	109
	ANEXOS	119
	ANEXO I: INSTRUMENTO	120

I. INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones bucales, son frecuentes en diversos tipos de trastornos sistémicos, siendo el periodonto, el más afectado.

Las enfermedades periodontales presentan etapas de recesión y exacerbación, que tienden a presentarse de acuerdo a la capacidad protectora del huésped; función que está representada por la acción defensiva que realizan los leucocitos, fagocitos, como primera barrera protectora.

Por tal motivo, la presencia de defectos o anomalías en ellos, hace mayor la susceptibilidad a una Enfermedad Periodontal.

Se sabe, que las anomalías de los fagocitos, ocurren en personas con enfermedades sistémicas como la Diabetes Mellitus, en alteraciones locales como la Periodontitis Juvenil Localizada y en formas de Periodontitis de Evolución Rápida, en donde, muchos de los patógenos periodontales poseen factores de virulencia, así como elementos antifagocíticos y leucotoxinas, que trastornan o anulan las reacciones protectoras de los leucocitos, viéndose afectados de manera considerable los tejidos periodontales.

La presente investigación, tuvo como propósito, conocer la existencia de trastornos primarios en la Función Fagocítica de los leucocitos creviculares en pacientes diabéticos con Enfermedad Periodontal.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

En 1975, Tan J.S.- Anderson J.L.- Watanakunakorn [53] realizaron un estudio en pacientes diabéticos, en donde fueron evaluadas las Bacterias Asesinadas Intracelularmente (KICB); expresadas como el porcentaje de la inoculación inicial para 25 sujetos de control normal a 95,4 % (DS = $\pm$ 2,7), para los pacientes diabéticos este KICB fue de 72,8 % (DS = $\pm$ 30,7) Asimismo, se demostró que 11 pacientes tenían una fagocitosis pobre, 03 una KICB alterada y 03 un defecto combinado. Ninguna correlación aparente con infección pudo ser demostrada.

En 1985 , Wierusz – Wijsocka, Wysocki, [56] realizaron un estudio de la Capacidad Bactericida, la Fagocitosis y la Producción de Anión Superóxido de los Neutrófilos (PMNs), en 30 pacientes con Diabetes Insulino Dependientes (IDD) bien controlados y en 50 pacientes con Diabetes No Insulino Dependientes (NIDD) . Las estimaciones fueron adicionalmente hechas en 20 pacientes ancianos sin intolerancia a la glucosa.

Las estimaciones de la capacidad bactericida, fueron realizadas en plasma de control, autólogo, inactivado y activado por zymosano. La fagocitosis de los estafilococos viables no fue cambiada en todos los grupos evaluados. La capacidad bactericida en todos los pacientes diabéticos, fue significativamente reducida.

Esto fue completamente corregible en pacientes con IDD, por la suspensión de las células en plasma activado por zymosano o en plasma control. La mejoría de la capacidad bactericida de los PMNs en pacientes con NIDD en similares condiciones, fue menos distinta.

La producción del anión superóxido en pacientes con IDD fue similar a los valores notados en las personas sanas; en pacientes con NIDD, como también en pacientes ancianos, fue significativamente reducida y

correlacionada con la alteración de la capacidad bactericida. El mecanismo posible de los disturbios o alteraciones no notadas, fue discutido.

Posteriormente, en Octubre de 1990, Shlossman – Knowler – Genco, [47] realizan un estudio para establecer la relación entre Diabetes Mellitus Tipo 2 y la Enfermedad Periodontal, la cual fue evaluada en 2,878 Indios Pima del Suroeste de los E.U.A.

Dos menciones independientes de la Enfermedad Periodontal, la pérdida de adherencia clínica, la adherencia al sondaje y la pérdida de hueso radiográfico; fueron usados para comprobar la prevalencia y severidad de la Enfermedad Periodontal, en sujetos diabéticos y no diabéticos.

En todos los grupos estudiados, los sujetos con Diabetes tenían una mayor prevalencia de la Enfermedad Periodontal, indicando que la **Diabetes** puede ser un **factor de riesgo** para la Enfermedad Periodontal.

En 1991, Matarasso – Cafiero – Bizzani – Nicolo[31] determinaron, una vez descritas las características morfológicas y funcionales de las células fagocíticas, como respuesta, que el huésped es el principal responsable en el establecimiento y evolución de la Periodontitis.

La respuesta fagocítica juega un rol fundamental en la reacción de defensa del huésped, y representa la primera barrera a la penetración de bacterias al tejido periodontal. Además del rol defensivo, las células fagocíticas suelen ser responsables del daño al tejido periodontal como un efecto colateral de su función fagocítica, empeorando la lesión periodontal.

En 1992, Gensini – Modesti – Lapponi [17] remarcan que la Diabetes no debe ser considerada como causa directa de la Enfermedad Periodontal, sino como un factor de promoción sistémico, capaz de producir condiciones apropiadas para los agentes locales que producen la Gingivitis y la Periodontitis.

El problema oral de la Diabetes, es la infección, como cualquiera de las lesiones dermales en el diabético. De hecho, la Enfermedad Periodontal es causada, tanto por bacterias específicas (Bacteroides gingivales, Actinobacillus actinomicetemcomitans) crecientes en la bolsa periodontal, como por productos bacterianos: enzimas histolíticas, endotoxinas y las exotoxinas, que pueden ejercer un efecto directo. La atención particular ha sido dirigida a los neutrófilos y su rol en la defensa antibacteriana.

De hecho, una fagocitosis reducida a leucotaxis e índice de leucocitos, ha sido reportada en los neutrófilos de los diabéticos. El control metabólico cuidadoso fue reportado por la mayoría de los Autores para bajar la incidencia y reducir la severidad de la Enfermedad Periodontal. Esto pues, ha reaccionado al mejoramiento de la función leucocítica y para el cambio en el fluido gingival, que es menos apropiado para el crecimiento bacterial.

En los diabéticos, también los factores locales, tal como el peso disminuido del fluido salival y un flujo salival reducido, parecen jugar un rol importante.

En 1994, Cerda – Vásquez – Malacara [8] realizaron un Estudio Seccional de Corte en 100 pacientes con NIDDM; seleccionándolos en 4 grupos de acuerdo a la edad y el tiempo desde el diagnóstico, con la finalidad de establecer relación con la Enfermedad Periodontal en la Diabetes Mellitus, concluyendo que los años desde el diagnóstico de la Diabetes, son más significantes, que la edad para la severidad de la Enfermedad Periodontal en NIDDM.

Finalmente, en 1998, Grossi – Genco [19] precisan que la Enfermedad Periodontal Severa, permanentemente coexiste con la Diabetes Mellitus Severa, y que la Diabetes es un factor de riesgo para la Enfermedad Periodontal.

Ellos proponen un ciclo de infección – regulación mediada por depleción de la síntesis de citokinas y secreción de estímulos crónicos de

lipopolisacáridos (LPS) y producto de los organismos periodontopáticos que pueden amplificar la magnitud del producto final de la glicación adosada (AGE) mediada por la respuesta operativa de la citokina en la Diabetes Mellitus.

La combinación de estos dos caminos: la Infección y la AGE – mediados por este producto final de la glicación, ayuda a explicar el aumento en la destrucción tisular vista en la Periodontitis Diabética, y cómo, la Infección Periodontal, puede complicar la severidad de la Diabetes y el Grado de Control Metabólico, resultando en una relación obligada de dos vías entre la Diabetes Mellitus y la Infección de la Enfermedad Periodontal.

Este sendero dual propuesto de la destrucción tisular, sugiere que el control de la Infección Periodontal Crónica es esencial para lograr a largo plazo la Diabetes Mellitus.

2.2 BASES NOSOGRAFICAS

2.2.1. DIABETES MELLITUS

A. DEFINICIÓN

Etimológicamente hablando, la Diabetes Mellitus se refiere a la excreción de una gran cantidad de orina dulce como miel. Diabetes es un viejo término que significa sifón, y equivale a diuresis; mellitus significa miel. [25]

La Diabetes Mellitus es esencialmente una insuficiencia de los islotes pancreáticos y de la secreción de insulina. Esta enfermedad crónica, es primariamente, un desorden del metabolismo de los hidratos de carbono, pero manifiesta trastornos múltiples en el metabolismo del organismo. [32]

La Diabetes es una lesión bioquímica, en donde existe un trastorno del metabolismo de los carbohidratos, que se caracteriza por hiperglicemia y glicosuria, y refleja una distorsión en el balance entre la utilización de la glucosa por los tejidos, su liberación por el hígado, y la producción - liberación de hormonas pancreáticas, de la hipófisis anterior y adrenocorticales. Este trastorno metabólico, provoca una disminución en la resistencia del organismo a la infección. [48]

B. ETIOLOGÍA

Se desconoce la causa exacta de la Diabetes Mellitus. Sin embargo, dos factores muy importantes tienen funciones críticas: el genético y el ambiental.

*** Factor Genético:** No se conoce exactamente el mecanismo de transmisión genética, los datos disponibles, no apoyan la tesis de que se

halle involucrado un solo gen mendeliano y que el padecimiento se transmita como carácter autosómico recesivo.

La Diabetes Mellitus, es más común en gemelos monocigóticos y en niños nacidos de progenitores diabéticos. No obstante, la falta de distribución bimodal de la glucemia en la población y la dificultad para hacer una distinción precisa entre los valores normales y los anormales, no permiten establecer que se trata de una simple transmisión mendeliana. En cambio, una herencia multifactorial, que oscila de lo normal a lo muy anormal, parece encajar en el patrón observado en la transmisión de la enfermedad. [25-33]

* **Factores Ambientales:** Entre ellos se encuentran: la edad, exceso de alimentos, estrés (estados de ansiedad, infección, cirugía, traumatismo, enfermedad aguda), medicamentos, virus.

Edad La tolerancia a la glucosa disminuye con la edad y la frecuencia de la Diabetes Mellitus aumenta con la misma, debido a un defecto en la secreción de insulina o en respuesta de los tejidos a la misma.

Obesidad La sensibilidad del tejido adiposo, muscular e hígado a la insulina en los obesos, está disminuida. Una unión defectuosa de la insulina al receptor de la membrana celular, constituye el mecanismo más ampliamente aceptado; la secreción de insulina pancreática aumenta como mecanismo.

Síndrome de Alarma La Diabetes Mellitus puede ser precipitada o exacerbada debido a estrés; tanto la cirugía como la infección, constituyen los mecanismos más comunes que la desencadenan.

Durante el estrés hay mayor secreción de cuatro hormonas que regulan los glucocorticoides que tienden a elevar la glucemia. El **glucagon** y las **catecolaminas**, estimulan la formación de glucosa hepática a partir de

glucógeno, aminoácidos y lactato, y disminuyen la captación de glucosa por los tejidos. Una mayor lipólisis, inducida predominantemente por el glucagon y las catecolaminas, conduce a liberación de ácidos grasos libres, los cuales a su vez, interfieren con la respuesta de los tejidos a la insulina circulante.

Medicamentos Muchos de ellos, pueden empeorar la tolerancia de la glucosa, disminuyendo la secreción o la acción de la insulina:

GLUCOCORTICOIDES	FENITOINA	ANTICONCEPTIVOS ORALES
Diuréticos(Tiacidas) Aspirina	Fenotiacinas	Acido nicotínico

.Virus Se han acumulado pruebas, de que la causa de la Diabetes Mellitus Juvenil, es de origen viral. El desarrollo agudo del síndrome diabético, ha ocurrido, asociado a infección por paperas y virus de la rubeola. Asimismo, a virus coxsackie, principalmente al grupo B tipo 4 y al virus de la encefalomiocarditis. [12]

C. FISIOPATOLOGÍA

El defecto básico de la Diabetes Mellitus, es la disminución en la acción de la insulina secundaria, disminución de la secreción de insulina. Cualquiera que sea el mecanismo, las consecuencias son las mismas.

La primera anormalidad, es una **elevación de la glucemia,** debido a la disminución de la captación de glucosa y mayor gluconeogénesis hepática. Una vez que la concentración de glucemia, excede de 180 mg/ 100 ml,

aparece **glucosuria.** La glucosa es un diurético osmótico, que produce **poliuria** y **polidipsia** como resultado. Por lo tanto, la **deshidratación** y la **hiperosmolaridad**, son hallazgos comunes en pacientes con deficiencia de insulina.

La **proteólisis**, aumentada con movilización de aminoácidos, ocasiona aumento del catabolismo proteico y pérdida de peso, principalmente de la masa muscular; apareciendo **polifagia.**

La **lipólisis** aumentada, lleva a liberación de ácidos grasos libres, que son metabolizados por el hígado a cetonas, con desarrollo de **acidosis.**

Los pacientes con Diabetes Mellitus, están propensos a **desarrollar infecciones**, especialmente **bacterianas.**

En los diabéticos, todos los mecanismos involucrados en la destrucción de bacterias por leucocitos polimorfonucleares, quimiotaxis, fagocitosis y destrucción, son anormales.

Estas alteraciones, son secundarias a hiperglucemia y mejoran con la normalización de la glucemia. [25]

*** Efectos de la Falta de Insulina**

1. Menor utilización de glucosa por las células, con elevación de su concentración en sangre, de 300 hasta 1 200 mg/ 100 ml.

2. Movilización considerable de las grasas de reserva, que significa anomalías del metabolismo de las grasas, y en especial, depósito de lípidos en las paredes vasculares, dando lugar a arterioesclerosis.

3. Escasez de proteínas en los tejidos. [21]

D. SÍNTOMAS

Los primeros síntomas de Diabetes son:

* **Poliuria** Eliminación excesiva de orina, esto se debe, al efecto diurético osmótico de la glucosa, en el túbulo renal.

* **Polidipsia** Ingestión excesiva de agua, debido a la deshidratación provocada por la poliuria.

* **Polifagia** Ingestión exagerada de alimentos. La mala utilización de glucosa por el organismo, provoca **pérdida de peso** y tendencia a polifagia.

* **Astenia** Falta de energía. La astenia parece deberse también, sobre todo, a la pérdida de proteínas del organismo.

E. CLASIFICACIÓN

Los dos tipos principales de Diabetes Mellitus son los tipos 1, tipo 2 [54] diabetes gestacional y otros tipos específicos de diabetes, como las secundarias a enfermedades de páncreas, terapia farmacológica, endocrinopatias, infecciones y desordenes genéticos. [5]

* DIABETES TIPO 1

Llamada antiguamente Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (DMID) es causada por la destrucción de las células beta productoras de insulina en el páncreas. La patofisiología se puede deber a procesos destructivos autoinmunes o vírales. En teoría las células beta son destruidas cuando los sujetos predispuestos genéticamente son sometidos a procesos que desencadenan el evento como una infección viral que induce una respuesta autoinmune destructiva. El inicio es abrupto y la condición puede ser inestable y difícil de controlar. [5]

- **DIABETES TIPO 2**

Conocido antiguamente como Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID) resulta de efectos de la molécula de insulina o por receptores celulares para insulina alteradus y representan un impedimento para la función de la insulina (resistencia a la insulina) más que una deficiencia. Pero, la producción de la insulina puede disminuir luego y puede ser necesario un suplemento de insulina. [5]

Es mucho más frecuente que la Diabetes Tipo 1, representando más del 90% de todos los casos de Diabetes Mellitus. [25]

La Diabetes Tipo 2, se desarrolla con mayor frecuencia, en adultos mayores de 40 años con exceso de peso. Debido a que este trastorno, suele aparecer en etapas avanzadas de la vida, antiguamente, era conocido como Diabetes del Adulto.

Los síntomas clínicos son leves, y los niveles elevados de la glucosa en sangre, suelen controlarse, mediante la dieta, el ejercicio y la pérdida de peso. A veces, es necesario administrar un fármaco antidiabético, que estimulan la secreción de insulina, por las células beta y promueven la captación de insulina por los tejidos corporales. [5]

F. DIAGNÓSTICO

Los principales métodos para diagnosticar la Diabetes Mellitus y medir los niveles de Glucosa Sanguínea han sido la glucosa sanguínea en ayunas (FPG), una combinación de glucosa de ayunas más otra prueba 2 hrs post prandial y el Test de Tolerancia de Glucosa Prueba Oral (OGTT).

Según la Asociación Americana de Diabetes concluyó como diagnóstico de Diabetes Mellitus lo siguiente:

1.- Síntomas de Diabetes (polifagia, poliuria, polidipsia y perdida de peso) más una concentración de glucosa plasmática ≥ 200mg/dl (11,1 mmol/l) ó

2.- FPG ≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/l). Ayuno esta definido como la no ingesta de calorías por lo menos en 8 hrs.

3.- Glicenia ≥ 200 mg/dl 2 hrs al OGTT. Usando una toma de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

Asimismo se considera:

FPG < 110 mg/dl = Glicemia normal en agua

FPG ≥ 110 mg/dl y < 126 mg/dl = IFG (glicemia alternada en agua)

FPG ≥ 126 mg/dl = diagnostico preventivo de DM.

Las categorías correspondientes a la OGTT son:

2 hrs post-toma de glucosa < 140 mg/dl,

2 hrs PG ≥ 140 y 120 mg/dl = IGT

2 hrs PG ≥ 200 mg/dl = Diagnostico Preventivo de DM.

G. ANTECEDENTES NATURALES DE LA DIABETES MELLITUS

La enfermedad, puede visualizarse como un proceso, que empieza en el momento de la concepción y sigue un largo curso a través de varias etapas.

Los sujetos con alto riesgo para desarrollar Diabetes Mellitus, por ejemplo, los nacidos de ambos padres diabéticos, se dice que tienen pre-Diabetes, cuando se demuestran anormalidades en la tolerancia a la glucosa en situaciones de estrés (Diabetes Subclínica) o espontáneamente (Diabetes Latente)

Los pacientes con glucemia elevada, glucosuria, anormalidades macroscópicas en la tolerancia a la glucosa y hallazgos físicos, se clasifican en el cuadro de Diabetes Mellitus Clínica. Posteriormente, las afecciones oculares, cardíacas, renales y del sistema nervioso, causan deterioro clínico y finalmente la muerte. [25]

H. COMPLICACIONES DE LA DIABETES:

*Complicaciones Agudas de la Diabetes

Hipoglicemia Es la disminución brusca de los niveles de glucosa en sangre (glicemia), generalmente menos de 50 mg/ dl

Los síntomas son Palpitaciones, Taquicardia, Temblor, Sudoración, Palidez, Mareos, Sensación de Hambre. Además, Cansancio, Incoherencia, Somnolencia, Confusión, Visión Doble, Convulsiones, Coma.

Las causas son:

- Consumo excesivo de medicamentos hipoglicemiantes.
- Disminución, suspención o postergación de horarios de alimentos.
- Exceso de actividad física.
- Ingesta de medicamentos que potencian medicamentos hipoglicemiantes.

- Enfermedad renal, hepática o endocrina.

El tratamiento se basa en consumo de líquidos azucarados. De ser posible glicemia, debe ir a emergencia y si llega al coma, el tratamiento es intrahospitalario.

Cetoacidosis Es una complicación severa y de manejo en emergencia o UCI. Se caracteriza por hiperglicemia, deshidratación, acidosis.

Los factores precipitantes, son infecciones graves, o enfermedades que cursan con mucho estrés. [25]

Estado Hiperosmolar Es una de las complicaciones frecuentes en diabéticos tipo 2, especialmente en pacientes mayores, con períodos prolongados de descomposición. Se caracteriza por hiperglicemia elevada, deshidratación severa, hiperosmolaridad.

Los factores precipitantes, son enfermedades crónicas, tratamientos con sustancias hiperglicémicas o infecciones. El tratamiento, es intrahospitalario. [25]

***Complicaciones Crónicas de Diabetes**

Micro-Macroangiopatía Es el producto de la hiperglicemia crónica, que produce obstrucción progresiva de las arterias pequeñas (ojos, riñón, nervios), y medianas o grandes (corazón, cerebro, pies)

Retinopatía La Diabetes, es la segunda causa de ceguera en el mundo. Los síntomas son: disminución progresiva de agudeza visual, disminución brusca de visión de un ojo (hemorragias)

Retinopatía no proliferativa: microaneurismas, hemorragias, exudados, etc.

Retinopatía proliferativa: zonas sin irrigación, nuevos vasos, fibrosis, edema de mácula. Catarata, Glaucoma, son alteraciones frecuentes en diabéticos.

El diagnóstico se realiza, con un examen ocular, denominado fondo de ojo. Debe ser evaluado una vez al año. [25]

Neuropatía Es muy frecuente, de difícil diagnóstico. Puede presentarse como: polineuropatía periférica, mononeuropatía. Además, se puede presentar como neuropatía autonómica: cardiovascular, gastrointestinal, genitourinaria. [25]

Pie Diabético Es una lesión, que se presenta como consecuencia de asociación de enfermedades, como micro-macroangiopatía, neuropatía, infecciones, inclusive retinopatía.

Factores de Riesgo: Pies fríos. Disminución de la temperatura. Sequedad de piel. Infecciones (hongos) Heridas. Claudicación. Ardor en los pies, hormigueos. Cambio de la forma del pie. Cambio de color de piel. Ausencia de dolor.

Prevención: Detección del pie con factores de riesgo. Educación sobre uso de calzado y calcetines. Higiene. Evaluación por el podólogo. [25]

I. TRATAMIENTO DE LA DIABETES

Consiste en los siguientes pasos:

***Alimentación del Diabético** Las necesidades de insulina de cada diabético, se calculan, en función de una alimentación standard, que contiene cantidades normales bien controladas de carbohidratos; pues cualquier modificación de la cantidad de los mismos, ingeridos, cambia dichas necesidades.

En la Diabetes de la Obesidad, que se inicia en la madurez, la enfermedad suele controlarse, reduciendo el peso solamente. La disminución de grasa, reduce las necesidades de insulina y el páncreas puede entonces, suministrar la necesaria. [25]

***Control del Diabético en Presencia de Fiebre y al Hacer Ejercicio**

La fiebre, las infecciones graves, etc., muchas veces, aumentan las necesidades de insulina en alto grado; si no se proporciona insulina extra, puede presentarse un Coma Diabético.

Por otro lado, el ejercicio tiene efecto opuesto sobre las necesidades de insulina, que disminuye considerablemente, por debajo de lo acostumbrado.

El ejercicio, tiene un efecto de tipo insulínico.[25]

***Relación entre el Tratamiento y la Arterioesclerosis**

Como las complicaciones de la Diabetes (arterioesclerosis, aumento considerable de la susceptibilidad a las infecciones, retinopatía, cataratas, hipertensión, enfermedad renal crónica), están más estrechamente

relacionadas, con el nivel de lípidos, que con el de la glucosa en sangre, muchas instituciones, especializadas en el tratamiento de la Diabetes, procuran administrar bastante glucosa e insulina, para que la cantidad de lípidos sanguíneos, se tienda a normalizar.

***Tratamiento con Fármacos que estimulan la Liberación de Insulina**

Para Diabetes Leve: Fármacos por vía oral, son los compuestos de sulfonilúrea, principalmente tolbutamida (Orinase) Estos medicamentos, estimulan la producción de insulina en los islotes de Langerhans.

Por razones evidentes, carecen de valor para tratar a los diabéticos graves, pues sus islotes, ya han perdido totalmente, la capacidad de secretar insulina.

***Tratamiento Odontológico** Los incrementos de la glicemia, tienden a repercutir en los tejidos orales: (gíngiva, mucosa, etc); que unidos, a una deficiente higiene oral, agravan el cuadro estomatológico del paciente.

Por tal motivo, es necesario llevar a cabo, controles periódicos de los pacientes diabéticos. En lo que respecta al tratamiento odontológico, el odontólogo tratante, lo realizará, trabajando en coordinación con el endocrinólogo, psicólogo y nutricionista. 22-52

Es importante informar al médico del estado periodontal, y que la presencia de enfermedad periodontal avanzada puede incrementar la resistencia a la insulina y contribuir al empeoramiento del estado diabético. En ocasiones, las infecciones orales pueden poner en peligro la vida del paciente. 35 -55

2.2.2. ENFERMEDAD PERIODONTAL

A. DEFINICIÓN

La enfermedad periodontal no es única, sino que está integrada por una constelación de lesiones, que se presentan en distintos períodos de la vida del individuo, y que son ocasionados, por grupos de bacterias específicas. [6]

Las enfermedades periodontales, son individuo - específicas, es decir, que cada individuo las padece en forma diferente, dependiendo de cual sea el tipo de agresión bacteriana y de cómo se defiende su organismo de dicha agresión. Esto se presenta en función de la edad, situación inmunológica, presencia de enfermedades sistemáticas, etc. [2]

B. CLASIFICACIÓN

La presente clasificación, está basada en la Reunión del Comité de Investigación y Ciencia y Tratamiento de la Academia Americana de Periodoncia, así como el Workshop Europeo de Periodoncia, celebrado en la Localidad Suiza de Ittigen, en Febrero de 1993. [2]

* GINGIVITIS

Es la más común de todas las enfermedades periodontales. Es definida como la inflamación de la encía. Hay considerable evidencia, de que la placa bacteriana, es la causa de gingivitis y que la lesión gingival inflamatoria, no puede ocurrir en ausencia de microorganismos. [2-6-7-16-29]

Las gingivitis han sido clasificadas, dependiendo de sus manifestaciones clínicas, su etiología y asociación con enfermedades sistemáticas, medicamentos y factores sistemáticos o locales en:

1. Gingivitis Marginal Crónica o Asociada a Placa Está caracterizada, por enrojecimiento gingival, sangrado, edema, cambios en el contorno gingival, pérdida de adaptación del tejido al diente y un incremento del flujo del fluido crevicular.

La mayoría de los estudios, cifran la prevalencia de la enfermedad, entre el 40 y 100%.

El desarrollo de la gingivitis, está asociado, a un incremento en la cantidad de la placa bacteriana, pero también, con un cambio en la composición de ésta.

En lugares con salud aparecen cocos Gram positivos y Estreptococos; la flora predominante, muestra un incremento de microorganismos Gram negativos, formas móviles, Actinomices, Fusobacterium nucleatum, Veillonella parvula, Prevotella intermedia y especies de Treponema. [2]

2. Gingivitis Ulcero Necrotizante Aguda (G.U.N.A) Se caracteriza, por presentar signos y síntomas muy agudos: inflamación severa, necrosis y ulceración de la encía interproximal, cráteres capilares, dolor gingival, sangrado espontáneo, malestar general, linfoadenopatías, incremento del flujo salivar, sabor metálico y halitosis.

La prevalencia es del 2% aproximadamente. Parece ser más frecuente, en individuos que consumen alcohol o drogas, o que presentan enfermedades sistémicas. Estudios ultraestructurales, han demostrado, invasión de espiroquetas en el tejido conectivo.

Los microorganismos predominantes, son la Prevotella Intermedia y algunas especies de Fusobacterium.

Esta enfermedad, puede tener episodios de recurrencia con pérdida de hueso alveolar, que es lo que se denomina Periodontitis – Gingivitis Ulceronecrosante Aguda.

3. Gingivitis Inducida por Hormonas Esteroideas Son aquellas gingivitis, que aparecen en la pubertad, en el embarazo y en personas tratadas con hormonas esteroideas.

Se caracterizan por una respuesta exagerada a la placa bacteriana con una intensa inflamación, sangrado, enrojecimiento y en ocasiones, agrandamiento gingival, dando lugar al denominado tumor de embarazo. [2]

4. Agrandamientos Gingivales Más de veinte medicamentos, pueden producir agrandamientos gingivales; de ellos, los más importantes son las hidantoínas, la ciclosporina y la nifedipina, así como los inhibidores de calcio.

Las hidantoínas, estimulan el crecimiento de los fibroblastos y células epiteliales en los cultivos de tejidos. Los agrandamientos, interfieren con la higiene oral, por lo que habitualmente, aparece en ellos, inflamación. [2-6-7]

5. Gingivitis Descamativa Crónica Se caracteriza por un intenso enrojecimiento de la encía, con descamación de las capas más superficiales sólo a la presión por el dedo. La mayoría de estos casos son manifestaciones bucales de dermatosis como el líquen plano, penfigoide benigno de las mucosas, penfigoide bulloso y pénfigo vulgar.

Estas dos últimas enfermedades, deben ser diagnosticadas de forma precoz, por sus serias implicaciones médicas. También pueden ser producidas por reacciones alérgicas. [2]

6. Enfermedades Gingivales Asociadas a Enfermedades Sistémicas

Se ha encontrado una alta prevalencia de gingivitis, asociada a enfermedades sistémicas. Así, en la leucemia aguda, existe agrandamiento gingival, por infiltración de células leucémicas: en más de un 80% de los casos en la leucemia monocítica aguda y en más de un 40% en la leucemia mieloide aguda.

La trombocitopenia, también produce hemorragias gingivales tras el cepillado.

Otras afecciones que cursan con gingivitis y/o agrandamientos gingivales, son el Síndrome de Sturge - Weber, la Agranulocitosis, la Granulomatosis de Wegener y enfermedades combinadas con inmunodeficiencias.

7. Gingivitis Asociada a VIH Clínicamente, se caracteriza por una banda roja lineal en la encía insertada y un aspecto rojo oscuro de la mucosa. La hemorragia espontánea interproximal, es característica de estos pacientes. El dolor no aparece todavía en este estado, pero se presenta antes del paso a periodontitis.

La característica principal de la VIH – G, es la respuesta negativa al tratamiento. A diferencia de otros pacientes con gingivitis, la banda roja situada en el margen gingival, no está relacionada con el acúmulo de placa; de hecho, la placa se acumula en escasa cantidad.

*** PERIODONTITIS**

Consiste en la pérdida de las estructuras del tejido conectivo e inserción del diente apareciendo inflamación gingival. La periodontitis, está caracterizada por la pérdida de inserción, pudiendo existir bolsas

periodontales, las cuales se producen por la migración apical del epitelio de unión y pérdida ósea.

Esta enfermedad se ha clasificado en:

1. Periodontitis del Adulto Afecta a pacientes mayores de 35 años. La distribución en cuanto al sexo es casi similar, aumentando la prevalencia y severidad con la edad. La progresión de la enfermedad es lenta y contínua.

La severidad de la enfermedad, está relacionada con la presencia de placa y cálculo. La función de neutrófilos y linfocitos es normal. Los microorganismos implicados son, en la placa adherida, los Actinomyces israelii, naeslundii y viscosus y, en la placa adherida espiroquetas y bacilos gram negativos.

2. Periodontitis de Comienzo Temprano Este término incluye distintos tipos de periodontitis que afectan a jóvenes adultos, dividiéndose en una forma localizada y otra generalizada.

La forma localizada, también llamada Periodontitis Juvenil Localizada, aparece en adolescentes y jóvenes.

La forma generalizada se presenta en edades un poco más tardías y afecta a todo el periodonto.

La forma de distribución y la rápida destrucción es reconocida por los términos de periodontitis severa o rápidamente progresiva. La Periodontitis Juvenil Localizada, afecta a incisivos y primeros molares, y la Generalizada, a la mayoría de los dientes. Son distinguibles tanto clínica, como radiológicamente.

La Periodontitis Juvenil Localizada, afecta a pacientes jóvenes sin evidencia de enfermedad sistémica y se caracteriza, por la rápida pérdida de

hueso alveolar alrededor de los dientes permanentes. Frecuentemente se presenta en primeros molares e incisivos. La prevalencia es del 0,1 al 15%. Estos pacientes presentan poca placa dental y cálculo.

Las bacterias predominantes son el Actinobacilus actinomicetencomitans, que en ocasiones, se asocia con Bacteroides. Se han encontrado alteraciones en la quimiotaxis de los neutrófilos y una actividad bactericida anormal de los mismos. En la PJL existe un anormal bajo número de receptores para quimioatrayentes y una anormal distribución de la glicoproteína de superficie GP-110.

La Periodontitis Juvenil Localizada, también llamada Periodontitis Rápidamente Progresiva, es considerada a menudo como la enfermedad de adultos jóvenes, pero también puede aparecer cercana a la pubertad. Al contrario que la PJL, es frecuente la acumulación de placa y cálculo.

La prevalencia de la enfermedad es desconocida. El estudio microbiológico presenta anaerobios facultativos, bacilos Gram positivos incluyendo las Porphyromonas gingivalis. Estos pacientes también presentan defectos en la quimiotaxis de los neutrófilos, sin embargo, la proteína GP-110 es normal.

3. Periodontitis/Gingivitis Ulceronecrotizante Aguda (PUNA)

Constituye un estadío evolutivo de la GUNA. Los dos hallazgos más significativos en el diagnóstico, son necrosis y ulceración interproximal e intenso dolor gingival. En los lugares afectados se ha encontrado un alto porcentaje de espiroquetas y Prevotella intermedia. Son factores predisponentes, las infecciones vírales, la malnutrición y el stress.

4. Periodontitis Asociada con Enfermedad Sistémica Se denominan así a las periodontitis que forman parte del Síndrome de Papillon - Lefebre y a la

asociada a neutropenia cíclica, Síndrome de Down, Diabetes Mellitus Tipo 1 y Síndrome de déficit de adherencia de los leucocitos.

La flora asociada a Periodontitis y Diabetes en pacientes jóvenes, está constituída principalmente por Actinobacilus actinomicetencomitans, Capnocytophaga y vibrios anaeróbicos.

La periodontitis, asociada a déficit de adherencia de los leucocitos, es una rara enfermedad que comienza entre la erupción de dientes temporales y permanentes a la edad de 4-5 años; ha sido denominada periodontitis pre-puberal.

5. Periodontitis Relacionada con el VIH La periodontitis VIH (VIH-P) es clínicamente muy similar a la PUNA. Se caracteriza por eritema intenso de encía insertada y marginal, necrosis interproximal, ulceración, dolor "profundo" localizado en el hueso y hemorragia gingival espontánea.

Esta periodontitis, evoluciona con una pérdida ósea rápida y destrucción de los tejidos periodontales, por lo que estos pacientes no presentan bolsas profundas.

Los gérmenes predominantes son similares a los de la periodontitis del adulto. Se ha descrito invasión bacteriana en el tejido conectivo de pacientes con VIH-P.

C. PRUEBAS COMUNES PARA LA MARCACIÓN O DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

Estas pruebas principalmente son:

***Medición de la Profundidad del Surco o Bolsa Periodontal** El único método para evaluar las bolsas periodontales, es una cuidadosa exploración con una sonda periodontal. No se pueden detectar o medir con examen radiográfico. La profundidad de clínica o de sondaje, es la distancia que se

evidencia cuando la sonda penetra en la bolsa; medida desde el margen gingival hasta la adherencia epitelial o fondo de la bolsa. [7-29]

La medición se da en milímetros y expresa el nivel de pérdida de adherencia epitelial de la unión cemento – esmalte (1 – 1,5 mm es la profundidad normal del surco gingival), pero como se dijo, medido desde el margen gingival.

***Nivel de Adherencia Clínica Epitelial** El nivel de adherencia de la base de la bolsa sobre la superficie dentaria, es de mayor significado diagnóstico que la profundidad de la bolsa, pues ésta es sólo la distancia entre la base de la bolsa y el margen gingival.

En cambio, el nivel de adherencia se mide desde la unión cemento – esmalte al fondo o base de la bolsa o surco y ofrece una mejor indicación acerca de la severidad de la enfermedad periodontal. Se determina en milímetros. [7-29-42]

***Sangrado al Sondaje** Es un indicador importante de la inflamación gingival [36], se mide mediante una sonda periodontal roma en el fondo de la bolsa.

Para su medición, es adecuado usar índices como el de Löe y Sillness [7-36] o el de Mühleman y Son. [36-59]

***Movilidad Dental** La movilidad dentaria por encima de su tasa fisiológica (movilidad patológica o anormal), aumenta en la enfermedad periodontal, como resultado de la pérdida de los tejidos de soporte.

La movilidad patológica, es más habitual en la dirección buco – lingual, menos frecuente mesio – distalmente y la vertical sólo ocurre en casos extremos. La valoración se da en el Indice de Miller. [6-29]

***Pérdida o Disminución del Nivel de Hueso Alveolar** Se hace por examen radiográfico (para mayor exactitud y con distorsión mínima se usa la técnica paralela de cono largo)

Se estima la pérdida de la cantidad de hueso perdido a nivel de los tercios óseos o cuartos radiculares de los dientes, indicando en la radiografía el hueso residual. Se utilizan diversos índices y métodos especiales de medida. [36]

D. FASES DE TRATAMIENTO

***Fase Preliminar** Tratamiento de Emergencias Dentales o Periapicales. Tratamiento Periodontal.

Otros

Extracción de dientes insalvables y reemplazo provisional si es necesario, (puede ser postpuesto hasta un momento más conveniente)

*** Fase I de la Terapéutica (Fase Etiológica)** Fisioterapia Bucal (enseñanza) Control de placa. Control de la dieta (en pacientes con caries rampantes) Raspaje y alisamiento radicular. Corrección de factores irritativos restauradores y protésicos. Tallado de caries y restauración (provisional o definitiva, según el pronóstico definitivo para el diente y el lugar de la caries) Tratamiento oclusal. Pequeños movimientos ortodónticos. Ferulización provisional. [6]

Evaluación de la Respuesta a la Fase I Controlando: Profundidad de bolsa e inflamación gingival. Cálculos y placa. Caries. [6]

***Fase II de la Terapéutica (Fase Quirúrgica)** Cirugía periodontal. Tratamiento de conductos.

***Fase III de la Terapéutica (Fase de Mantenimiento)** Citas periódicas, controlando: Placa y cálculos. Estado gingival (bolsas,inflamación). Caries. Oclusión, movilidad dentaria. Otra patología. [6]

2.2.3. DIABETES MELLITUS - ODONTOLOGÍA

A. MANIFESTACIONES BUCALES

Las manifestaciones bucales, probablemente se deben a la deshidratación y exceso de azúcar en los tejidos, que disminuyen su vitalidad y la resistencia a la infección (Rudy - Cohen 1938) [50]

Debido a la disminución de la resistencia tisular, hay una tendencia definida a desarrollar enfermedad periodontal severa, abscesos periapicales y periodontales, así como destrucción tisular severa, cuando existen áreas de la mucosa que han sido traumatizadas e infectadas.[32] Asimismo, la excesiva pérdida de líquido, provoca en los pacientes diabéticos, una queja de tener la boca seca.

Aún la cirugía bucal menor está contraindicada en las personas diabéticas no controladas. Se estima, que es debido a los cambios vasculares en la pulpa dental, en la encía y en el ligamento periodontal. [38-44-45]

B. REACCIONES DE LA MUCOSA EN LA DIABETES

La mucosa bucal en los pacientes diabéticos, parece tener una resistencia reducida al trauma y una respuesta cicatrizal deteriorada. Ante

un trauma mínimo, la mucosa bucal puede resultar en una severa necrosis del tejido, con denudación eventual del hueso subyacente y posible osteomielitis.

Debido a la respuesta cicatrizal anormal, los procedimientos quirúrgicos deben ser emprendidos con gran cuidado, y es esencial la re-evaluación del control de los pacientes.

Una respuesta cicatrizal pobre de la mucosa, deberá siempre marcar una sospecha de la posibilidad de una Diabetes Mellitus No Diagnosticada y tendrá que iniciarse un procedimiento diagnóstico pertinente. [32-44]

C. LESIONES PERIAPICALES EN LA DIABETES

Los pacientes diabéticos tienen una tendencia incrementada a desarrollar lesiones inflamatorias de la pulpa dental (pulpitis) e inflamación periapical, así como granulomas o abscesos agudos, resultantes de la extensión pulpar. La resistencia generalmente disminuida a la infección, explicaría este problema.

Normalmente, los tejidos de la pulpa dental y de la región periapical contigua de muchos casos, resisten la introducción de bacterias a través de una caries y la diseminación de la infección. En personas con Diabetes, el tejido pulpar puede estar atrófico y faltarle la respuesta protectora normal. El absceso alveolar puede también desarrollar una osteomielitis o una celulitis difusa. [32]

D. ENFERMEDAD PERIODONTAL Y DIABETES

Se ha discutido en la literatura, la aparición de alteraciones periodontales condicionadas por la Diabetes, y se ha afirmado, que no existe en el diabético, predisposición a Enfermedad Periodontal. Pero

existen estudios que han demostrado que existe una relación causal. [9-13-29-39-60]

En 1928, Williams sugirió, que deben distinguirse dos tipos de estomatitis diabética: en *Pacientes con Diabetes Aguda* y en *Pacientes con Diabetes Dominada.*

En 1938, Rudy – Cohen, lo clasificaron en: *Diabetes Dominada* (Pacientes adultos: dientes con presencia de grandes depósitos de tártaro supragingival, con periodontitis marginal por falta de higiene y pacientes jóvenes: es común la atrofia alveolar) y *Diabetes No Tratada o Insuficientemente Dominada* (Encías hipertrofiadas, papilas gingivales inflamadas, dolorosas, y que sangran fácilmente. Los dientes presentan movilidad. Con frecuencia se forman abscesos gingivales, y a veces proliferaciones pólipoides que nacen bajo el borde libre de la encía.

Se ha demostrado que los diabéticos infantiles con la enfermedad bien controlada, presentan más gingivitis que los controles correspondientes sin diabetes; ambos grupos tenían los mismos valores de placa.

Se demostró también en adultos, en un estudio longitudinal, que aún pacientes con diabetes controlada, presentan más gingivitis y pérdida de inserción epitelial, que los no diabéticos. [39]

Datos recientes, indican que la función neutrófila alterada, puede ser responsable de la destrucción periodontal acelerada en la diabetes mal controlada. En la Diabetes se ha encontrado una actividad quimiotáctica y fagocitaria disminuida en los leucocitos polimorfonucleares. [14-26-29-53-58]

E. MICROBIOLOGÍA ORAL EN PACIENTES DIABÉTICOS

*DIABETES TIPO 1

Los pacientes insulino - dependientes muestran un alto riesgo de padecer periodontitis como consecuencia de la alteración secundaria de los neutrófilos; destacan en estos casos la presencia de Capnocytophaga spp, P. gingivales y P. intermedia; en menores proporciones se aíslan S. epidermidis, S. saprophyticus, A. actinomycetemcomitans, P. melaninogénica, T. denticola y C. albicans.

* DIABETES TIPO 2

Los pacientes no insulino - dependientes también tienen, aunque en menor grado, riesgo de padecer periodontitis; la microbiota predominante está constituida por **P. gingivalis, P. intermedia, Capnocytophaga spp., F. nucleatum spp, E. corrodens y A. actinomycetemcomitans**. [28-41-61]

2.2.4 SISTEMA FAGOCITARIO

Los mecanismos primarios con los que dispone el organismo para combatir a los agentes infecciosos (bacterias y hongos primordialmente) están constituidos por el ***Sistema y la Función Fagocitarias.*** [46]

Los granulocitos neutrófilos desempeñan un papel básico en la defensa del organismo frente a una variedad de microbios patógenos, entre los que se incluyen bacterias, hongos y parásitos. Son los componentes más rápidos y activos del Sistema Fagocitario. [3-46]

Tanto las pérdidas cuantitativas (granulocitopenias) como las funcionales (granulocitopatías), dejan al organismo, desprovisto de uno de los mecanismos básicos de la defensa anti - infecciosa.

Las pérdidas funcionales en los neutrófilos pueden ocasionar abscesos cutáneos recurrentes, periodontitis, neumonitis, osteomielitis y, en ocasiones, septicemias con riesgo de muerte. [34-46]

Los fagocitos son células de estirpe hematopoyética, cuya principal función es aproximarse, ingerir modificar o destruir partículas extrañas, entre las que figuran los microorganismos patógenos. El conjunto de estos procesos se conoce como ***Función Fagocitaria***. [3-46]

A. TIPOS DE FAGOCITOS

Existen dos grupos de fagocitos con una misión común, pero que difieren en cuanto a la morfología, ciclo vital, distribución y otras funciones. Así tenemos: [46]

***Primer Grupo:** Leucocitos polimorfonucleares, fundamentalmente por los granulocitos neutrófilos.

***Segundo Grupo:** Leucocitos mononucleares, que a su vez comprenden los monocitos circulantes y los macrófagos tisulares.

Los **granulocitos neutrófilos**, son los fagocitos más activos y con mayor grado de especialización. Al examinarlos con el microscopio electrónico, muestran una forma redondeada con proyecciones en la superficie, en forma de microvellosidades o crestas. En el citoplasma, destacan numerosos gránulos, que tienen una gran importancia funcional.

Existen dos tipos de gránulos: los gránulos primarios o azurófilos, que son producidos en la fase de promielocitos, y los gránulos secundarios o específicos, que aparecen con posterioridad. [3-46]

Los **gránulos primarios**, contienen principalmente, mieloperoxidasa, lisozima, hidrolasas ácidas, proteasas neutras y proteínas catiónicas bactericidas.

Los **gránulos secundarios**, contienen lactoferrina, fosfatasa alcalina, lisozima, fosfolipasa A2 y colagenasa, entre otros productos.

Otras organelas citoplásmicas, de gran interés funcional, son el sistema de microtúbulos y microfilamentos situados en la región perinuclear y que constituye el citosqueleto.

En la periferia del citoplasma, existe una retícula de filamentos de actina, susceptibles de polimerizarse por el efecto de una proteína fijadora de la actina. Este sistema actina - proteína fijadora, por la acción de las moléculas de miosina y con el concurso de adenosintrifosfato (ATP), constituye un mecanismo contráctil que ejerce un papel importante en los cambios de forma de la membrana celular y en el desplazamiento del granulocito; junto con el sistema de microtúbulos, constituyen elementos básicos en los procesos de motilidad celular.

La membrana plasmática, además de otras estructuras, contiene receptores para diversos productos, entre ellos para la región Fc de la inmunoglobulina G, para un fragmento del complemento (CR3), la fibronectina y la laminina.

El metabolismo intermediario de los granulocitos deriva de la glucólisis aerobia. La célula utiliza, sobre todo, la glucosa, que metaboliza, en gran parte, por la vía de Embden - Meyerhof. Durante la fagocitosis se estimula el metabolismo por la vía de los hexosamonofosfatos.

El granulocito neutrófilo, es una célula final, producto de la multiplicación y maduración en la médula ósea, de elementos hematopoyéticos pluripotenciales.

Los procesos de diferenciación y crecimiento, tienen lugar, bajo la influencia de factores estimuladores de colonias hematopoyéticas, entre los que se incluyen, entre otros, la interleucina-3 (IL-3), el factor estimulador de colonias granulocíticas y monocíticas (GM-CSF) y el factor estimulador del crecimiento de colonias granulocíticas (G-CSF).

Estos dos últimos tienen, además de una función estimuladora sobre la división y maduración de las células inmaduras, una acción favorecedora sobre las principales funciones del granulocito maduro. El tiempo medio en alcanzar la madurez, a partir del mieloblasto, es de 6 a 10 días.

En la fase de mielocito, se produce la diferenciación de tres poblaciones de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos; y el neutrófilo, es el que alcanza mayor relevancia en la defensa contra los microorganismos patógenos.

La cantidad de neutrófilos circulantes es, aproximadamente, de 3,3 x 10^8 por Kg. de peso corporal y otro tanto constituye el llamado **pool marginal.** El tiempo de tránsito de los granulocitos por la circulación, desde que ingresan procedentes de la médula, hasta que alcanzan los tejidos periféricos, es muy corto (de seis a ocho horas), por lo que la tasa de renovación por día debe ser muy alta (1,5 x 10^9 células/kg. de peso corporal).

Existe una serie de factores, que regulan la salida de los granulocitos, de la médula ósea a la circulación, entre los que figuran, factores del sistema complemento. La salida de la circulación y la distribución a los tejidos, se realiza en función de su capacidad de desplazamiento y en respuesta a una serie de influencias humorales que proceden de los tejidos y fluidos orgánicos. Estas influencias, pueden actuar, aumentando la motilidad celular (quimiocinesis), polarizando la dirección de los movimientos (quimiotaxis), o inmovilizando los granulocitos en determinados lugares (atrapamiento). Junto a estos factores estimuladores quimiocinéticos y quimiotácticos existen otros, que actúan como inhibidores.

La presencia de microbios o productos microbianos en la piel y mucosas, y el constante deterioro de estructuras tisulares, generan sustancias quimiotácticas, que atraen a los leucocitos. La invasión, por parte de microorganismos patógenos, o la formación de focos de necrosis, acelera este proceso.

B. MECANISMOS DE LA FUNCIÓN FAGOCITARIA DEL NEUTRÓFILO

La función básica del granulocito neutrófilo, está encaminada, a la eliminación de una variedad de microbios patógenos para el organismo. Incluye diversos mecanismos:

***Adherencia al Endotelio** Requiere la existencia del complejo glucoproteico CD11/CD18, así como receptores para la fibronectina y los factores que inducen la expresión de moléculas de integrina, como el GM-CSF, interferóngamma, factor de necrosis tumoral, IL-1 y productos bacterianos.

***Quimiotaxis** Es el desplazamiento, orientado en dirección al foco de producción de sustancias quimiotácticas. Algunas de éstas, son de origen exógeno: endotoxinas bacterianas, complejos antígeno - anticuerpo, caseína, exudados bacterianos y polipéptidos sintéticos.

Otros agentes quimiotácticos son endógenos; entre ellos destacan, los derivados activos del complemento sérico C5a, C3a, el complejo C567, C3 convertasa, productos de la degradación de la fibrina (fibrinopéptido B), productos de linfocitos y macrófagos, y algunas enzimas, como tripsina, plasmina y proteasas.

Si bien el mecanismo último de la quimiotaxis, no se conoce bien, en una primera fase, se produce la interacción entre los agentes quimiotácticos y los receptores de la membrana del neutrófilo. Esta interacción, da lugar a

cambios en las concentraciones iónicas con aumento del Ca^{++} intracelular y transformaciones en el citosqueleto, los cuales, producen las alteraciones en la morfología celular antes reseñada y facilitan así la adherencia al endotelio y la migración extracirculatoria.

La polimerización de la actina, da lugar a una transformación que le confiere una actividad contráctil, lo cual, junto con la estructura de los microtúbulos, permite los cambios de forma y la movilidad de la célula y de los gránulos en su interior.

***Opsonización y Reconocimiento** Para que las partículas o microorganismos, sean reconocidos por los fagocitos, es preciso que estén recubiertos de algunas proteínas séricas que se denominan opsoninas. El proceso de recubrimiento, se denomina **opsonización.**

Existen dos tipos de opsoninas: unas ***termostables***, que son anticuerpos del tipo IgG que se unen a los gérmenes por medio de su fragmento F(ab), con lo cual queda libre la fracción Fc, para unirse a los receptores de los granulocitos; las otras son ***termolábiles***, y corresponden a un fragmento del factor de complemento C3, el C3b, que se produce por activación del complemento por la vía clásica o por la vía alternativa.

Unos microorganismos, requieren un tipo de opsonización y otros prefieren el otro. El reconocimiento por parte del fagocito, se efectúa merced a receptores de membrana para las opsoninas.

La activación de estos receptores, pone en marcha, una serie de mecanismos efectores, entre los que se incluyen, el aumento de adhesividad de la membrana del fagocito y la extensión de seudópodos, que tienden a envolver al microorganismo y a formar la vacuola fagocítica.

***Endocitosis o Ingestión** Una vez formados los seudópodos, éstos rodean al microorganismo, al que se adhieren estrechamente; sus extremos se funden y queda formada una vacuola fagocítica o fagosoma.

En este proceso, (como en la motilidad celular orientada), desempeña un papel importante. la interacción de las proteínas contráctiles: actina, proteína fijadora de la actina y miosina.

Durante la endocitosis, una porción de la membrana plasmática, pasa a formar parte del fagosoma. Este proceso, requiere energía en forma de ATP.

Los nucleótidos cíclicos, AMPc (adenosinmonofosfato cíclico) y el GMPc (guanosinmonofosfato cíclico), ejercen un papel modulador, de igual modo que en la quimiotaxis, el primero estimula y el segundo inhibe.

***Degranulación** Al tiempo que se forma el fagosoma, los gránulos citoplásmicos, primero los específicos y luego los primarios, se desplazan en dirección a la vacuola hasta que convergen en ella y, posteriormente, se funden y descargan su contenido en el interior.

Este proceso, se conoce con el nombre de ***degranulación***. Parte de los gránulos, también puede verter su contenido, en el espacio extracelular.

El contenido de los gránulos primarios, formado por mieloperoxidasa, proteínas catiónicas e hidrolasas ácidas, potencia las actividades digestivas y microbicidas de los fagocitos. La secreción de los gránulos secundarios, formada por lisozima, colagenasa y lactoferrina, ayuda a regular la inflamación. En el proceso de degranulación, interviene fundamentalmente, el sistema de microtúbulos, el metabolismo energético y la acción reguladora de los nucleótidos cíclicos.

***Activación del Metabolismo Oxidativo** La activación de la membrana del fagocito por las bacterias opsonizadas o por otros productos, como partículas de látex, complejos antígeno - anticuerpo o compuestos solubles, desencadena una serie de mecanismos que conducen a la destrucción del agente.

El más importante, es la activación del metabolismo del oxígeno. A los pocos segundos del contacto con el microorganismo opsonizado, se produce un tremendo aumento del consumo de oxígeno, más de 100 veces superior al previo a la estimulación.

Este brusco aumento de consumo de oxígeno, da lugar a la producción de una serie de formas reducidas de oxígeno molecular: anión superóxido (O_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidróxilo (OH) y oxígeno singlete ($^1O_2$).Estas son formas activas con actividad bactericida *per se* y de todas ellas, sólo el H_2O_2 es estable.

Paralelamente a esta activación del metabolismo Oxidativo, que ha sido llamada "explosión oxidativa", se comprueba un aumento de la glucólisis, mediante el cortocircuito hexosamonofosfato y un incremento de actividad del metabolismo del glutatión. El consumo de oxígeno, es por lo tanto necesario, para que se den las condiciones óptimas para la destrucción de los patógenos bacterianos y fúngicos más comunes.

A su vez, para que el consumo de oxígeno molecular dé lugar a formas de oxígeno activas en los sistemas microbicidas, se precisa de una serie de reacciones de transferencia de electrones, en estado de alta energía, que se inicia con la incorporación de estos electrones, desde el nicotinamida adenindinucleótido fosfato reducido (NADPH), procedente del metabolismo de la glucosa; hacia el oxígeno molecular, mediante un sistema NADPH - oxidasa, dando lugar a la producción de anión superóxido (O^-_2) y NADP.

Este último, incrementa el metabolismo de la glucosa, mediante el cortocircuito hexosamonofosfato y regenera NADPH. Por la acción de la

superoxidodismutasa, dos moléculas de O^{-}_{2} en presencia de dos moléculas de H_2, dan lugar a la producción de H_2O_2 y OH^{-}. La mieloperoxidasa, procedente de los gránulos primarios, produce la interacción de H_2O_2 con radicales Cl^{-} y da lugar a iones hipoclorito OCl^{-}

Todos estos productos intermedios, de la explosión respiratoria oxidativa, además de poseer una intensa acción bactericida, pueden causar lesiones a las células. Por eso, existen mecanismos protectores en los mismos granulocitos: la catalasa actúa sobre el H_2O_2 y forma H_2O y O_2. El glutatión, también interactúa con el H_2O_2, para formar agua y glutatión oxidado.

La activación del sistema NADPH-oxidasa requiere la integridad de componentes de la membrana y, fundamentalmente, una flavoproteína, que captaría los electrones del NADPH y un citocromo b, que los recibiría de la flavina reducida, para, a su vez, reducir el oxígeno molecular. El citocromo b, se halla formado por dos sub-unidades, cuya presencia conjunta, es necesaria.

***Sistemas Bactericidas del Neutrófilo** Los sistemas bactericidas más potentes son los oxígeno - dependientes. El H_2O_2,así como las otras formas activadas de oxígeno (O_2- , OH^{-} y $^{1}O_2$), tiene, *per se*, una acción bactericida, peró ésta, resulta muy potenciada, en presencia de la mieloperoxidasa; que contiene los gránulos primarios y el halógeno cloro, lo cual, da lugar a la formación de hipocloritos y cloraminas, que son fuertemente bactericidas.

La integridad del sistema H_2O_2-mieloperoxidasa-halógeno, precisa de una función normal de factores ubicados en la membrana, citoplasma y granulaciones; su acción bactericida, fungicida y virucida son muy importantes.

Existen además, otros sistemas oxígeno-independientes, que funcionan paralelamente a los anteriores, y que se ponen en marcha en el fagosoma, tras la degranulación y liberación de productos tóxicos.

Entre los componentes granulares con capacidad bactericida, cabe señalar hidrolasas, que incluyen la lisozima, proteasas ácidas y neutras, glucosidasas, polisacaridasas, sulfatasas y la lactoferrina. Entre las proteasas activas con pH neutro, destacan la captesina G, la elastasa, la azurocidina, las proteínas catiónicas y las defensinas.

C. PROCESO FAGOCITARIO

Durante el proceso de fagocitosis, se requiere de gran cantidad de energía, suministrada por la vía de la glucólisis anaeróbica. Sin embargo, se supone, que para la activación de los microfilamentos de actina y miosina del citoesqueleto del neutrófilo, es indispensable la presencia del ATP, y por tanto, de cierta cantidad de oxígeno. Se requiere también de la presencia de Ca^{++} para desarrollar el proceso de fagocitosis, y se ha observado, que otros cationes no lo substituyen. [37]

Durante el proceso, el neutrófilo interioriza parte de su membrana celular, y por tanto, va perdiendo superficie, posiblemente hasta en 50%. El neutrófilo, tiene capacidad fagocitaria, para incluir en su interior 20-30 microorganismos, de manera que su membrana, se pierde, tanto a través de este fenómeno de interiorización durante el proceso de fagocitosis, como durante el proceso locomotriz. [37]

Para que la bacteria sea fagocitada, se necesita un revestimiento opsonizante, de manera que el neutrófilo la reconozca y la incorpore. Se conocen dos tipos de opsoninas: la IgG1 y la IgG3 y los fragmentos C3 del complemento. La membrana del neutrófilo, tiene receptores para este tipo de anticuerpos, vía la porción Fc de su organización molecular membranosa y receptores para el fragmento opsónico C3. [51]

Los neutrófilos poseen receptores para IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgA1 y no tienen receptores para las inmunoglobulinas.

El neutrófilo, tiene otros receptores celulares en su membrana muy importantes. Se ha encontrado que tiene receptores B-adrenérgicos, receptores para algunas prostaglandinas (p.e. la PGE1) y la histamina, para ciertas linfoquinas y productos del complemento como C3 y C5. También se ha notado, que tiene receptores en su membrana, para mitógenos de tipo concanavalina A.

Además el neutrófilo, contiene tres péptidos citotóxicos antimicrobianos, que pertenecen a la familia de péptidos granulocíticos del mamífero, llamados defensinas, que son posibles de evidenciar[15] con la liberación de gránulos azurófilos. *In vivo*, alcanzan su concentración citotóxica y microbicida más efectiva en los exudados purulentos, fagolisosomas y entre los PMNs reunidos alrededor de la partícula extraña. [43]

Cuando el neutrófilo se encuentra en proceso de fagocitosis, libera prostaglandinas[23] y tromboxano, que son mediadores potentes de la inflamación. Se ha evidenciado que las prostaglandinas en cantidades nanográmicas, promueven la inflamación, particularmente el edema y el eritema.

Se ha encontrado, que el tromboxano A2 y la PGE1, son agentes quimiotácticos para el neutrófilo. El HETE, producto del metabolismo del ácido araquidónico, también es quimiotáctico para el neutrófilo. Por otra parte, la PGE1, inhibe ciertos aspectos del proceso inflamatorio, aumentando los niveles intracelulares de AMPc, decreciendo la degranulación extracelular del neutrófilo.

El lisosoma, tiene una sola capa en su membrana y que tiene gran cantidad de estructuras en micelas. Cualquier agente, que aumente la proporción de micelas en la membrana plasmática, favorecerá la fusión de

membranas; si se unen dos membranas con abundante formación de micelas, la fusión se facilita por interdigitación de las mismas.

El lisosoma se fusiona con la pared del fagosoma. En el fenómeno de fusión de membranas, se requieren cambios estructurales en la organización de las mismas que lo permitan, así como la constitución de la capa bilípida de las membranas, en el proceso de fusión de las mismas y que dicha fusión ocurre si las moléculas lípidas están apropiadamente orientadas.

Se cree que las proteínas de las membranas, intervienen en la fusión de las mismas, inducidas por acción de la lisolecitina, aún cuando la membrana del fagosoma, sintetiza lisolecitina.

La fuente principal de lisolecitina para sintetizar lecitina P, es extracelular, es decir, que su fuente viene de la membrana del neutrófilo que la toma del medio extracelular; la acilación de la lisolecitina ocurre en la membrana plasmática. A los tres minutos de formado el fagosoma, el pH disminuye a 6.5; a los 7.5 minutos, baja a 4.0.

Constituido el fagosoma se sucede el proceso de degranulación; en efecto, los diferentes gránulos del neutrófilo se dirigen hacia el fagosoma; la membrana del lisosoma se fusiona con la del fagosoma y los diferentes gránulos se vierten en su interior. Primero degranulan los específicos y luego los azurófilos. Este es un proceso totalmente endocitoplasmático, ya que en el interior celular, no se aprecian los elementos correspondientes al contenido enzimático de los gránulos y la célula, a medida que va degranulando, va perdiendo sus gránulos, es decir, su citoplasma se va desocupando.

El neutrófilo, va alisando el elemento bacteriano, sin comprometer su organización citoplasmática misma, los gránulos específicos, se fusionan con la vacuola fagocítica en los primeros 30 segundos, después de la fagocitosis. Los gránulos azurófilos, inician su descarga enzimática a los 3 minutos.

La fusión específica de la membrana lisosomal con la del fagosoma, se logra, gracias a su similitud bioquímica. Inmediatamente después que la bacteria, entra en contacto con la membrana del neutrófilo, se inicia la degranulación y la formación del fagosoma.

Otros gránulos, se aproximan al fagosoma, para degranular en el interior de su cavidad. El microorganismo secuestrado dentro del fagosoma, es trasladado a otras zonas del citosol y continúa la degranulación poco a poco, como respuesta al estímulo fagocitario.

Nunca se ha observado degranulación espontánea. La degranulación es prácticamente "explosiva" y en el sitio donde estaba el gránulo se aprecian espacios brillantes vacíos que luego desaparecen; es decir, el gránulo no es reemplazado.

La degranulación se sucede a los 3 minutos de formado el fagosoma, y los gránulos capaces de destruir y digerir el microorganismo, en ningún momento, penetran libremente al citoplasma del neutrófilo.

Al formarse el fagosoma, hay una explosión metabólica en el neutrófilo a los pocos minutos, manifestada por aumento en el consumo de O_2, producción de H_2O_2 y lactato y actividad en el *shunt* del monofosfato; se aprecia una actividad muy marcada de la bomba sodio-potasio y del Ca^{++} representada por entrada y salida rápida de estos electrolitos, cuando a la presencia de la citocalasina B, se suma un factor quimiotáctico.

La salida del K^+ es muy rápida, y en igual forma la entrada de Na^+ y de Ca^{++}. Se aprecia que el Ca^{++}, influye en el proceso de digestión y desintegración de la bacteria en el fagosoma, porque facilita la fusión de las membranas (vesícula lisosoma/fagosoma). Además, activa la locomoción del neutrófilo. Cuando no existe K^+ en el medio, el neutrófilo, es menos sensible a la respuesta quimiotáctica.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
BIBLIOTECA CENTRAL

*** Eliminación Intracelular de Micoorganismos por Neutrófilos**

Los neutrófilos destruyen microorganismos, mediante mecanismos dependientes de oxígeno y otros independientes del mismo.

La actividad antimicrobiana, ***independiente del oxígeno***, se lleva a cabo, mediante un conjunto de sustancias, incluyendo catepsina G, lactoferrina, lisozimas, defensinas, proteasas y algunas proteínas catiónicas que incrementan la permeabilidad bacteriana.

La acidificación del fagosoma, puede tener efecto bactericida o bacteriostático, sobre muchos microorganismos ingeridos.

Los mecanismos de destrucción, ***dependientes de oxígeno,*** se vinculan con la producción de metabolitos tóxicos de oxígeno, como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno. Este último, además de sus propiedades antimicrobianas directas, también opera como cofactor en el sistema antimicrobiano, mediado por la mieloperoxidasa. Asimismo, se estima que el radical hidroxilo y el oxígeno libre, producido mediante este sistema, son tóxicos para muchos microorganismos.

Las sustancias comprendidas en la destrucción microbiana por neutrófilos se encuentran en dos tipos principales de gránulos: primarios o azurófilos, y secundarios o específicos.

Los *primarios o azurófilos*, contienen enzimas microbicidas, como mieloperoxidasa y lisozima; proteinasas neutras, incluyendo elastasa y catepsina G; hidrolasas ácidas, incluyendo beta-glucuronidasa, y proteínas catiónicas.

Los *secundarios o específicos*, contienen la enzima microbicida lisozima, una colagenasa y lactoferrina.[16]

20652

2.2.5 FUNCIÓN DE LOS FAGOCITOS – ENFERMEDAD PERIODONTAL

El control de los microrganismos periodontopáticos, potencialmente, por los neutrófilos del huésped, es crucial en la salud periodontal. Los neutrófilos pueden usar mecanismos oxidativos o no oxidativos, ya sea eliminar bacterias, influenciar en el crecimiento bacteriano o modificar la colonización bacteriana en el periodonto.

La entrega de las sustancias antimicrobianas por los neutrófilos, compromete la actividad del ciclo respiratorio, **la fagocitosis**, la secreción o la citólisis y apoptosis. [35]

A. IMPORTANCIA DEL LÍQUIDO CREVICULAR

La salida de los neutrófilos, desde la médula ósea hasta su destino final en el huésped, aún no está muy clara; no obstante, parece que la pérdida de neutrófilos hacia lugares de infección es importante.[16]

El líquido crevicular o gingival, es rico en material nutritivo y puede favorecer el crecimiento de una gran variedad de bacterias.

Cualquier retraso en la eliminación de ese material, da lugar a la formación de un magnífico ambiente, en el que resultará una rápida colonización microbiana dentro del saco. **En el líquido hay fagocitos, y la fagocitosis es un proceso activo en el saco gingival.** [40]

Las células fagocitarias, neutrófilos y monocitos, se encuentran en continuo movimiento desde los vasos sanguíneos de la encía, hasta la región sulcular.

La persistencia, y constante migración de los leucocitos, son prueba de la existencia de factores quimiotácticos bacterianos en la saliva y en la

placa. Esto se apoya en la observación, de que, cuando los factores solubles de una placa dental, se aplican sobre una encía normal, se nota un aumento de la migración de los leucocitos hacia la región del saco. **La fagocitosis, a cargo de los neutrófilos y monocitos, ocurre en la región sulcular, tanto en la encía sana como en la encía enferma.** [40]

Durante la Gingivitis, se produce una migración de neutrófilos y aumenta en la Periodontitis. [16]

B. EL ROL DE LA ACTIVIDAD FAGOCÍTICA DE LOS FAGOCITOS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Se sabe que la placa bacteriana, tiene responsabilidad etiológica principal en la evolución de la Periodontitis en el huésped. [31] Parece que los microorganismos de la placa que crecen en el borde de la encía, o por debajo, no hacen contacto directo con el epitelio y que hay una barrera formada por leucocitos, principalmente neutrófilos, que se acumulan entre el epitelio del saco y la superficie de la placa microbiana. Esto sugiere, que la presencia de células fagocíticas, en ese sitio, también es un mecanismo de defensa de los tejidos del saco gingival. [40]

La respuesta fagocítica, juega un rol fundamental en la reacción de defensa del huésped y representa la primera barrera de penetración de la bacteria en el tejido periodontal. [31] En forma experimental, se ha observado, que cuando las bacterias se introducen en la región límite del saco gingival normal, se eliminan en un lapso de 24-48 horas. [40] En relación a su rol defensivo, las células fagocíticas pueden ser responsables del daño al tejido periodontal, así como a los efectos colaterales de su función fagocítica, empeorando la lesión periodontal. [31]

Se ha determinado, mediante estudios realizados, que el índice fagocítico y la adherencia de los fagocitos, en pacientes con Periodontitis Rápida Generalizada, son significativamente bajos [20]**; y que la actividad**

fagocítica *in vitro*, de los fagocitos creviculares en pacientes con Periodontitis Juvenil y de Progresión Rápida está disminuída. [49]

2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen diversos estudios sobre Periodontitis, en donde apoyan de manera relevante, la importancia de los fagocitos en la defensa contra infecciones periodontales.

Estudios realizados sobre hallazgos periodontales, en pacientes con Diabetes Mellitus No Dependientes de Insulina (Tipo 2 NIDDM), han indicado un mayor índice de avance de la Periodontitis en sujetos con NIDDM, que en los no diabéticos, en donde la gravedad mayor y la edad más temprana de inicio son los puntos más saltantes a considerar.

La función fagocítica tiene gran importancia en cualquier enfermedad, sobre todo en aquéllas, en donde las infecciones y los fenómenos inflamatorios, tienen un papel capital en la perpetuación de los signos y síntomas, tal como ocurre en los pacientes diabéticos.

La susceptibilidad a infecciones, incluyendo aquellas crónicas del pie, así como la Enfermedad Periodontal grave de inicio temprano con complicaciones de dicha enfermedad (Diabetes Mellitus), hace necesario el pensar de que en dichos pacientes puedan existir alteraciones en la fagocitosis de los leucocitos, y ésto, dificulte su manejo odontológico por la imposibilidad de tener una respuesta adecuada ante las infecciones y/o inflamaciones de la cavidad oral, que en la generalidad de los casos, complican la evolución del tratamiento.

La presente investigación, nos permite extender los estudios sobre las propiedades fagocíticas, *in vitro*, de los Leucocitos Creviculares en los pacientes diabéticos con Enfermedad Periodontal.

2.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿LA DIABETES MELLITUS TIPO 2, PRODUCIRÁ TRASTORNOS EN LA FAGOCITOSIS DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES, QUE CONDICIONARÍAN A UNA ENFERMEDAD PERIODONTAL?

2.5 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

- Las pruebas que evidencian, que los leucocitos son células protectoras claves, contra la infección y/o inflamación; ponen en peligro el concepto de que la función alterada de los Leucocitos, es un factor de riesgo para la producción de Enfermedad Periodontal, y más aún en aquellas entidades sistémicas, en donde la susceptibilidad a infecciones es evidente, como ocurre en la Diabetes Mellitus Tipo 2.

- Los leucocitos (neutrófilos) operan como un arma de dos filos; si bien son en manera primaria protectores, también pueden actuar como células pro-inflamatorias que generan destrucción hística relevante. Por tal motivo, al ser el neutrófilo, una célula crítica en las patologías periodontales, es necesario conocer más sobre su función fagocítica, función principal en lo que respecta a la protección de los tejidos periodontales.

- Al resultar evidente, que la Diabetes es un factor importante de riesgo para la Enfermedad Periodontal, fue posible identificar la existencia de alteraciones en algunos de los pasos de la fagocitosis y obtener la solución, a fin de ofrecer una esperanza a los pacientes diabéticos para impedir enfermedades periodontales en estos pacientes.

2.6. OBJETIVOS

2.6.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar si la Función Fagocitica de los Leucocitos Creviculiares presenta alteraciones, en pacientes diabéticos con Enfermedad Periodontal.

2.6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Determina si existe influencia de la edad y el sexo de los pacientes diabéticos y no diabéticos con la enfermedad periodontal

2.- Determinar la Viabilidad Celular de los leucocitos creviculares en pacientes diabéticos, en relación a los pacientes no diabéticos.

3.- Precisar si existe diferencias en la función fagocítica, ingesta de patogenos propiamente dicha, de los Leucocitos Creviculares en los pacientes diabéticos con los no diabéticos.

4.- Determinar si existen diferencias en lo que respecta a la adherencia sin capacidad fagocítica de los leucocitos creviculares en pacientes diabéticos y no diabéticos.

5.- Precisar si existe relación, en la capacidad fagocitica de los leucocitos creviculares, con la diabétes y la enfermedad periodontal.

6.- Determinar si existe relación en cuanto a la adherencia, sin fagocitosis por parte de los leucocitos creviculares, con la diabétes y la enfermedad periodontal.

7.- Determinar si la Diabetes Mellitus Tipo 2 influye en la función fagocitaria de los leucocitos creviculares, con relación a la enfermedad periodontal.

8.- Precisar si la Diabetes Mellitus Tipo 2 condiciona a una enfermedad periodontal.

2.7 HIPÓTESIS

La Diabetes Mellitus Tipo 2, condiciona a una Enfermedad Periodontal, como consecuencia de una alteración en la Fagocitosis de los Leucocitos Creviculares.

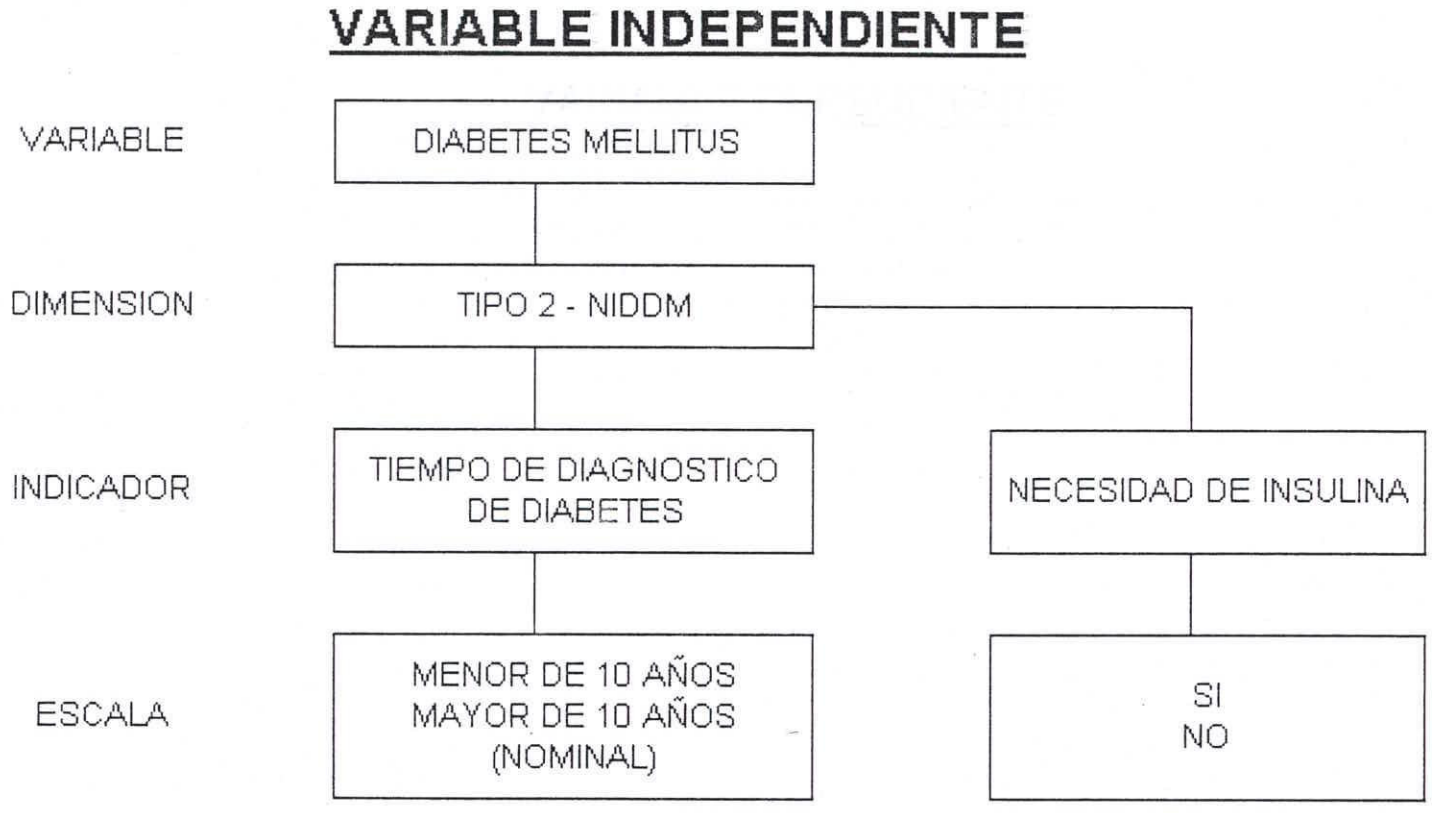
2.7.1. HIPOTESIS OPERACIONAL O DE TRABAJO

La fagocitosis de los leucocitos creviculares se encuentra alterada en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal en comparación con pacientes no diabéticos con enfermedad periodontal.

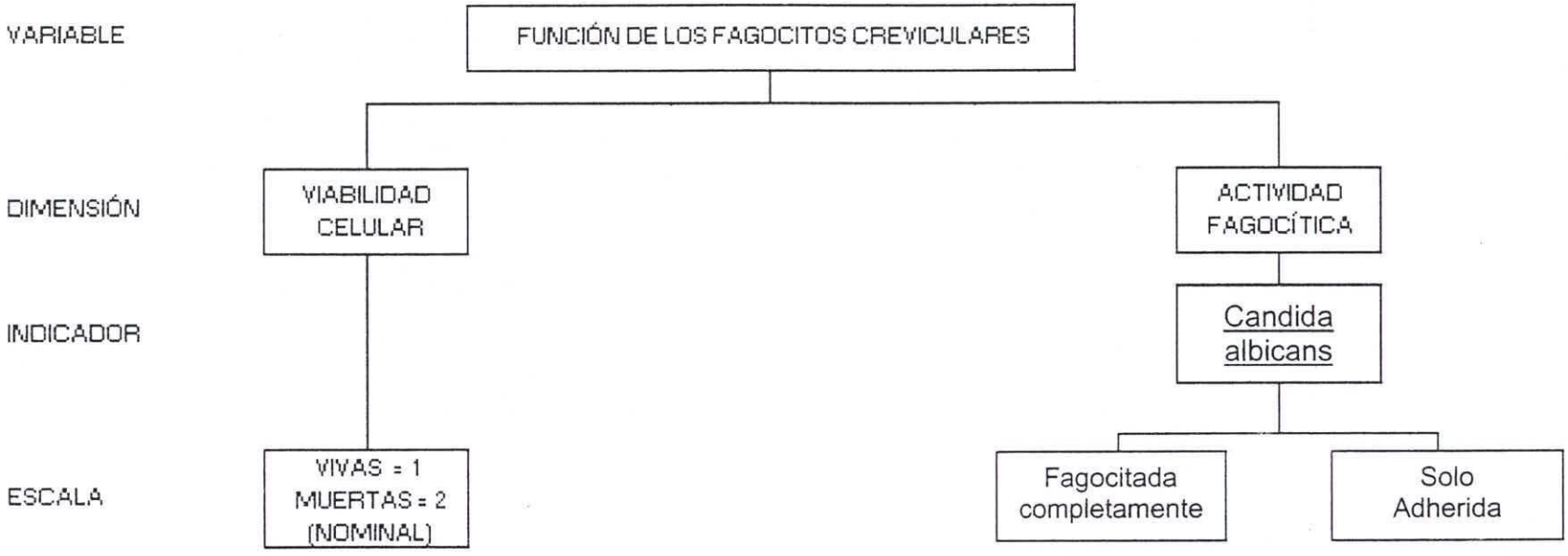
2.7.2 HIPOTESIS NULA

La fagocitosis de los leucocitos creviculares, en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal, no sufre ninguna alteración en realción a los pacientes no diabéticos con enfermedad periodontal.

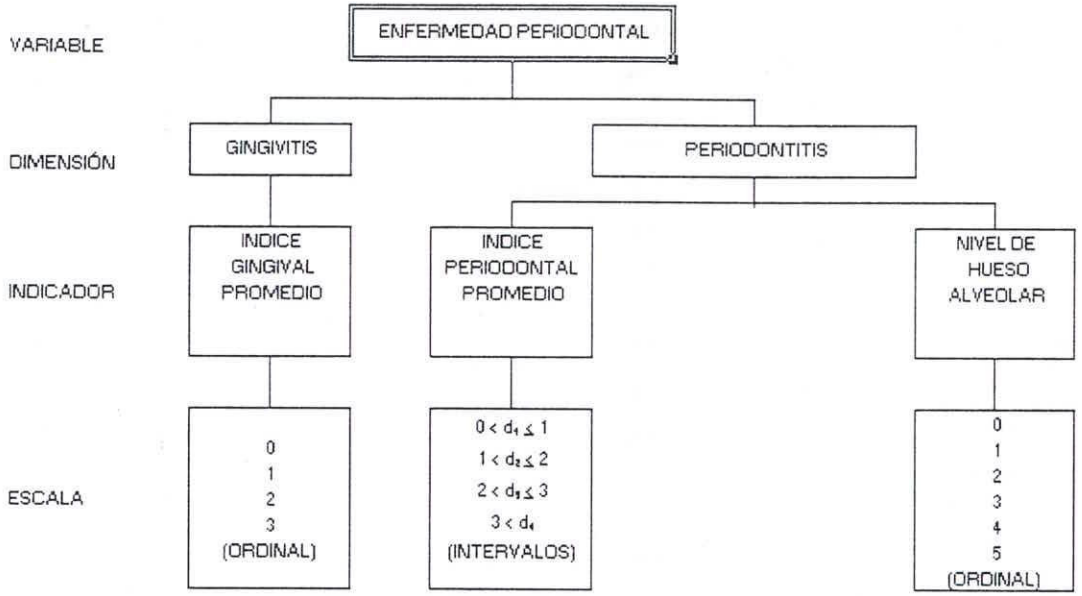
2.8 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES



VARIABLE DEPENDIENTE



VARIABLE INTERVINIENTE



III. MATERIALES Y METODOS

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación fue un estudio de tipo bio – patológico, analítico y transversal.

BIO-PATOLÓGICO, en donde se estudio el comportamiento de los Leucocitos Creviculares, en relación con las entidades patológicas como la Diabetes Mellitus y la Enfermedad Periodontal.

ANALÍTICO, porque estuvo dirigido a contestar la influencia de la Diabetes Mellitus como condicionante a Transtornos en la fagositosis de los Leucocitos creviculares, y éste a su vez, cómo influye condicionalmente a la enfermedad periodontal, comparando la relación causa - efecto entre los grupos de estudio y control.

TRANSVERSAL, porque se estudiaron las variables (Fagositosis de los Leucocitos Creviculares, Diabetes Mellitus, Enfermedad Periodontal) simultáneamente en determinado momento, haciendo un corte en el tiempo, en relación a la forma en que se presentan los fenómenos.

3.2. UNIVERSO Y MUESTRA

3.2.1. UNIVERSO

El universo de la presente investigación estuvo integrada por los pacientes diabéticos con enfermedad periodontal, pertenecientes al Servicio de Endocrinología del HCPNP.

3.2.2. MUESTRA

Se seleccionó una muestra de 42 pacientes diabéticos que cumplieron con los requisitos de la investigación los cuales conformaron el grupo en estudio. Asimismo se seleccionó a 14 pacientes no diabéticos con enfermedad periodontal como grupo control.

3.2.3. CRITERIOS PARA LA SELECCIÓN DE LA MUESTRA DE ESTUDIO

- El estudio se realizó en pacientes cuyas edades oscilen entre 35 y 74 años de edad.
- Los pacientes tuvieron el diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2, precisado por el Servicio de Endocrinología del HCPNP.
- Los pacientes evidenciaron signos y síntomas de: Gingivitis, como cambios en el color, textura, forma de la encía, nivel de adherencia epitelial, etc. Como también podían evidenciar los de Periodontitis, como el nivel de adherencia epitelial, reabsorción ósea, etc.
- Se excluyó a todo paciente diabético con movilidad dental a causa de trauma oclusal.

- No se tomó en cuenta a aquellos pacientes diabéticos, portadores de procesos inflamatorios, que por sí mismos, o por tratamiento de otra entidad sistémica, se encuentren ingiriendo sustancias anti-inflamatorias que puedan alterar la composición del fluido crevicular.

- Ningún paciente recibió terapia antibiótica, en los seis meses previos a la recolección de la muestra.

- No se incluyeron a aquellos pacientes sometidos a tratamiento periodontal, en los seis meses anteriores a la realización de la presente investigación.

- El grupo de control estuvo conformado por los pacientes no diabéticos, con enfermedad periodontal, cuyas edades oscilaron entre 35 y 74 años de edad, pero sin evidencia de alguna entidad sistémica.

3.2.4. UNIDAD DE ANÁLISIS

Estuvo constituida por los leucocitos del fluido crevicular, provenientes de los pacientes diabéticos con presencia de enfermedad periodontal.

3.2.5. UNIDAD DE MUESTRA

La unidad de muestra estuvo conformada por el fluido crevicular de los pacientes diabéticos.

3.3. MATERIALES

3.3.1. MATERIALES Y EQUIPOS

Instrumental y Material Odontológico

a. **Material:**

- 100 pares de guantes.
- 100 cánulas sección descartables
- 100 mascarillas descartables.
- 100 campos operatorios descartables.
- 01 sujetador de campo operatorio.

b. **Instrumental:**

- Raspadores y curetas Hu-Friedly
- 05 exploradores biactivos.
- 03 pinzas porta algodón.
- 03 sondas periodontales calibradas.

c. **Equipos:**

- 01 Unidad Dental completa con luz, escupidera – eyector de saliva.
- 01 negatoscopio.
- 01 esterilizadora de calor seco.
- 01 esterilizadora de calor húmedo (autoclave).

Material - Instrumental - Equipos - Reactivos de Laboratorio

a. Reactivos:

- Suero Fetal de Ternera (FCS) al 20%.
- Azul de Toluidina 0,5%
- Colorante a base de Eosina y 0,2% + Azul de Toluidina 0,4%
- Medio Celular M199 (SIGMA)
- Cepa de Candida albicans ATCC.
- Agar Sabouraud.
- Suero AB Humano.
- Solución Salina Amortiguada con Fosfato (PBS) 1x

b. Materilaes - Instrumentales:

- Laminas escavadas con pozos (Germany)
- 01 mango de Kohl
- 01 aguja y asa de siembra
- 01 espátula de Drigalski
- Mortero y Pilón
- 01 Cámara de Neubauer (2mm).
- Embudo
- Papel de Filtro - Kraft - Aluminio
- 01 Pipeta Convencional de 5ul (Finnpipette – Labsystems)
- Frascos viales, espátula, frascos estériles tapa rosca
- 01 placa de Petry
- Tips de 5-40, y de 40-100 ul.
- 300 tubos AXYGEN de 1,5 ml.

- 01 Cooler con bateria (hielo seco)
- Gradilla para microtubos

c. **Equipos:**

- 01 Microscopio Eléctrico OLYMPUS
- 01 Baño Maria
- 01 Balanza
- 01 microcentrifuga

d. **Otros:**

- Calculadora.
- Cámara Fotográfica.
- Rollo de Películas Fotográficas.

3.3.2. INFRAESTRUCTURA

- Consultorio de Periodoncia del HCPNP
- Laboratorio de Inmunología Parasitaria de la Facultad de Biología UNMSM.
- Secciones de Bioquímica y de Microbiología del Dpto. de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del HCPNP.

3.4 METODO

3.4.1. PROCEDIMIENTOS Y TECNICAS

A. **ETAPA PRELIMINAR**

Esta etapa fue subdividida en 2 fases:

- Fase de Adiestramiento y Dominio de la Técnica Inmunológicas en el Laboratorio Para tal efecto se procedió a preparar el Medio de Transporte Celular a base de Suero Fetal de Ternera al 10%, M199, Sulfato de Estreptomicina al 10% y Bicarbonato de Sodio; este medio de transporte fue almacenado por 0.5 ml. en tubos AXIGEN estériles y conservados a una temperatura de -4°C, para la realización de los lavados creviculares asimismo se preparó Azul de Toluidina 0,5%, lo cual fue almacenado en laminas de vidrio, en pequeñas gotas deshidratadas, para la realización de la viabilidad celular.

El Suero AB Humano fue inactivado (eliminación del complemento) a 56°C por 30 minutos, preparándoselo para la prueba.

La Cepa de C. albicans ATCC fue reactivada en Agar y Caldo Sabouraud Glucosado, a temperatura ambiente por 48 horas; luego se procedio a realizar la siembra , por estrias, en Agar Sabouraud Glucosado (en Placas Petri estériles) a temperatura ambiente por 48 horas. Una vez que crecieron las levaduras viables, estas fueron lavadas por remoción con 5 ml. de PBS mediante una espátula de Drigalski y recolectadas en un tubo estéril; lo cual fue llevado a baño maria a 90°C por 30 minutos con la finalidad de atenuar la C. albicans sin perder su morfología. Luego fueron centrifugadas a 2500 rpm. por

15 minutos y lavadas 2 veces con PBS posteriormente se resuspendieron en PBS mas suero fetal de ternera al 20% obteniendose una concentración final de $5x10^8$ ufc/ml. usando la scala del Nefelómetro de Mac Farland.

Se almacenó en porciones pequeñas en tubos AXIGEN estériles para el experimento en sí.

- Fase de la Prueba Piloto Una vez obtenida la C. albicans ATCC a la concentración deseada se realizo una Prueba Piloto con el fin de estandarizar, el volumen de la muestra, la cantidad de medio de transporte, y número de lavados creviculares. Para tal efecto, se recolecto muestras de fluido crevicular en 6 pacientes diabéticos con enfermedad periodontal los cuales no fueron considerados en la investigación.

B. ETAPA DE SELECCION DE PACIENTES

Esta etapa consistió en seleccionar a los pacientes que ingresaron a la investigación de acuerdo a los parámetros estipulados anteriormente. Para esto se consideró a 42 pacientes diabéticos, seleccionados provenientes del Servicio de Endocrinología del HCPNP comprendidos entre los 35 y 74 años de edad, subdivididos en grupos etáreos de 10 años.

El grupo control estuvo conformado por 14 pacientes no diabéticos con enfermedad periodontal comprendidos entre los 35 y 74 años de edad.

A todos estos pacientes se les pidió la autorización para la prueba.

C. ETAPA CLINICA

DIABETES A todo paciente se le pregunto por su edad y sexo. Asimismo se le consultó sobre la ingesta de antibióticos y/o anti-inflamatorios, con la finalidad de poder seleccionar a los pacientes diabéticos para la investigación. A cada paciente se le realizó controles de glicemia a fin de precisar si se encontraban compensados o no, sobre todo al momento de la toma de la muestra del fluido crevicular.

La necesidad de Insulina también se le fue consultada con el único propósito de evidenciar si se trataba de un paciente diabético no insulino dependiente o de un diabético insulino requiriente. Así como fue necesario saber si estos pacientes concurrían periodicamente al Servicio de Endocrinología, o si sufrían de alguna complicación tardía que pueda interferir en la selección del paciente.

PERIODONTAL: Para el llenado de la Ficha Clínico-Periodontal, se consideró:

Seleccionar 6 piezas dentales, como representativas de toda la dentición. Los dientes seleccionados fueron: primer molar superior derecho, central superior izquierdo, primer premolar superior izquierdo, primer molar inferior izquierdo, incisivo central inferior derecho y primer premolar inferior derecho. [18] En caso de ausencia de alguna de estas, se procedio a considerar la pieza dental que se ubique a distal de la referida.

Las 6 piezas representativas, fueron evaluadas en todos sus sectores (MV-V-DV-ML-L-DL). A estas piezas dentales se les realizo las pruebas indicadoras de enfermedad periodontal:

Indice Gingival (Silness- Loe)$_{50}$, Indice periodontal de (Ramfjord)-nivel de adherencia epitelial, nivel de hueso alviolar (Dunning-Lach)

Indice Gingival (Löe Y Silness)

Determina la severidad y localización de la inflamación gingival, mediante la evaluación de la fragilidad capilar. Obténgase de las piezas dentarias existentes. En cada pieza, tome 04 áreas:

- Por Bucal: Distal, Medio y Mesial. Por Lingual o Palatino: Porción Media.

Grado 0: Encía normal, color rosado coral.

Grado 1: Inflamación Leve: Ligero edema del margen gingival. Ligero cambio de color No hay hemorragia al sondaje.

Grado 2: Inflamación Moderada: El tejido se aprecia brillante y liso. Enrojecimiento moderado y edema. Hemorragia al sondaje.

Grado 3: Inflamación Severa: Enrojecimiento marcado. Edema y/o ulceración. Hemorragia Espontánea.

- Sume los valores de todas las áreas y divídalos entre el número total de áreas registradas (Indice Gingival de cada diente).Luego se

sumaron todos los scores y se dividió entre el número de dientes examinados, obteniéndose el Indice Gingival por persona.

Nivel De Adherencia Epitelial (Nac)

Se va a medir, mediante el índice de Enfermedad Periodontal de Ramfjord (IEP). Se mide, relacionando el nivel de adherencia (NA) a la base del surco o de la bolsa periodontal, con la Unión Amelocementaria (UCE). Así, el objetivo es ubicar la UCE, se desplaza la sonda en sentido coronario hasta la UCE y se mide la distancia del margen gingival (MG), hasta esta unión. La diferencia entre la medida del MG-NA con esta última, es entonces, el Nivel de Adherencia Clínica, la distancia en que la adherencia está apical, con respecto a la UCE. Si existiera retracción gingival, de manera que el margen gingival libre se encuentre hacia apical de la UCE; ésta será la profundidad de la bolsa, más la distancia del MG a la UCE.

Para la evaluación, el IEP dará los siguientes puntajes para el NAC (en 04 sectores de los 6 dientes seleccionados), pero por conveniencia del investigador se modifico el puntaje (sin variar el contenido científico del mismo) así:

PUNTAJE		CRITERIO
RAMFJORD	INVESTIGADOR	
0	0	Cuando la adherencia epitelial se encuentra en la UCE.
4	1	Cuando la adherencia está hasta 3mm hacia apical.
5	2	Cuando la adherencia está de 3 hasta 6 mm o más, hacia apical.
6	3	Cuando la adherencia está a más de 6 mm hacia apical de la UCE.

Una vez hallado el puntaje para cada sector, se promedia y se obtiene el puntaje para cada diente. Posteriormente se sumaron los scores de todos los dientes y se dividió entre el número de dientes examinados (máximo 6), obteniéndose el Indice de enfermedad periodontal por persona.

Una vez obtenidos los promedios del Nivel de Adherencia Epitelial (NAC) a nivel de las piezas dentales seleccionadas, se escogió al más representativo de presentar periodontitis, para el estudio que se realizó.

Nivel De Hueso Alveolar (Nha)

Se estima por examen radiográfico, y se aplican los siguientes criterios, según el ***Indice de Recuento Encía –Hueso (IEH) de Dunning y Leach***:

0 No hay pérdida ósea.

1 Pérdida ósea incipiente o desaparición de la cresta alveolar.

2 Pérdida ósea, de alrededor de un cuarto en la longitud radicular, o formación de bolsa, de un lado no mayor de la mitad de la longitud radicular.

3 Pérdida ósea, de alrededor de la mitad de la longitud radicular, o formación de bolsa, de un lado no mayor de tres cuartos de la longitud radicular; movilidad leve.

4 Pérdida ósea, de alrededor de tres cuartos de la longitud radicular, o formación de bolsa, de un lado hasta el ápice; movilidad moderada.

5 Pérdida ósea completa; movilidad intensa.

Si la movilidad o alteración de la función masticatoria, varía considerablemente, con relación a lo esperado según la pérdida ósea que se observa, la puntuación puede ser modificada en un punto, en más o en menos.

Se le asigna un valor a cada diente estudiado, y después se establece un promedio para cada individuo.

Concluida la recolección de datos mediante los indicadores gingivales y periodontales se procedió a establecer el diagnostico de la enfermedad periodontal que presentaba el paciente diabético como el no diabético (Control).

A continuación se procedió a realizar el tratamiento periodontal que consistió en: Fisioterapia, Destartaje Supra e Infra Gingival en citas periódicas. Una vez concluida esta etapa se procedió a programar al paciente para la toma de muestra del fluido crevicular.

D. RECOLECCIÓN DEL FLUIDO CREVICULAR

Para la realización de esta etapa se le pidió a los pacientes en estudio y controles, que concurrieran al consultorio de periodoncia del HCPNP en el turno de mañana en ayunas. A todo paciente se le indico que se enjuagará la boca con agua limpia por 60 segundos. Seguidamente se aisló la zona, de la pieza dental seleccionada, mediante rollos de algodón y gasa estériles; las áreas fueron cuidadosamente secadas con un chorro de aire comprimido. Seguidamente se procedió a realizar 50 lavados secuenciales del creviculo gingival, con el medio de transporte celular (Suero Fetal de Ternera 20%, M199, etc.), usando una Pipeta convencional graduada en 10 ul. (Finnpipette-Labssystem) los lavados fueron coleccionados en tubos AXIGEN, con tapa rosca hermética, estériles.

E. PREPARACIÓN DE LA SUSPENCIÓN LEUCOCITARIA DEL FLUIDO CREVICULAR

Una vez obtenido el fluido crevicular, en los tubos AXIGEN con el medio de transporte celular, estos fueron llevados en el cooler (con hielo seco) al laboratorio para la realización de la prueba.

La muestra recolectada (200 ul. aprox.) fue centrifuagada a 1000 rpm. por 10 minutos y lavada 2 veces con PBS, en cada pasaje siempre se trabajo con hielo a fin de evitar la lisis celular. Seguidamente se tomo 5 ul. de PBS y se hidrató el Azul de Toluidina 0.5%, lo cual se

adicionó a 5 ul. de suspención leucocitaria en una lamina porta objetos estéril cubierta con una laminilla cubre objetos; realizándose la lectura a microscopio con un máximo de 3minutos para evitar falsas interpretaciones en la viabilidad celular. La lectura se realizo tomando en cuenta que las celulas coloreadas, de azul (por el colorante vital Azul de Toluidina 0.5%) son células muertas y las no coloreados son celulas vivas. El reporte de la viabilidad celular se da mediante el recuento de 100 celulas de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Células viables (no coloreadas)}}{\text{Células viables + Células no viables (coloreadas)}} \text{ x 100 = \% Células viables}$$

Una vez verificada la viabilidad celular se procedió a realizar el recuento celular en la camara de Neubauer, para lo cual se homogenizo la muestra que se encontraba resuspendida en 200 ul. de PBS 1x y se tomó 5 ul. de muestra, mediante una micropipeta y se depositó una gota en la camara la lectura se realizó inmediatamente para evitar la sedimentación celular, evitándose la formación de burbujas debajo del cubre objeto. El recuento celular se realizo en el microscopio a 40x, en los cuatro cuadrados grandes de la camara (dividido en 16 cuadrados pequeños cada uno), omitiendose los que se encuentran sobre los bordes superior e izquierda pero incluyendo los que se encuentran sobre los lados inferior y derecho. El total de células hayadas se dividio entre 4 determinándose la media aritmética (C) aplicándose la siguiente ecuación:

$$\mathbf{X = C \times 10^4 \ Leucocitos/cm^3}$$

Estandarizandose a una concentración de 10^6 Leucocitos /cm^3 para la investigación definitiva.

F. ACTIVIDAD FAGOCITICA

Se tomó 0.2 ul. de C. albicans ATCC atenuadas por calor y se mezcló con 0.2 ul. de suero AB humano (descomplementado) y se llevó a 37°C por 30 minutos para que se produzca la opsonización, en un tubo AXIGEN.

Luego la muestra fue centrifugada a 2000 rpm. por 15 minutos y lavada 2 veces con PBS 1x. a continuación las células de C. albicans ATCC fueron suspendidas en 1 ml. de PBS y suero fetal de ternera al 20%.

- Técnica Propiamente Dicha Una vez preparada la suspensión de C. albicans:

Se toma 10 ul. de esta suspensión (5 x 10^8 C. albicans/ml), atenuadas por calor y opsonizadas, las que fueron agregadas a 50 ul. de suspensión (10^6 leucocitos /ml). Esta suspensión se homogenizo adecuadamente. Se colocaron en una lámina escavada con 3 pozos recubiertos con 50 ul de mezcla en cada pozo. Se colocaron las láminas en una cámara húmeda sin las condiciones de agitación a 37 grados centígrados por 30 minutos. Una vez concluido el tiempo se procedio a retirar las laminas de la cámara uno dejando en el primer pozo el contenido sin alteraciones la cual será examinada a un microscopio eléctrico Olympus a 100x para poder visualizar el evento fagocítico, en fresco, por parte de los leucocitos creviculares hacía C. albicans. En el segundo y tercer pozo la fagocitosis fue detenida elimionando el sobrenadante y cubriendo la lamina con 50 ul. de solución teñida de Eosina Yellow 0.2% + Azul toluidina 0.4 % en PBS siendo la lamina examinada en el microscopio a 100 x. En donde fue posible discriminar las C. albicans adheridas (púrpuras) de las ingeridas (no coloreadas). El porcentaje de los leucocitos con las C.

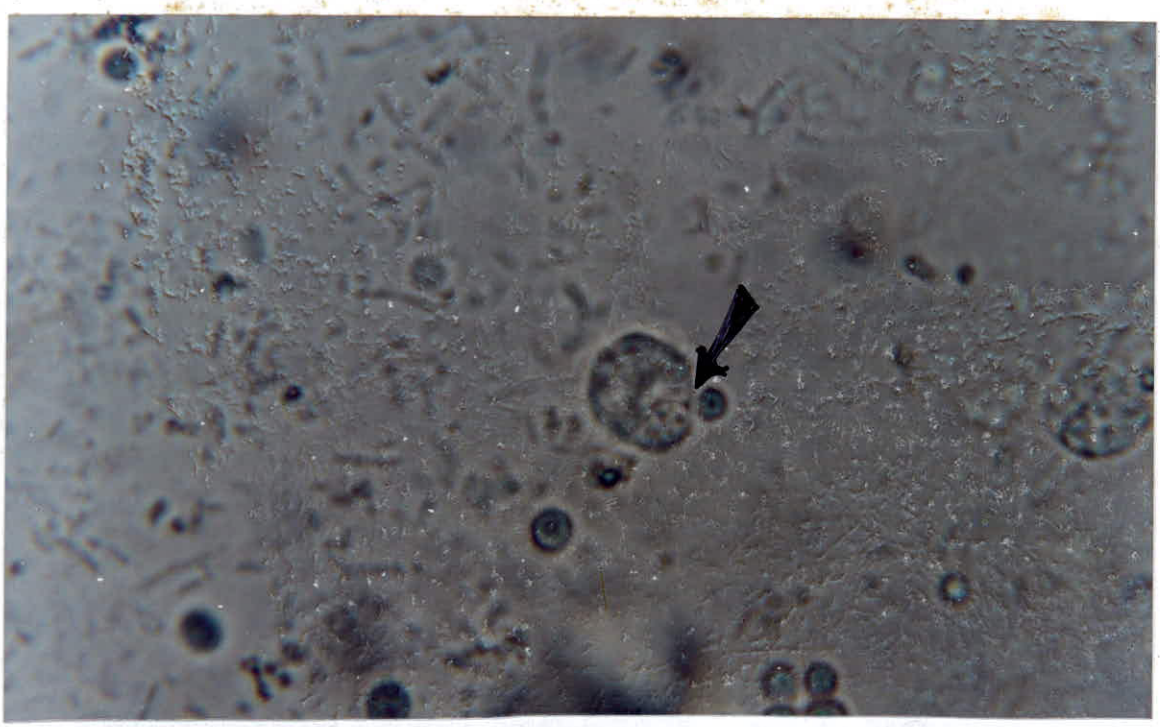
albicans ingerida o solo adherida fue calculado de las observaciones de 100 células viables.

3.4.2 ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS

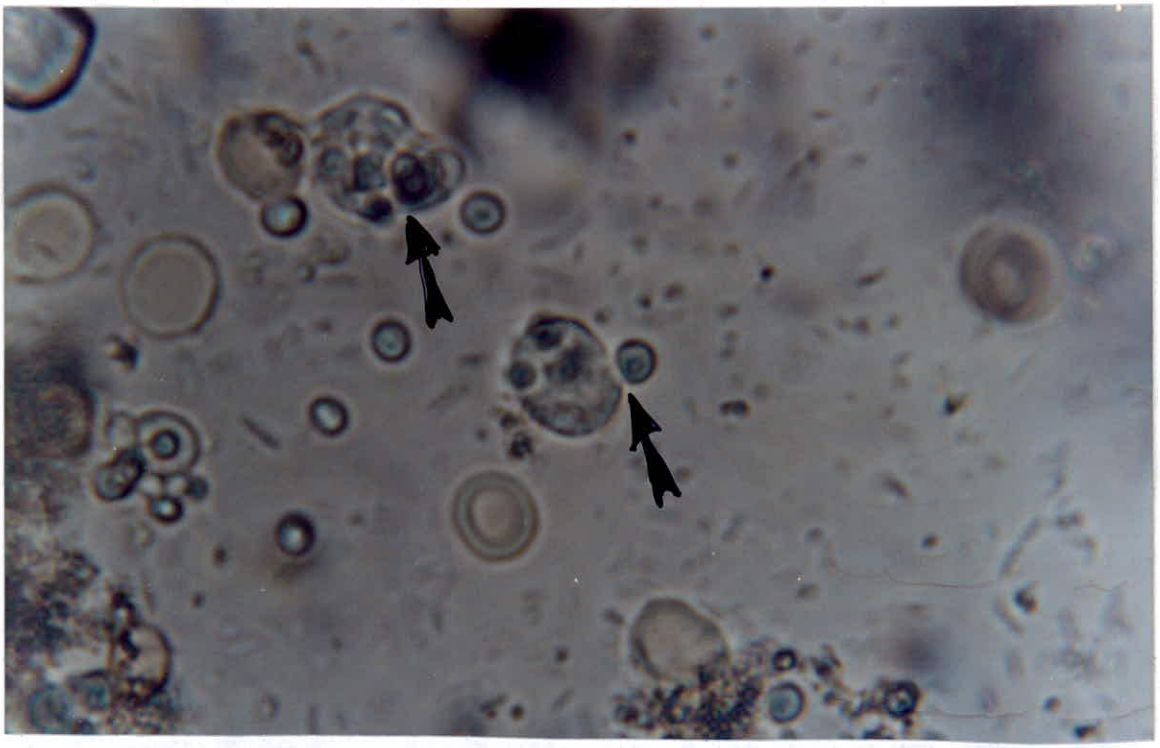
Para poder realizar una adecuada interpretación de los resultados de la investigación, en función a las variables, objetivos propuestos y la hipótesis, se realizaron las comparaciones de los resultados obtenidos para el grupo de estudio, referente a la Acción Fagocitaria y Enfermedad Periodontal y el grupo control, para lo cual se utilizará el método de Análisis Estadístico.

Se utilizó para este propósito las medidas de Tendencia Central y Dispersión (media, error, estándar, moda, desviación estándar, máximo y mínimo), con la finalidad de poder describir el proceso realizado.

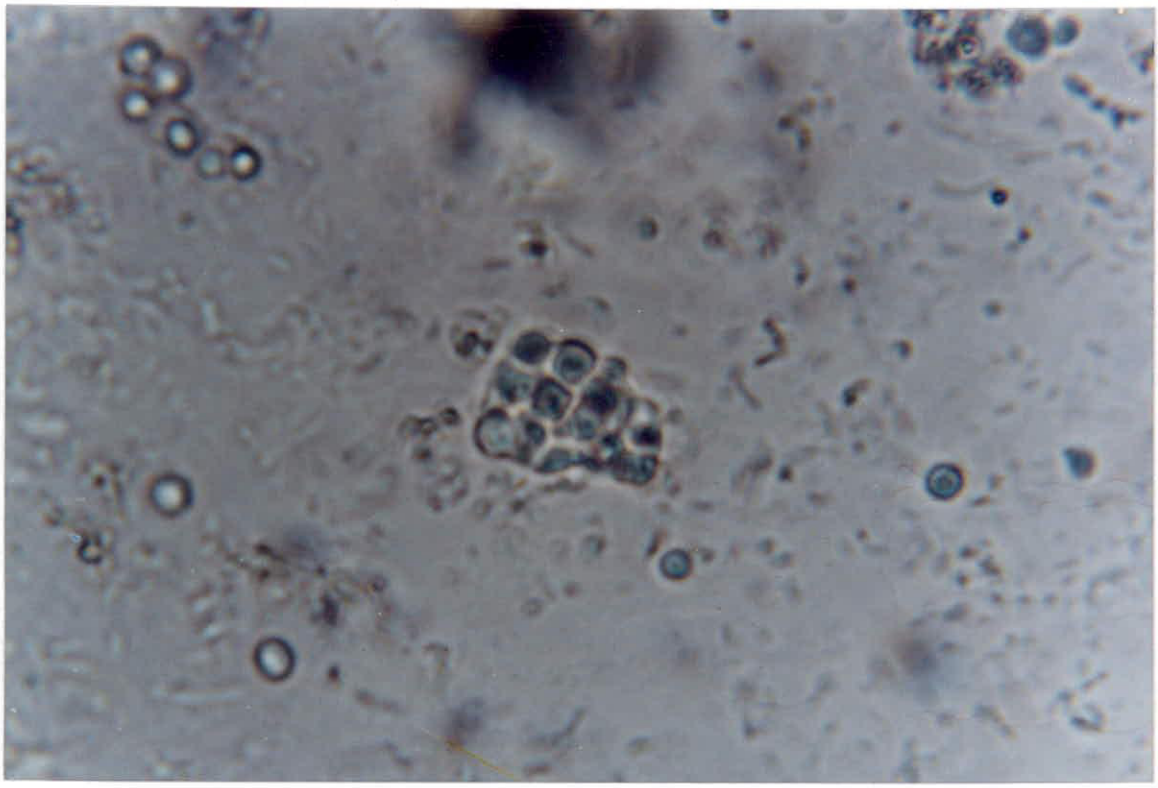
Para poder establecer las diferencias entre el grupo en estudio (pac diabéticos) y el control (no diabéticos) ambos relacionados a la enfermedad periodontal y la acción fagocítica, se recurrió a la utilización de las pruebas No Paramétricas como el Test de Wilcoxon Mann-Whitney (Test U), la Prueba de Mc Nemar; recurriéndose así mismo a la T-Student, para una mejor interpretación.



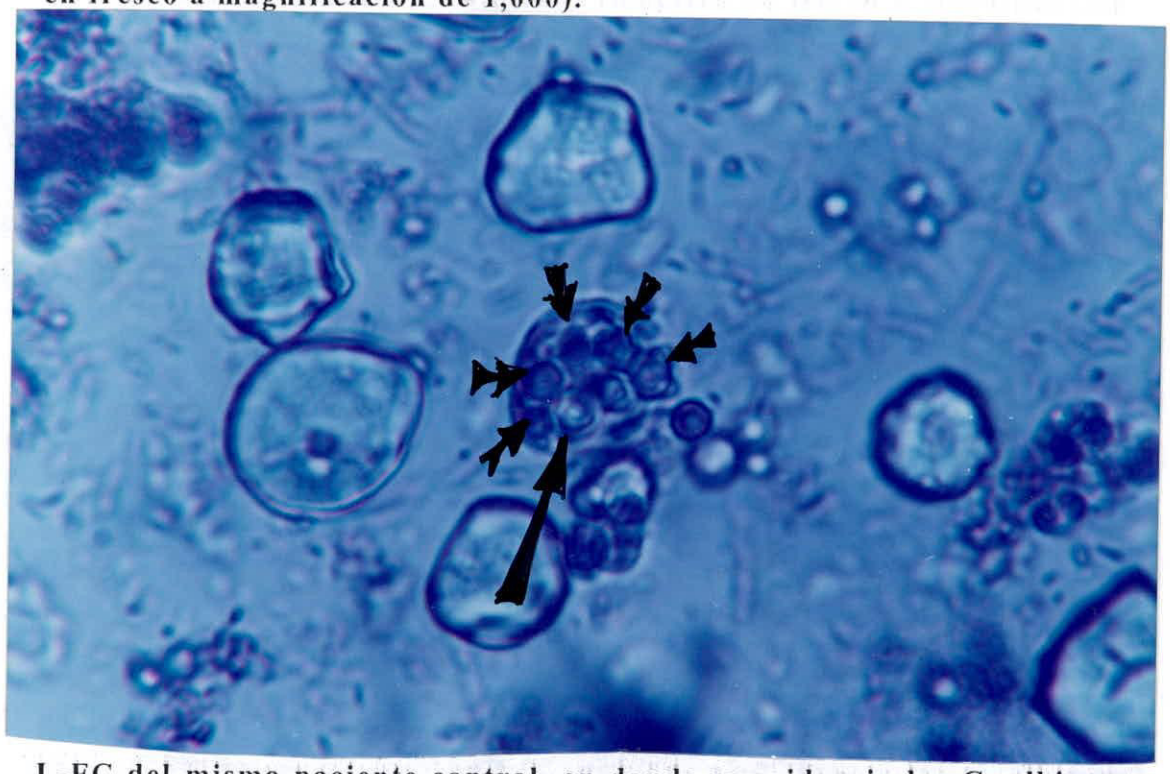
Leucocito del Fluido Crevicular (L-FC) realizando la adherencia a la C. albicans, según como indica la flecha (muestra en fresco a magnificación de 1,000)



L-FC con morfología normal, que se encuentran en plena actividad fagocítica. Abajo: iniciando el englobamiento. Arriba: concluyendo el englobamiento de la C. albicans (muestra en fresco a magnificación de 1,000).



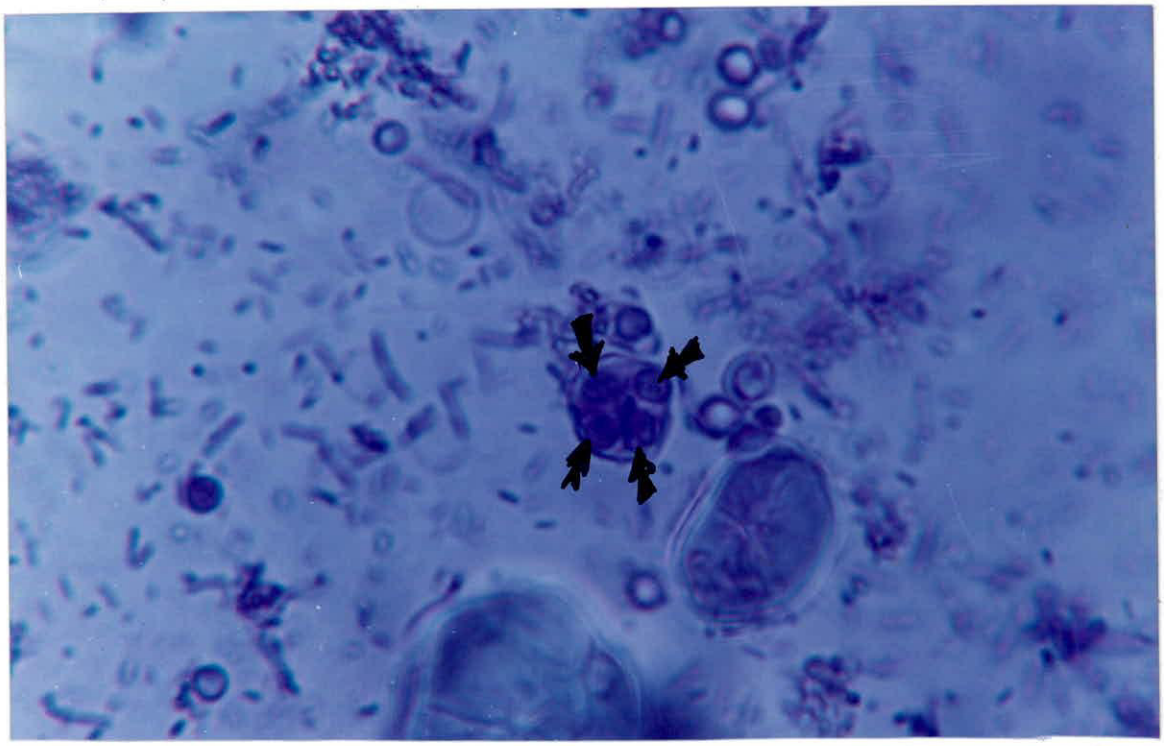
L-FC de un paciente control, realizando la actividad fagocitica (muestra en fresco a magnificación de 1,000).



L-FC del mismo paciente control, en donde se evidencia las C. albicans adheridas (color purpura - flecha corta) de la ingerida (no coloreada - flecha larga). Coloración Eozina Y + A. Toluidina, a 1,000 aumentos.



L-FC de un paciente diabético realizando la actividad fagocítica, aparentemente, a cuatro C. albicans (muestra en fresco a magnificación de 1,000).



L-FC del mismo paciente diabético, en donde se evidencia, que las cuatro C. albicans (purpuras) se encuentran solo adheridas y no son fagocitadas (Coloración Eosina Y + A. Toluidina, a 1,000 aumentos).

IV. RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Una vez concluida la parte experimental de la investigación, en lo concerniente a la toma de muestra del Fluido Crevicular y su respectivo procesamiento para la evaluación de la Función Fagocítica de los leucocitos creviculares frente a la C. albicans tanto en pacientes diabéticos y no diabéticos con enfermedad periodontal, se observarán algunas diferencias entre ambos grupos los cuales se detallarán a continuación:

Las Tablas 1 y 2 nos proporcionan información referente a la edad de los pacientes diabéticos (Tabla 1) y al grupo control (Tabla 2) por grupos etáreos en las cuales se puede observar que en ambos grupos la mayor frecuencia de pacientes pertenecía al grupo comprendido entre los 55 a 64 años de edad, y la menor frecuencia a los comprendidos entre 35 a 44 años.

Tabla 1

EDAD DE LOS PACIENTES DIABETICOS POR GRUPOS ETAREOS

		Frecuencia	Porcentaje Valido	Porcentaje Acumulativo
Valido	35 - 44	4	9,5	9,5
	45 - 54	7	16,7	26,2
	55 - 64	18	42,9	69,0
	67 - 74	13	31,0	100,0
Total		42	100,0	

Tabla 2

EDAD DE LOS PACIENTES NO DIABETICOS POR GRUPOS ETAREOS

		Frecuencia	Porcentaje Valido	Porcentaje Acumulativo
Valido	35 - 44	4	28,6	28,6
	45 - 54	3	21,4	50,0
	55 - 64	4	28,6	78,6
	67 - 74	3	21,4	100,0
Total		14	100,0	

La Tabla 3 muestra la glicemia de los diabéticos en intervalos (mg.%) en donde se puede apreciar que la mayor presencia equivale a los valores comprendidos entre 96 a 110 mg.% de glucosa en sangre, y que el máximo valor obtenido en los momentos previos a la realización de la toma de muestra de fluido crevicular, oscilaba entre 141 - 155 mg.% y los mínimos valores entre 80 - 95 mg.% lo que evidencia que el 78,6% se encontraba compensada y que el 21,4% se encontraba con valores clínicamente aceptables para la realización de pruebas.

Tabla 3

GLICEMIA DE LOS DIABETICOS AGRUPADAS EN INTERVALOS mg%

		Frecuencia	Porcentaje Valido	Porcentaje Acumulativo
Valido	80 - 95	7	16,7	16,7
	96 -110	12	28,6	45,2
	111 - 125	5	11,9	57,1
	126 - 140	9	21,4	78,6
	141 - 155	9	21,4	100,0
Total		42	100,0	

La Tabla 4 nos detalla el sexo de los pacientes tanto diabéticos y no diabéticos hallándose un mayor número de pacientes del sexo femenino (27) en los diabéticos y un mayor número del sexo masculino (10) en los no diabéticos.

Tabla 4

SEXO DE LOS PACIENTES

Sexo de los Pacientes		Tipo de Paciente		Total
		DIABETICO	NO DIABETICO	
	Masculino	15	10	25
	Femenino	27	4	31
Total		42	14	56

La Tabla 5 nos detalla lo concerniente a la necesidad de insulina en los pacientes diabéticos observándose que el 92,9% (39 pacientes) no necesitan insulina para su tratamiento y solo un 7,1% (3 pacientes) son insulinos requirientes.

Tabla 5

NECESIDAD DE INSULINA

		Frecuencia	Porcentaje Valido	Porcentaje Acumulativo
Valido	SI	3	7,1	7,1
	NO	39	92,9	100,0
Total		42	100,0	

Asimismo la Tabla 6 nos detalla la presencia de micosis en los pacientes diabéticos en donde el 85,7% (36 pacientes) lo presenta, lo cual es considerado al momento de enfrentar los leucocitos creviculares de estos con la C. albicans; y solo un 14,3% (6 pacientes) no presentan micosis.

Tabla 6

PRESENCIA DE MICOSIS EN LOS PACIENTES DIABETICOS

		Frecuencia	Porcentaje Valido	Porcentaje Acumulativo
Valido	Presenta	36	85,7	85,7
	No Presenta	6	14,3	100,0
Total		42	100,0	

La viabilidad celular de los leucocitos creviculares de pacientes diabéticos es analizada en la Tabla 7 en donde la media y la desviación estandar, 88,48 (± 3,76), son compatibles a los 88,50 (± 3,29) con un valor máximo de viabilidad celular de 99 y un mínimo de 82 leucocitos.

Tabla 7

FRECUENCIAS

	Viabilidad Celular en Pacientes Diabeticos	Viabilidad Celular en los Pacientes
Media	88,48	88,50
Error Estandar	,58	44
Moda	89	89
Desviaciones Estandar	3,76	3,29
Mínimo	82	82
Máximo	98	98

La Tabla 8 nos muestra el total de leucocitos creviculares que fagocitan a C. albicans en pacientes diabéticos y no diabéticos, aquí se puede apreciar que el mayor número de leucocitos activamente fagocitarios corresponde a los no diabéticos (90 leucocitos) y el menor número a los diabéticos (10 leucocitos), la media y la desviación estándar es significativamente diferente, produciendose una mayor acción fagocitaría en los no diabéticos.

Tabla 8

TOTAL DE LEUCOCITOS CREVICULARES QUE FAGOCITAN A C. albicans.

	DIABETICO	NO DIABETICO	
Media	22,02	78,64	
Error Estandar	1,08	2,46	
Moda	20	84	
Desviaciones Estandar	7,62	9,20	
Mínimo	10	63	73
Máximo	42	90	132

En la Tabla 9 se aprecia todo lo contrario a la anterior tabla pues en esta se evalúan la adherencia sin sugestión de C. albicans por parte de los leucocitos creviculares de los pacientes diabéticos y no diabéticos. Así se puede encontrar diferencias significativas puesto que sus medias y desviaciones estándares son prueba de ello; destacándose que existe un mayor defecto fagocítico (adherencia sin ingesta de patógenos) en los leucocitos creviculares, pertenecientes a los pacientes diabéticos.

Tabla 9

TOTAL DE LEUCOCITOS CREVICULARES QUE SOLO DE ADHIEREN Y NO FAGOCITAN A LA C. albicans.

	DIABETICO	NO DIABETICO	
Media	78,21	21,36	
Error Estandar	1,21	2,46	
Moda	80	16	
Desviaciones Estandar	7,84	9,20	
Mínimo	58	10	68
Máximo	90	37	127

La Tabla 10 nos muestra diferencias significativas concernientes al número de leucocitos creviculares que fagocitan 1,2,3,4, > 4 y total de C. albicans, en los pacientes diabéticos con relación al control, relacionándose por medio de la media y desviación estándar. En donde se aprecia que los mayores promedios fagociticos de los leucocitos creviculares corresponde al grupo de control con relación a los Diabéticos.

Tabla 10 Número de leucocitos creviculares que fogocitan a 1,2,3,4, más de 4 y total de C. albicans en relación al tipo de Paciente.

Leucocitos creviculares que fagocitan C. albicans (C.a.)						
	1 C.a.	**2 C.a.**	**3 C.a.**	**4 C.a.**	**> 4 C.a.**	**Total C.a.**
CONTROL	36,69 (± 6,49)	26,23 (± 4,00)	12,00 (± 3,16)	1,69 (± 2,75)	0,23 (± 0,6)	79,85 (± 8,36)
DIABÉTICO	11,74 (± 4,60)	6,95 (± 3,93)	2,98 (± 2,05)	0,38 (± 0,96)	0,00 (± 0)	22,02 (± 7,62)

Tabla 11 Número de leucocitos creviculares que solo se adhieren, sin realizar la ingesta a 1,2,3,4,>4 y total de C. albicans según tipo de paciente.

Leucocitos creviculares que solo se adhieren y No ingesta a C. albicans (C.a.)						
	1 C.a.	2 C.a.	3 C.a.	4 C.a.	> 4 C.a.	Total C.a.
CONTROL	8,38 (± 2,87)	8,08 (± 5,85)	2,69 (± 1,65)	0,92 (± 1,55)	7,69 (± 0,28)	20,15 (± 8,36)
DIABÉTICO	13,10 (± 9,27)	33,50 (± 9,50)	20,95 (± 7,83)	8,01 (± 6,53)	2,51 (± 4,14)	76,63 (± 12,97)

La Tabla 11 nos evidencia que existe una diferencia significativa entre el grupo control y los diabéticos, hallándose los mayores promedios de adherencia sin ingestión de las C. albicans en los leucocitos provenientes de los pacientes diabéticos.

4.2 ANALISIS ESTADISTICO

4.2.1. IMPLICANCIA DEL SEXO DE LOS PACIENTES DIABETICOS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Para poder determinar si el sexo de los pacientes diabéticos influye en la enfermedad periodontal que estos representaban, se realizo la prueba de Wilcoxon (Test U) y el Test de Mc Nemar dándonos un p-valor asociado al estadístico de contraste igual a 1,000, en ambas pruebas, el cual es mayor que 0,05, y a un nivel de significancia de 0,05 se rechaza la influencia del sexo en la enfermedad periodontal de los pacientes diabéticos.

4.2.2. RELACION DEL SEXO DE LOS PACIENTES DIABETICOS Y LA NECESIDAD DE INSULINA

De igual modo que lo anterior se utilizo el Test de Mac Nemar y la Prueba de Wilcoxon, para determinar sí el sexo influye en la necesidad de Insulina, no encontrándose diferencia puesto que el Test de Mc Nemar resultó un p-valor = 0,08 y el Test a un p-valor = 0,05, ambos mayores e iguales a 0,05, y siendo el nivel de significancia de 0,05 se demuestra que el sexo no influye en la necesidad de Insulina

4.2.3. RELACION ENTRE LA EDAD DE LOS PACIENTES DIABETICOS Y LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Aplicando el Test de Wilcoxon, Mann-Whitney se pudo establecer que existe una relación directa entre la edad del paciente con la

enfermedad periodontal que estos presentan, que de acuerdo al resultado obtenido del p-valor = 0,001 y siendo menor al p-contraste = 0,05 se establece que a mayor edad se presenta más enfermedad periodontal.

4.2.4. RELACION ENTRE LOS PACIENTES DIABETICOS Y NO DIABETICOS CON LA ADHERENCIA SIN INGESTA DE LA C.ALBICANS POR PARTE DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES.

Para examinar esta relación se utilizó el Test-U obteniéndose un p-valor = 0,001 muy inferior a 0,05 lo que nos dice que existe una gran diferencia en estos 2 grupos - Tipo Paciente (diabético y no diabético) y observándose el promedio y la desviación estándar, en la relación a la adherencia sin ingesta de C. albicans por parte del total de leucocitos creviculares, podemos determinar que existe mayor adherencia sin ingesta de C. albicans en los leucocitos creviculares de los pacientes diabéticos que en los no diabéticos.

No Diabéticos	20,15 (± 8,36)
Diabéticos	76,63 (± 12,97)

4.2.5. INFLUENCIAS DEL TIPO DE PACIENTE (DIABETICO Y NO DIABETICO) EN LA ADHERENCIA SIN INGESTA C. ALBICANS POR PARTE DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES

Al realizar la prueba No Paramétrica de Wilcoxon - Mann - Whitney para establecer la relación entre estas variables nos dio un p_1-valor =

0,0001, p_2-valor = 0,0001, p_3-valor = 0,0001, p_4-valor = 0,02 y un p_{+4}-valor = 0,160, tanto para 1(p_1), 2(p_2), 3(p_3), 4(p_4) y más de 4(+4) C. albicans que solo logró adherir los leucocitos creviculares, en relación al P-contraste de 0,05 y correlacionando las medias y desviaciones estandares de estos(Tabla 1), se pudo establecer que existe diferencias significativas en cuanto a la adherencia sin ingesta de 1,2,3 y 4 C. albicans de acuerdo al tipo de paciente siendo mayor en los diabéticos que los no diabéticos, pero hallándose una excepción en cuanto a la adherencia sin ingestade más de 4 C. albicans

4.2.6. INFLUENCIAS DEL TIPO DE PACIENTE (DIABETICO Y NO DIABETICO) EN LA INGESTA 1,2,3,4 Y MAS C. ALBICANS POR PARTE DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES

Mediante la prueba de Wilcoxon se realizó, la relación de estas variables hallando un p_1-valor = 0,0001, p_2-valor = 0,0001, p_3-valor = 0,257, p_4-valor = 0,031, p_{+4}-valor = 0,500 tanto para la ingesta de 1(p_1), 2(p_2), 3(p_3), 4(p_4), y más de 4($_+$4) C. albicans por parte de los leucocitos que en relación al P -contraste = 0,05 y correlacionado las medias y desviaciones estándar (Tabla 10), se puede establecer que existe una diferencia muy significativa en lo que respecta a la ingestión de C. albicans por parte de los leucocitos creviculares del grupo control , los cuales fueron ampliamente mayores que en los pacientes diabéticos.

4.2.7. RELACION DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL Y LA ADHERENCIA SIN INGESTA DE 1,2,3,4 Y MAS C. ALBICANS POR PARTE DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES

Al realizarse la prueba no Paramétrica del Test-U se halló una diferencia significativa en lo concerniente a l adherencia sin ingesta

de 1 C.a. (p-valor = 0,0001), 2 C.a. (p-valor = 0,0001), 3 C.a. (p-valor = 0,0001) salvo en 4 C.a. (p-valor = 0,776) y más de 4 C.a. (p-valor = 0,029) en donde no existe diferencia; pero al concentrarse los valores Totales de C. a. adherido sin ingesta por parte de los leucocitos creviculares nos da un p-valor = 0,0001 lo que corrobora la diferencia significativa.

Leucocitos que solo se adhieren, sin ingesta, a C. albicans (C.a.)

Cantidad de Leucocitos que se adhieren a:

		1C.a.	2 C.a.	3 C.a.	4 C.a.	+ 4 C.a.
DIABETICO	**Gingivitis**	11,53	34,6	23,4	13	6
	Periodontitis	15,76	34,6	21,2	9,92	6,5
NO DIABETICO	**Gingivitis**	7	7,5	4	4	4
	Periodontitis	10	9	4	4	4

Leucocitos que Fagocitan a C. albicans (C.a.)

Cantidad de Leucocitos que Fagocitan a:

		1 C.a	2 C.a	3 C.a	4 C.a	+ 4 C.a
DIABÉTICO	**Gingivitis**	14,2	17,5	4,5	4	-
	Periodontitis	11	8	4	4	-
NO DIABETICO	**Gingivitis**	40	34	13	4	4
	Periodontitis	36,57	28	11	4	4

GRAFICO 1

Grupo de Pacientes Diabéticos según Edades

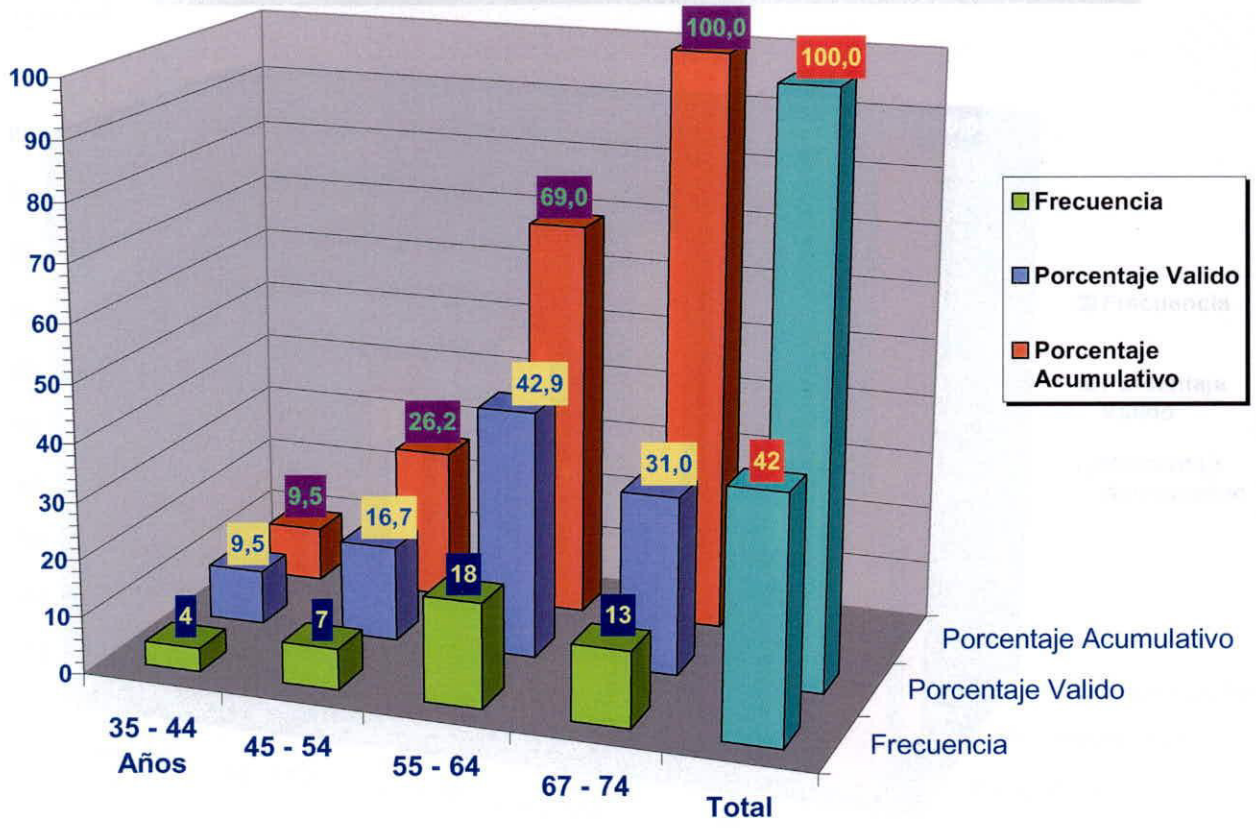
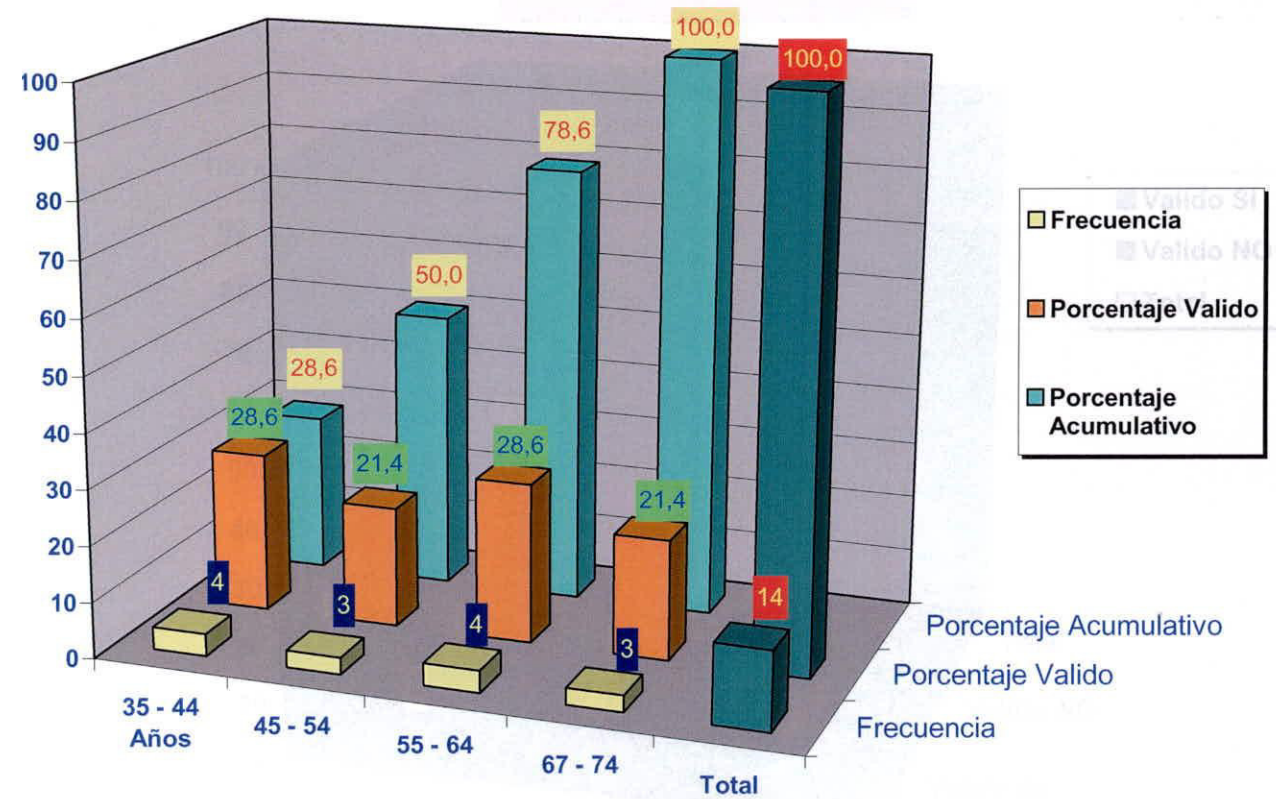


GRAFICO 2

Grupo de Pacientes No Diabéticos según Edades



AFICO 3

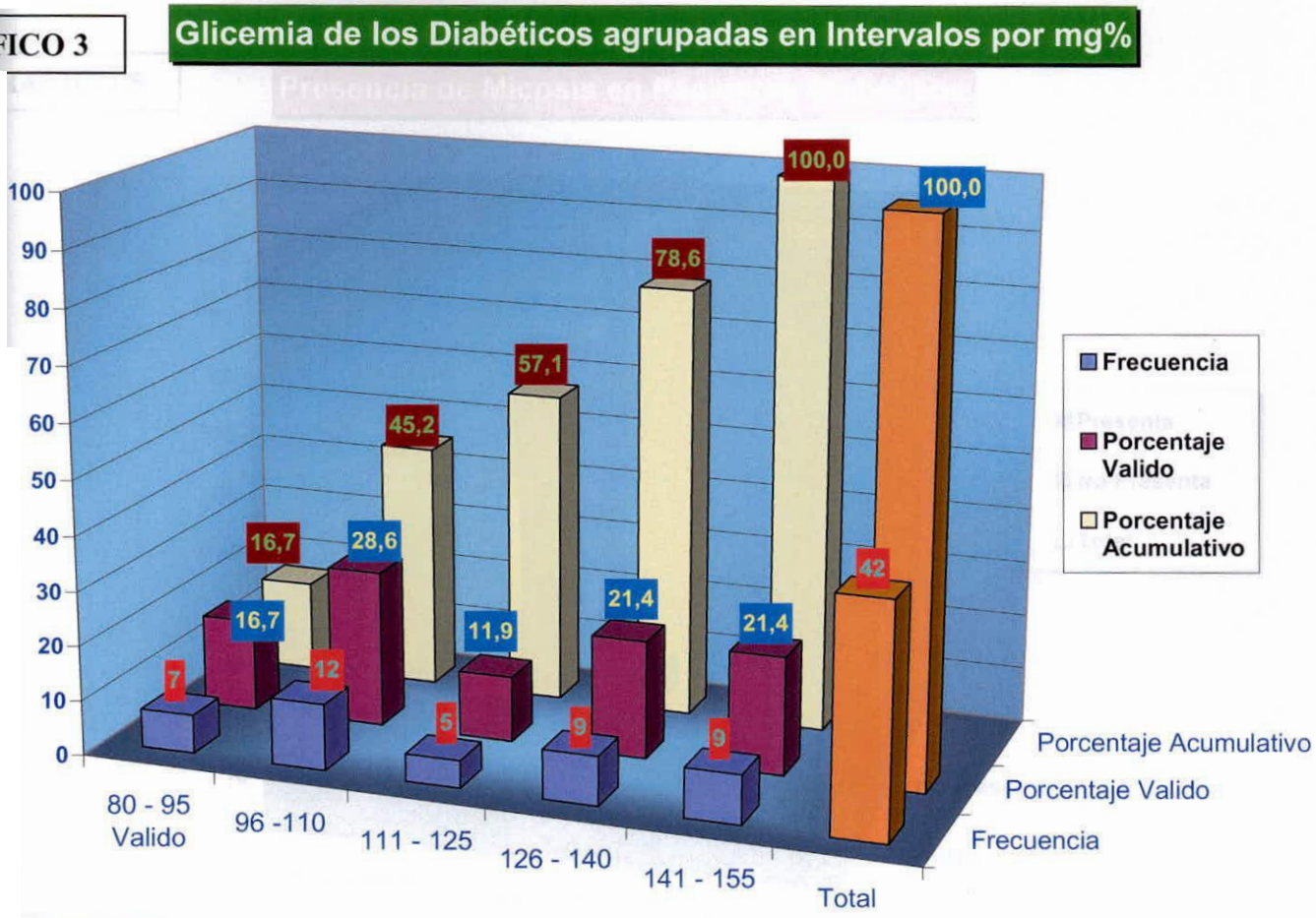


GRAFICO 4

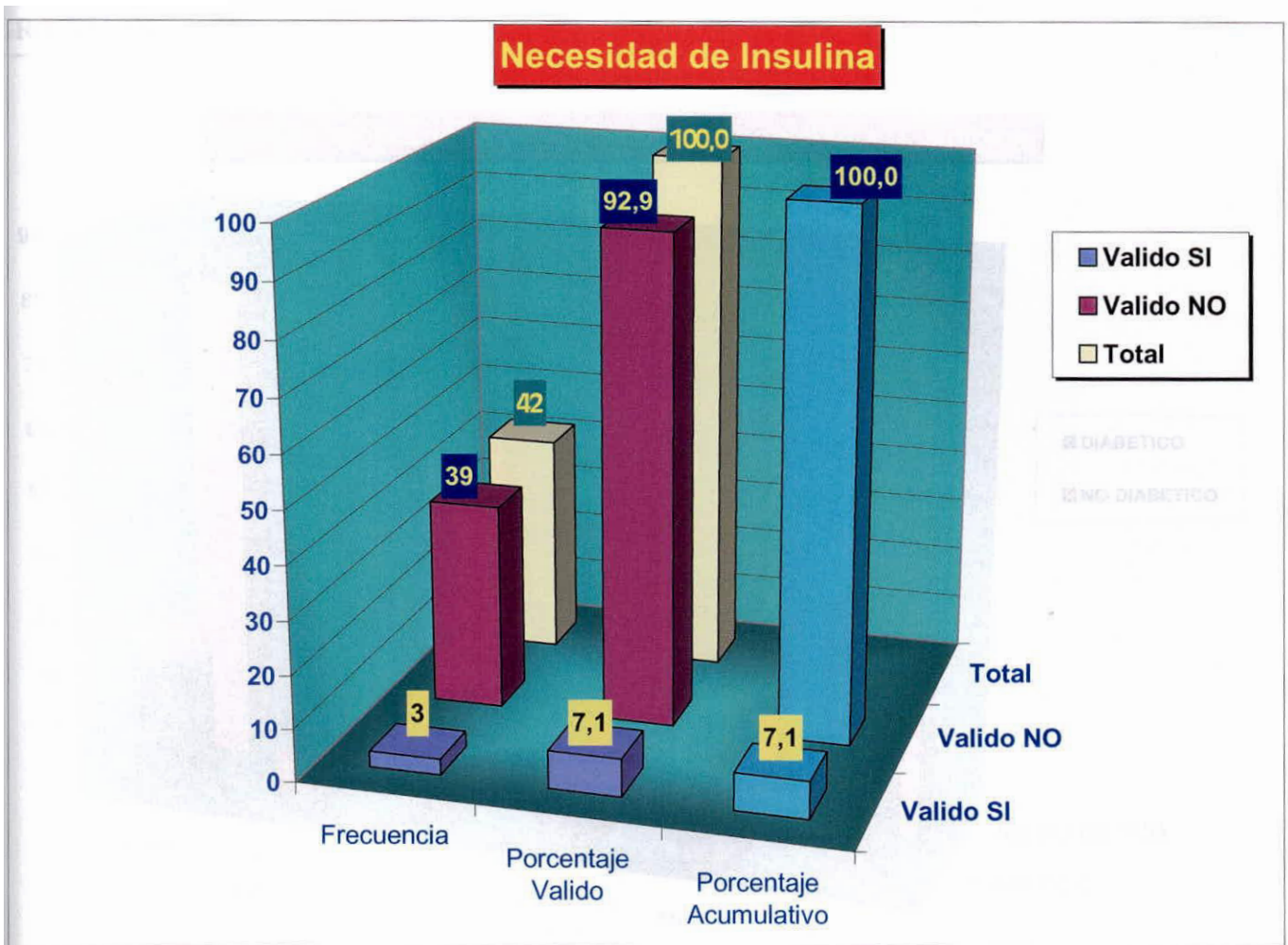


GRAFICO 5

Presencia de Micosis en Pacientes Diabéticos

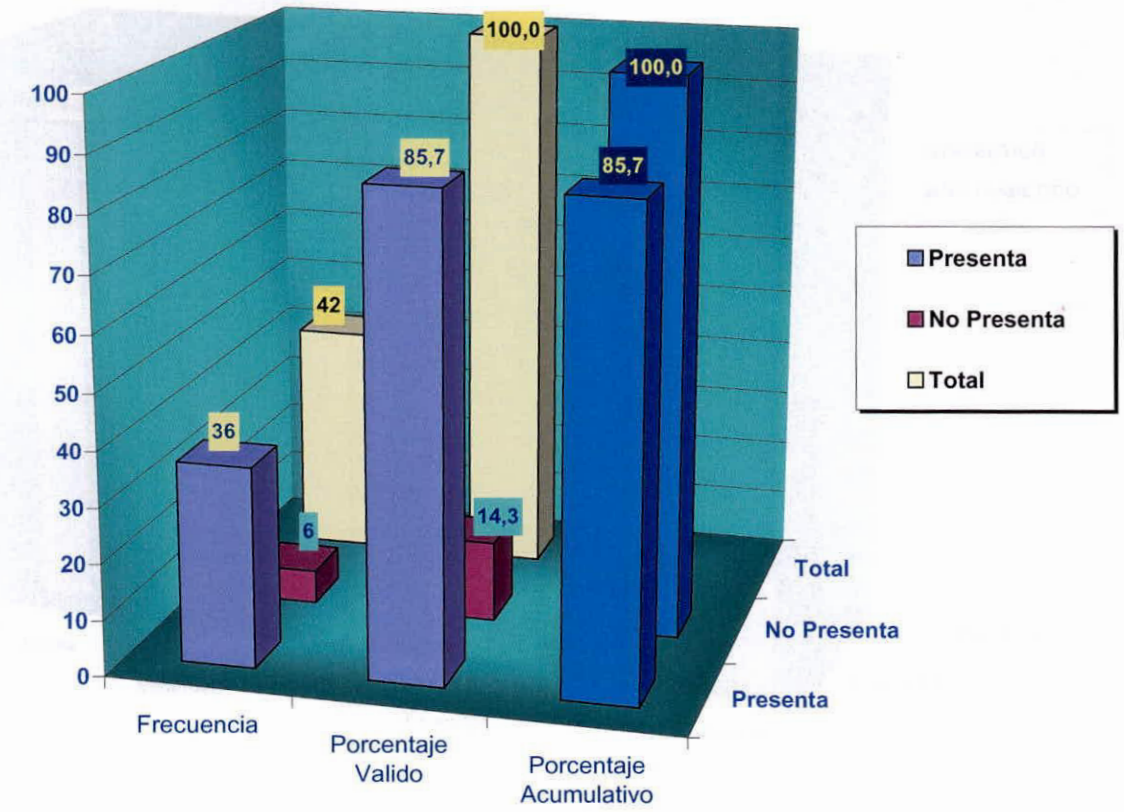


GRAFICO 6

Total de Leucocitos Creviculares que Fagocitan a C. albicans

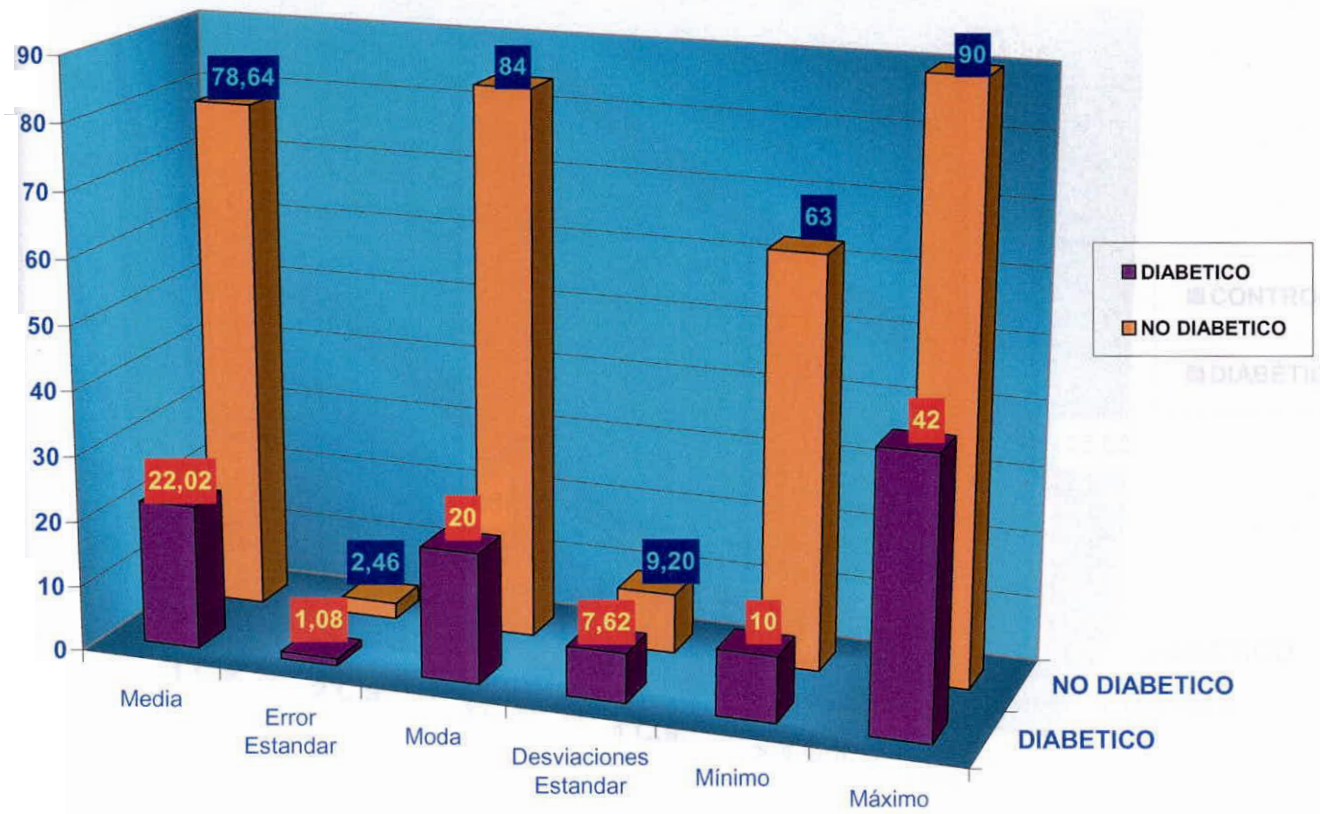


GRAFICO 7

Total de Leucocitos Creviculares adheridos y que no Fagocitan a C. albicans

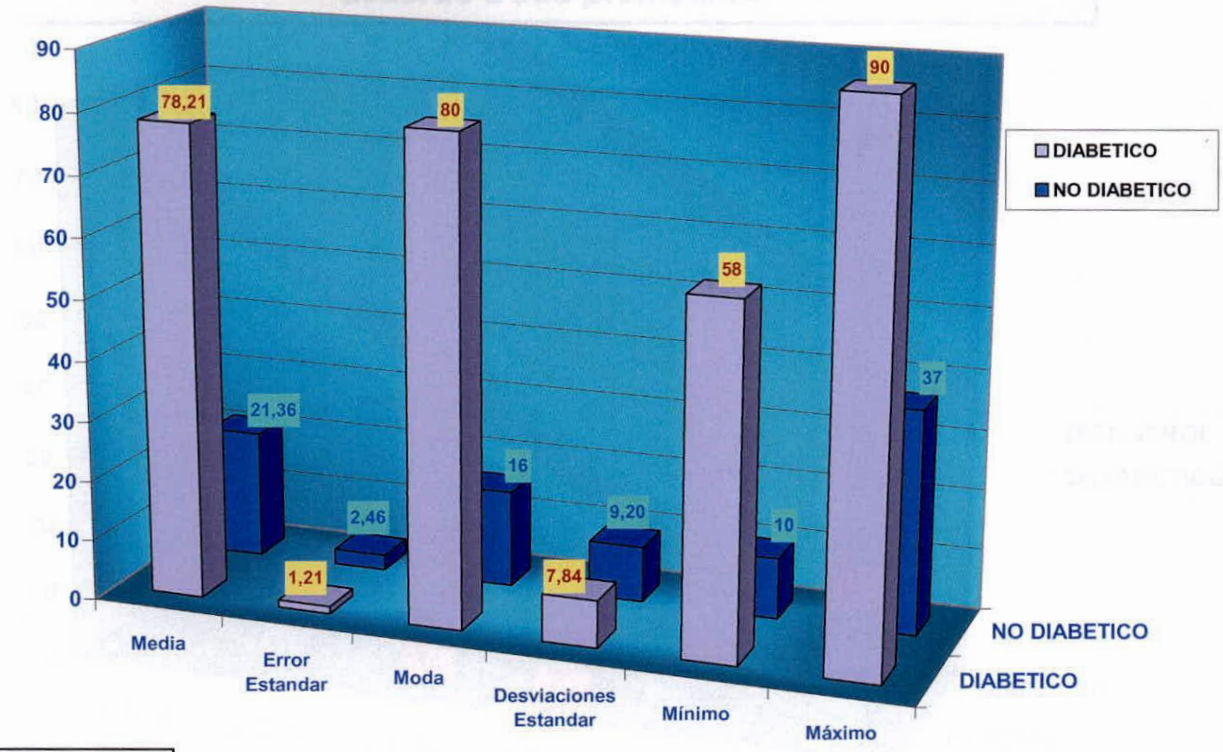


GRAFICO 8

Leucocitos Creviculares que Fagocitan a C. albicans según el tipo de paciente (de acuerdo a sus promedios)

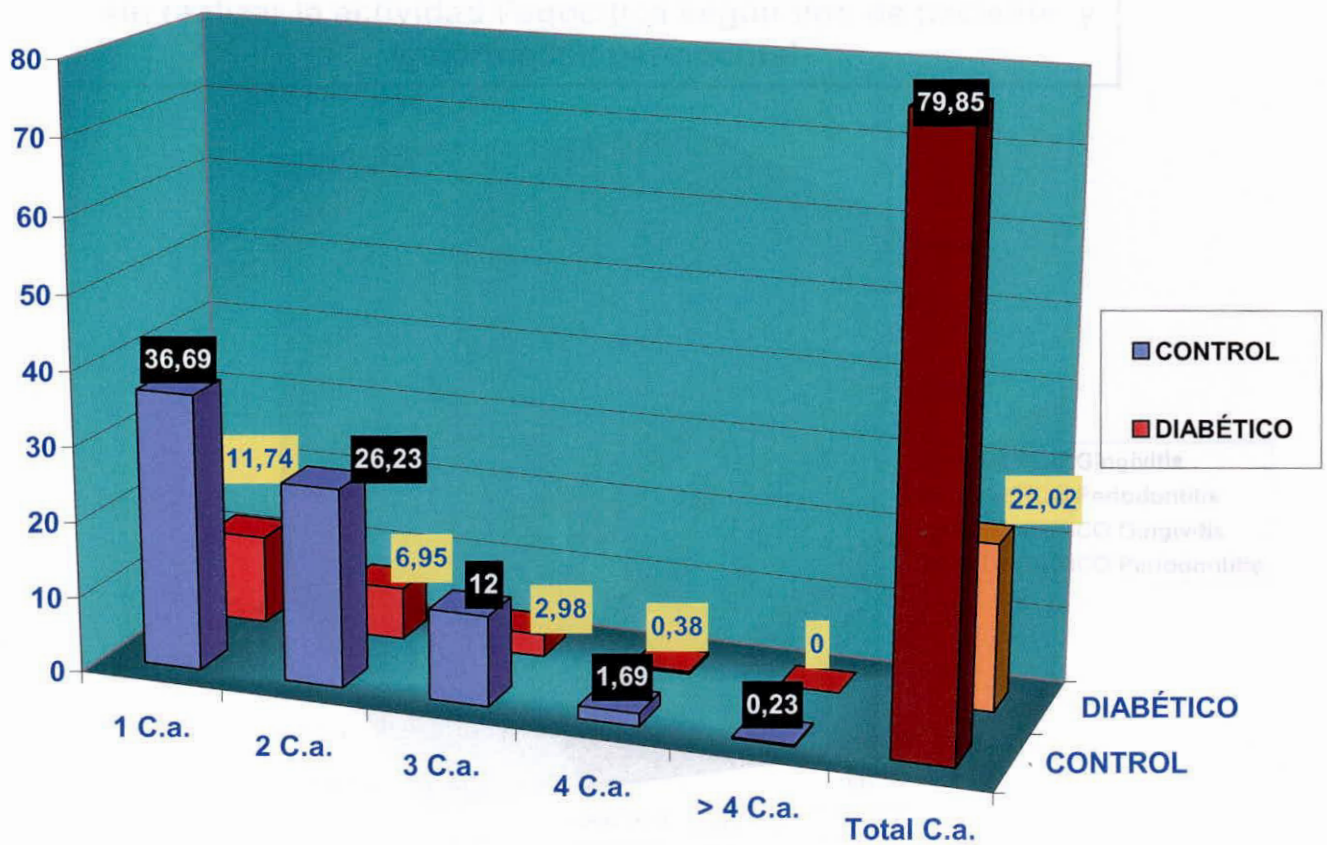


GRAFICO 9

Leucocitos Creviculares que solo se adhieren a la C. albicans sin realizar la actividad fagocitica, según el tipo de pacientes (de acuerdo a sus promedios)

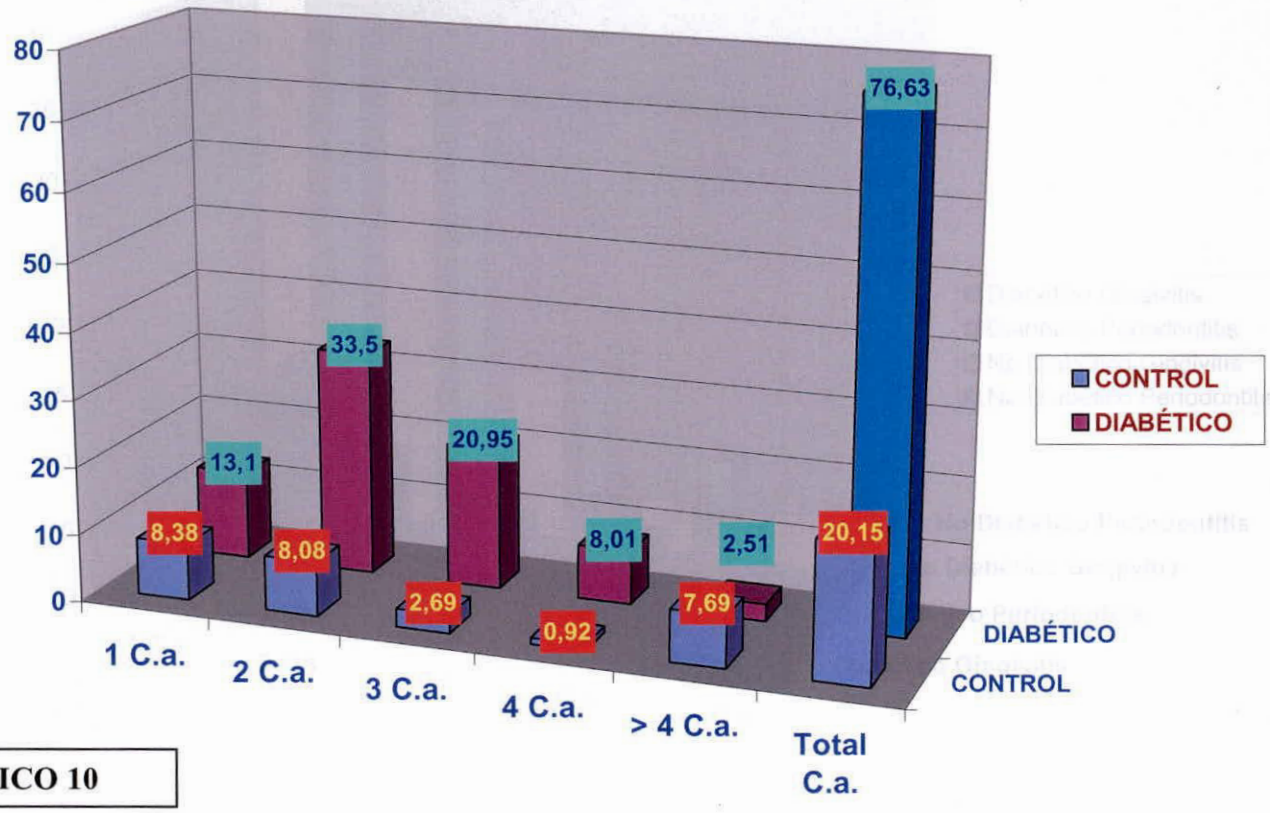


GRAFICO 10

Leucocitos Creviculares que solo se adhieren a la C. albicans sin realizar la actividad Fagocitica según tipo de paciente y enfermedad periodontal

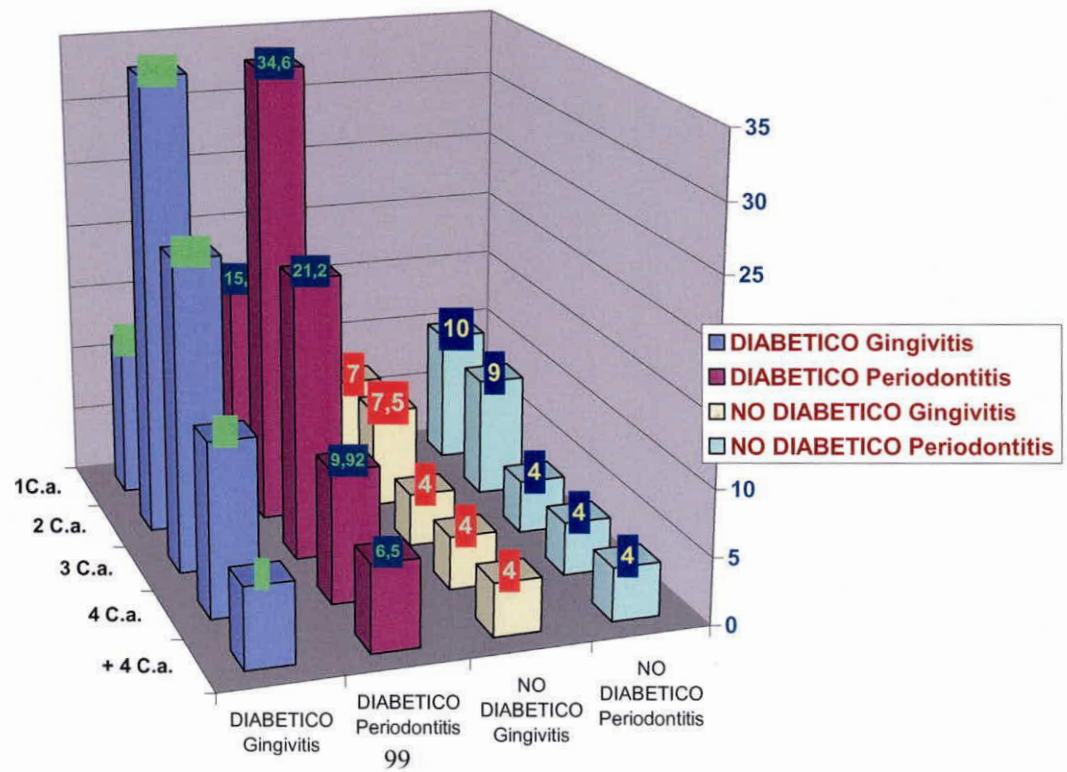
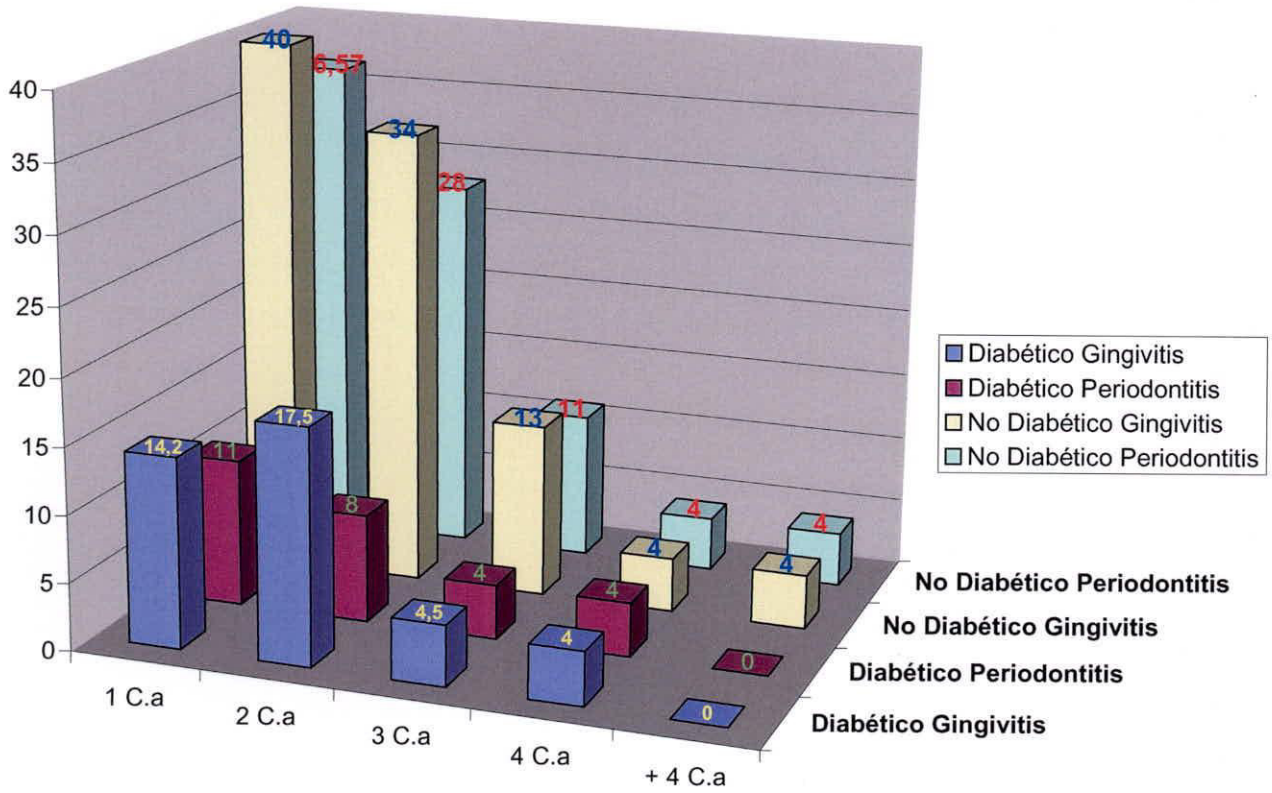


GRAFICO 11

Leucocitos Creviculares que fagocitan a C. albicans según al tipo de paciente y enfermedad periodontal



V. DISCUSION

V. DISCUSION

Este estudio permitió confirmar la presencia de un gran número de células obtenidas de los lavados creviculares, tanto en los pacientes diabéticos como en los controles, siendo la mayoría de estas células ; leucocitos entre ellos: PMNS y algunos macrífagos, tal y conforme se reportaron en otros estudios [63].

También se pudo comprobar que el sexo de los pacientes diabéticos y controles, no influyó en la incidencia de la enfermedad periodontal, ni en la actividad fagocítica de los leucocitos creviculares. Asimismo, se confirmo que la edad del paciente diabético guarda una relación directa con la enfermedad periodontal, lo cual es también valido para los pacientes no diabéticos, esto confirma las teorías periodontales [8-10-20].

Para poder conocer los niveles de glucosa de los pacientes diabéticos, se realizó un análisis de glicemia en ayunas (previo a la toma de muestra de fluido crevicular), encontrandose la mayor frecuencia dentro de los valores aceptados a nivel mundial [5].

También se confirmó aparentemente, que pese a la presencia de afecciones micóticas, en los pacientes diabéticos, el sistema inmunológico de estos, no pudo reconocer a la C. albicans como un antígeno, lo cual incremento la posición dada en la hipótesis de trabajo.

Los resultados en cuanto a la viabilidad de los leucocitos creviculares, tanto en pacientes diabéticos como en los controles, mantuvo un promedio aceptable de 88,48%. No existiendo diferencias significativas entre ambos grupos, lo cual fue favorable para la

realización del experimento en sí, y no interfirió en los resultados de la acción fagocítica.

Teniendo en cuenta que la gran mayoría de diabéticos presentan cambios en la pared vascular, lo que determina una insuficiencia vascular, que puede causar un menor flujo en el área lesionada, inhibiendo la movilización de leucocitos y provocando una reducción en la tensión de oxigeno [35] lo que provocaría una lisis célular.

En la pobre ingesta de patógenos hallada en los leucocitos creviculares de pacientes diabéticos en comparación con el grupo control, pudimos presumir que existen alteraciones fagocitarias. Este hallazgo se respalda en la mayor adherencia sin injesta de patógenos en estos pacientes en comparación con los de control.

Estas posibles alteraciones existentes en estos leucocitos probablemente se encuentren relacionados a deficiencias de fagocitos que pueda estar afectando la adecuada extravasación (neutrófilos) desde la circulación hacia el foco de daño tisular (complejo periodontal); la respuesta a citocinas activadoras (IFN) de la producción de metabolitos tóxicos del oxígenos y de la liberación de contenido de sus gránulos (mieloperoxidasa, elastasa, colagenasa...)[53]. Aunque lo que más es factible de aceptar es que la glucosa es utilizada por los fagocitos para los fenómenos de glucolisis como fuente principal de energía para la realización de la quimiotaxis y la fagocitosis[8] y existiendo glucosa en el fluido crevicular[35], pero que no puede ser asimilada por los leucocitos de los pacientes diabéticos, generen alteraciones, como una posible Fagocitosis Frustada en donde el fagocito se adhiere al patógeno y degranula descargando su contenido intracelular de lisosomas y granulos tanto azurúfilos como específicos, pero no fagocita [8]. Así como, también se apoya en la

teoría de que la hiperglicemia provoca una reducción en la función fagocitaria de los leucocitos y facilita el crecimiento de determinados microorganismos [35].

Por último cabe señalar que existe mayor ingesta de patógenos en la Gingivitis que en Periodontitis y que ocurre todo lo contrario en lo que respecta a la solo adherencia sin ingesta del patógeno con una mayor frecuencia en la Periodontitis que en la Gingivitis, esto puede ser considerado por la diferencia etiológica de ambos tipos de enfermedad periodontal, pero que a la vez ratifica lo anteriormente propuesto que, en la enfermedad periodontal, existe alteraciones fagocitarias, en los leucocitos creviculares, pero que se agudizan más si los pacientes presentan diabetes mellitus.

Esto esta sustentado con aquellos criterios que manifiestan que los cambios fisiopatológicos propios de la diabetes afectan tejidos de la boca, provocando mayor susceptibilidad a infecciones, incluido la periodontitis; determinando que existe una relación directa entre la Diabetes Mellitus y la Enfermedad Periodontal.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

- Existen alteraciones fagocitarias en los leucocitos creviculares de los pacientes diabéticos, con enfermedad periodontal.

- La adherencia , sin actividad fagocitica así como, la pobre fagocitosis (ingesta del patógeno), son evidentes alteraciones fagocítarias de los leucocitos creviculares, que presentan los pacientes diabéticos.

- En la Gingivitis la acción fagocítica es mayor que en la periodontitis; y en la periodontitis solo adherencia, sin ingestión del patógeno es mayor que la Gingivitis.

- En los pacientes diabéticos existen alteraciones de la función fagocítica de los leucocitos creviculares, este fenómeno puede condicionar a una enfermedad periodontal.

VII. RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

- Extender, los estudios relacionados a la acción fagocítica de leucocitos creviculares no solo en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 sino también en los del Tipo 1.

- Se recomienda un estudio relacionado en pacientes diabéticos tanto con enfermedad periodontal como sin esta.

- Seria aconsejable realizar estudios sobre la Quimiotaxis de los leucocitos creviculares en pacientes diabéticos.

- Orientar a los pacientes la importancia de la buena salud oral y su relación con la evolución de su enfermedad sistémica, y de que la diabetes mal controlada aumenta la posibilidad y la susceptibilidad a infecciones orales y destrucción periodontal excesiva.

- El profesional en la práctica odontológica debe realizar estudios de laboratorio o investigación de datos entre uno y otro odontólogo.

- El Odontólogo debe valorar con gran cuidado y en cada paciente diabético su estado periodontal.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍA

1. **AGUILAR SERRANO PÉREZ ESTRADA** "Alteraciones de la Fagocitosis en el Asma Bronquial " Rev. Neumología y Cirugía de Tórax Vol.56(3): 59 – 64. México 1991.

2. **ALANDEZ HERRERA CORASOL BASCONES** "Clasificación de las Enfermedades Periodontales" Rev. Avances en Odontología Vol.6 No.1 Abril 1994

3. **ALVARADO A. JUAN** "Manual de Fisiología de la Sangre" Edit Gavelan - Hnos. Lima – Perú.

4. **ALZAMORA L. ESCAJADILLO C.** "Manual de Practicas - Curso inmunoquímica y Geología " $9_{na.}$ edic. UNMSM Lima - Perú 1999

5. **AMERICAN DIABETES ASSOCIATION** "Report of the Expert Committee on the Diagmosis and Classification of Diabetes Mellitus" Rev. Diabetes Care, vol. 20, Nº 7, July 1991 USA.

6. **ARMITAGE GARY** " Evaluación Clínica de las Enfermedades Periodontales" Revista Periodontology 2000 Vol. 7:39-53 Feb 1995

7. **BARNETT – BAKER** "An Electron Microscopic Study of Human Neutrophils obtained by Crevicular Washing" J. Periodontol. May 1983.

8. **BARRIOS GUSTAVO** "Odontología: Su Fundamento Biológico" Edit Iatros Colombia 1991.

9. **BIED B.R. - FORRESTER F.** "Basic Laboratory Techniques in Cell Culture" Edit, Health Service USA 1981

10. **CARRANZA F.** "Periodontología Clínica de Glickman" Cuarta Edición Edit. Interamericana 1988.

11. **CERDA J. VÁSQUEZ DE LA TORRE – MALACARA** "La Enfermedad Periodontal en la Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente - El Efecto de la Edad y el Tiempo desde el Diagnóstico" J.Periodontol. Vol.65 No.11:991 – 5 Nov.1995.

12. **CHAVAOLA–SHAH–JETHAL** "Influence of Diabetes Mellitus on Periodontal Disease" Indian J.Dent. Res. Vol. 4 No.2: 55-8 April-June 1993.

13. **CHECHETKIN - VORONIANSKI - POKUSAY** " Prácticas de bioquímica Edit Mir Moscú 1984

14. **CIMASONI G.** "Crevicular Fluid Undated" Monograf Oral Scienc. Vol.12 No.1:1983.

15. **COHEN – LEONY – SIMPSON** "Phagocytic Cells in Periodontal Defense" J. Periodontol. Vol.56 No.10: 612 – 615 . October 1985.

16. **CRAIGHEAD J. E.** " The Role of Viruses in the Pathogenesis of Pancreatic Disease and Diabetes Mellitus" Prog.Med. Virol.19: 161-214. 1975.

17. **EMRICH – SHLOSSMAN – GENCO** "Periodontal Disease in non-insulin-Dependent Diabetes Mellitus" J.Periodon0tol. Vol.62 No.2:123-131 Feb.1991.

18. **ESMANN V.** "The Polymorphonuclear Leukocyte in Diabetes Mellitus"J. Clin Chem. Clin.Biochem. Vol.21 No.9: 561-567. September 1983.

19. **GANZ T.** "Extracellular Release of Antimicrobiol Defensins by Human Polymorphonuclear Leukocytes" Infect. Inmun. 55:568. 1987.

20. **GENCO–GOLDMAN–COHEN** "Periodoncia" Edit. Interamericana.México. 1993.

21. **GENSINI–MODESTI–LOPPONI–COLLELA** "Diabetic Disease and Periodontal Disease. Diabetes and Periodontopathy" Minerva Stomatol.

22. **GETTINGER G.** "The Use of Six Selected Teeth in Population Measures Of Periodontal Status" J.Periodontol. Vol.54:155. 1983.

23. **GROSSI – GENCO** "Periodontal Disease and Diabetes Mellitus: A Two-Way Relation Ship" Ann. Periodontal. Vol.3 No.1:51-61.July 98.

24. **GUTIRREZ – COTANDO – LIEBANA** "Phagocytosis and Adhesiveness of Peripheral Blood Polymorphonuclear Leukocytes in Patients with Rapidly Progressive Periodontitis" J.Oral Pathol. Med. Vol.20 No. 10 193 – 195. November 1991.

25. **GUYTON A.C.** "Tratado de Fisiología Médica" Novena Edición. Edit. Interamericana – México 1996.

26. **HOLLMAN – MEALEY** "Implications of Diabetes Mellitus and Periodontal Disease" Rev. Diabetes Educ. Vol.18 No. 45: 310 – 315 Jul-Ago92.

27. **HIGGS – MC CALL – YOULTEN** "A Chemotactic Role for Prostaglandins Released from Polymorphonuclear Leukocytes during Phagocytosis" Br. J. Pharmacol. 53:539. 1975.

28. **JAWETS – MELLNICK** "Microbiología Médica" Edit.Manual Moderno1992.

29. **JUBIZ WILLIAM** "Endocrinología Clínica" Edit. Manual Moderno México 1981.

30. **KRAUSE – BRACHMANN – LOSCHE** "Defective Function of Blood Granulocytes in Patients with Diabetes Mellitus-associated Marginal Periodontitis" Folia Biol.(Praha) Vol.38 No.6:358 – 363; 1992.

31. **KAPLAN L. - PESCE A.** "Química Clínica - Metodos" Edit. Panamericana - Argentina 1990

32. **LAMSTER IRA** "The Host Response in Gingival Crevicular Fluid:otential Applications in Periodontitis Clinical Trials" J.Periodontol Vol.63: 1117 – 1123 December 1992.

33. **LIÉBANA UREÑA** "Microbiología Oral" Edit. Interamericana 1997.

34. **LINDHE JAN** "Periodontología Clínica" Segunda Edición. Editorial Panamericana 1992.

35. **LITTLE J. - FALACE D.** "Tratamiento Odontológico del Paciente bajo Taratamiento Médico" 5ta.. Edic. Edit. Harcour - Brace España 1998

36. **LOE H.** "The Gingival Index, the Plaque Index" J.Periodontol. Vol.38; 610 – 617 1967.

37. **LUSTIG E. - NEBEL A.** "Cultivo de Tejidos" Buenos Aires 1981.

38. **MALE DAVID** "Inmunology" 2da. Edic. Edit Sanda Londres 1991.

39. **MATARASSO – CAFIERO – BIZZANI – NICOLO** "The Role of Phagocytic Cells In Periodontal Disease" Minerva Stomatol. Vol.40 No.4:203 – 210. April 1991.

40. **MC CARTHY – SHKLER** "Enfermedades de la Mucosa Bucal" Editorial El Ateneo. 1998.

41. **MC MOLLEN–VAN DYLRE–GENCO** "Neutrophil Chemotaxis in Individuals with Advanced Periodontal Disease and a Genetic Predisposition to Diabetes Mellitus" J.Periodontol. Vol.52. No.4:167 – 173.April 1981.

42. **MICHAEL–VAN DYKE** "Alterations in Phagocyte Function and Periodontal Infection" J. Periodontol. Vol.67:1070 – 1075. October 1996.

43. **MIYASAKI K.T.** "The Neutrophil: Mechanisms of Controllings Periodontal Bacteria" J.Periodontol. Vol.62. No.12:761 – 774. December 1991.

44. **MÜLHEMAN H.L. AND SON** "Gingival Sulcus Bleeding a Leading Sympton" Helv.Odontol. Acta. Vol.15:107. 1971.

45. **MURPHY P.** "The Neutrophil" Plenum Medical Book Co. New York 1976.

46. **MURRAH V.A.** "Diabetes Mellitus and Associated Oral Manifestations: A Review" J. Oral Pathol. Vol.14.No.4:271 – 281. April 1985.1

47. **MURRAY P. - BARON E.** "Manual of Clinical Microbiology" Edit. Asmpress 6ta. Edic. USA 1995

48. **NISHIMURA – TAKAHASHI** "Periodontal Disease as a Complication Of Diabetes Mellitus" Ann.Periodont.Vol.3.No.1:20 – 29. July 1998.

49. **NOLTE WILLIAMS** "Microbiología Odontológica" Cuarta Edición. Editorial Interamericana. México 1986.

50. **NOVAES – GONZÁLES** "Periodontal Disease Progression in Type II non-insulin-dependent Diabetes Mellitus Patients (NIDDM): Part II Microbiological Analysis using the BANA Test" Braz.Dent.J. Vol.8 No.1:27 – 33. 1997.

51. **OLIVIERI M. CH.** "Paciente Dental con Diabetes Sacarina" Clinica Odontológica de Norteamérica Edit. Interamericana, Vol. 2 USA 1983.

52. **PROGRAMA DE FORMACIÓN CONTINUA EN MEDICINA ASISTENCIAL** "Enfermedades Endocrinológicas y Metabolicas - IV" Rev. Medicin Nº 47, 7 Edic. Abril 1997.

53. **PROGRAMA DE FORMACIÓN CONTINUA EN MEDICINA ASISTENCIAL** "Enfermedades de l Sistema Inmune. Fundamentos. I - II" Rev. Medicin Nº 50-51, 7 Edic. Mayo 1997.

54. **RAMFJORD S.** "Periodontología y Periodoncia" Segunda Edición. Edit. Panamericana-Argentina 1982.

55. **REES T. D.** "El paciente Odontológico Diabético" Clinica Odontológica de Norteamérica Edit. Interamericana, Vol. 3 USA 1994.

56. **RICE – GAM – KINKADE** "Defensin-rich Dense Granules of Human Neutrophils" Blood.70: 757. 1987.

57. **RUIZ M. - QUIBRERA R. - CALDERON R.** "Consenso sobre Prevención, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus No Insulinodependiente" Edit. Mayo Argentina 1995.

58. **ROMERO RIVAS – GUTIÉRREZ M. J.– ROJAS** "Diagnóstico Precoz de la Diabetes mediante Estudio Histológico de la Gíngiva" Rev.Alma Mater UNMSM. Vol.8: 65 – 78. Agosto 1994.

59. **RUSSELL B.G.** "Gingival Changes in Diabetes Mellitus" Acta Pathol. Microbiol.Scand.68: 161. 1966.

60. **SANS SABRAFEN J.** "Hematología Clínica" Tercera Edición. Mosby/Doyma Barcelona – España 1995.

61. **SCHLOSSMAN – KNOWLER – GENCO** "Type 2 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease" J.Am.Dent. Assoc.Vol.121.No.4:532 – 561October 1990.

62. **SHAFER – LEVY** "Tratado de Patología Bucal" Cuarta Edición. Edit.Interamericana. México 1986.

63. **SIGUSH – KLINGER – HOLTZ – SÜSS** "In Vitro Phagocytosis by Crevicular Phagocytes in many Forms of Periodontitis" J.Periodontol. 63:496 – 501. 1992.

64. **SILNESS – LÖE** "Periodontal Disease in Pregnancy" Acta Odont.Scand.22:121. 1964.

65. **SNYDERMAN R.** "Contemporary Topics in Inmunobiology.Regulation of Leukocyte Function" Plenum Press. Vol.14New York 1984.

66. **SPANGLER – KONEN** "Oral Health Behaviors in Medical Patients with Diabetes Mellitus" J.Dent.Hyg.Vol.68.No.8:287 – 293.November-December 1994.

67. **TAN – ANDERSON – WATANAKUNAKORN** "Neutrophil Dysfunction in Diabetes Mellitus" Journal.Lab.Clin.Med. Vol.85.No.1:26-33 January 1975.

68. **TARTORA – REYNOLDS** "Principios de Anatomía y Fisiología" Séptima Edición. Edit.Mosby/Doyma. Madrid-España 1996.

69. **VAN DYKE – ZINNEY – WINKEL** "Neutrophil Function in Localized Juvenil Periodontitis: Phagocytosis, Superoxide Production and Specific Granule Release" J.Periodontol.903 – 908. Nov.1986.

70. **WIERUSZ – WYSOCKA – WYSOCKI** "Phagocytosis, Bactericidal Capacity and Superoxide Anion (O_2^-) Production by Polymorphonuclear Neutrophils from Patients with Diabetes Mellitus" Folia aematol.Int.May.Klin.Morphol.Blutforsch. Vol.112.No.5:658 – 668. 1985.

71. **WILSON-KORNMAN** "Fundamentals of Periodontics" Edit.Quintessence Books USA 1996.

72. **WILSON-REEVES W.G.** "Neutrophil Phagocytosis and Killing in Insulin-Dependent Diabetes" Clin.Exp.Inmunol.Vol.63 No.2: 478-484 February 1986.

73. **WORTHINGTON BRANCH CO.** "Enzyme Reagents and Biochemicals" New Yersey USA 1972.

74. **ZACHARIASEN R.D.** "Diabetes Mellitus and Periodontal Disease" Compendium Vol.12 No.5: 324, 326-328. May 1991.

75. **ZAMBON-REYNOLDS-GENCO** "Microbiological and Inmunological Studies of Adult Periodontitis in Patients with No Insulin-Dependent Diabetes Mellitus" J. Periodontol. Vol.59 No.1: 23-31. Jun 1988.

76. **ZUCHELLI-PARENTE-MELOTTI** "Funtional PMN Defects in Young Periodontal Patients" Dent.Cadmos 28:59 (3); 48-56. February 1991.

ANEXOS

INSTRUMENTO

FICHA DE EVALUACION DE LA FAGOCITOSIS DE LOS LEUCOCITOS CREVICULARES EN RELACION A PACIENTES DIABETICOS CON ENFERMEDAD PERIODONTAL

Ficha N° ☐☐

Fecha ☐☐☐

H.E. No ☐☐☐☐☐☐ **H.D. No** ☐☐☐☐☐☐

Nombre: _____

Dirección: _____

Edad: ☐☐ **Sexo: F** ☐ **M** ☐ **Telf:** _____

I.- EVALUACION GENERAL:

- **Toma Antibióticos:** Si ☐ No ☐

-¿Desde hace cuánto tiempo que no toma antibióticos?

Menos 6 meses ☐ Más de 6 meses ☐

-Toma antiinflamatorios S ☐ No ☐

¿Desde cuánto tiempo que no toma antiinflamatorios?

Menos 6 meses ☐ Más de 6 meses ☐

II.- EVALUACION DE LA DIABETES MELLITUS

- **Glicemias** 1° _____ mg %
  2° _____ mg % Promedio: _____ mg %
  3° _____ mg %

-Tiempo de Diagnóstico de Diabetes:

Menor de 10 años ☐ Mayores de 10 años ☐

-Necesidad de Insulina: Si ☐

No ☐

-Consulta al Endocrinólogo en el último año:

1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐

7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 ☐ 11 ☐ 12 ☐ Más Veces ☐

-Diagnóstico de complicaciones tardías: Neuropatía diabética. ☐

Ninguna ☐

Retinopatía diabética ☐ Nefropatía diabética ☐ Pie diabético ☐

II. EVALUACION DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

Selección de las piezas dentarias a evaluar:

	Si	No		Si	No
1.- 1° MSD	☐	☐	4.- 1°MII	☐	☐
2.- ICSI	☐	☐	5.- ICID	☐	☐
3.- 1°PMSI	☐	☐	6.- 1°PMID	☐	☐

INDICADORES GINGIVALES:

Indice Ginginal (Loe-Silness): IG

Sector / Pieza Dental	MV	V	DV	L/P	IG

0= Encía normal
1= Inflamación con cambios pequeños de color y escaso edema.
No hemorragia.
2= Inflamación moderada,enrojecimiento,edema. Hemorragia.
3= Inflamación,enrojecimiento y edema severos.Ulceración y tendencia a sangrado espontáneo.

Pieza Dental Seleccionada: ☐ Sector: ☐

Nivel de Hueso Alveolar

Sector / Pieza Dental	Cresta Mesial (mm.)	Indice	Cresta Distal (mm.)	Indice	

Pieza Dental Seleccionada ☐ Sector: M ☐ D ☐

Pieza (S) Dental (es) Seleccionada (s) para el Estudio (Marcar la (s) zona (s) en donde se tomará la muestra de fluido crevicular)

INDICADORES PERIODONTALES

NIVEL DE ADHERENCIA EPITELIAL (RAMFJORD) NAE

SECTOR / PIEZA-NIVEL		MV		V		DV		L/P		PROMEDIO	INDICE NAE
	UCE-BG										
	BG-FS										
	UCE-BG										
	BG-FS										
	UCE-BG										
	BG-FS										
	UCE-BG										
	BG-FS										
	UCE-BG										
	BG-FS										
	UCE-BG										
	BG-FS										

IV. EVALUACIÓN DE LA FUNCION DE LOS FAGOCITOS CREVICULARES.

- **VIABILIDAD CELULAR**

Tipo	Cantidad
Vivas	Células/ml
Muertas	Células/ml

- **ACTIVIDAD FAGOCÍTICA**

Fagocitadas	C. albicans/Campo
No Fagocitadas	C. albicans/Campo

UNIVERSIDAD NACIONAL
MAYOR DE SAN MARCOS

SISTEMA DE BIBLIOTECAS

BIBLIOTECA CENTRAL

CLASIFICACION:

INGRESO:

U.N.M.S.M. BIBLIOTECA CENTRAL
000000103239