



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

TESIS

**MODULACION DE LA EXPRESION DE INTERLEUCINA-6 EN
RESPUESTA AL MOVIMIENTO DENTARIO INDUCIDO POR EL
ARCO .014 DE NiTi EN PACIENTES CON MALOCCLUSION**

para obtener el grado de

ESPECIALISTA EN ORTODONCIA

PRESENTA:

C.D. LUIS CENEN LEON ROMERO

DIRECTOR DE TESIS:

M.C. DRA. LUZ MARIA VARGAS PURECKO.

ASESOR EXTERNO:

D.C. ALAIN R. RODRÍGUEZ OROZCO.

ASESOR EXTERNO:

M .FB. HÉCTOR RUIZ REYES

MORELIA, MICHOACÁN

MÉXICO

2008

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES	8
2.1 Maloclusión y apiñamiento dentario.	8
2.2 Saliva.	10
2.3 Biología de los movimientos dentales.	11
2.4 Citocinas.	16
2.5 Linfocitos T y citocinas en la enfermedad periodontal.	18
2.6 Interleucina 6.	19
2.7 Antecedentes específicos.	21
3.-OBJETIVOS:	22
3.1 Objetivo General	23
3.2 Objetivo específico	23
4.- PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	24
5.-JUSTIFICACION	25
6. HIPOTESIS	25
7.-MATERIALES Y MÉTODOS	26
7.1-CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO	26
7.2. CRITEROS DE INCLUSIÓN	27
7.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	27
7.4 PROCEDIMIENTO CLÍNICO ORTODONTICO	28
7.5 PRUEBAS DE LABORATORIO	29
7.5.1 OBTENCION DE LAS MUESTRA BIOLÓGICAS	29
7.5.2 MEDIOS RPMI+ SBF1 10%	29
7.5.3 OBTENCIÓN DE LAS CÉLULAS MONONUCLEADAS	29
7.5.4 ESTIMULACIÓN DE CÉLULAS MONONUCLEADAS POR CONSTITUYENTES DE LAS SALIVA	30
7.5.5 DETERMINACION DE INTERLEUCINA-6 EN SOBRENADANTES DE CULTIVO CELULAR	31
7.5.6 ANALISIS ESTADÍSTICO	32
8.- ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	34

9. RESULTADOS	34
9.1 Tabla 3. Tabla de ajustes de la curva Standard de IL-6 humana.	35
9.2 Figura 5. Curva de patrón para la determinación de IL-6 por..... ensayo de ELISA.	36
9.3 Tabla 2. Concentración de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular antes y después de la colocación de de la aparatología ortodóntica.	37
9.4 Graficas de la expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva de cada uno de los pacientes, antes y después de la colocación de la aparatología ortodóntica.	39
9.5 Análisis Estadístico	44.
10. DISCUSIÓN	46
11. CONCLUSIONES	50
12- SUGERENCIAS	51
13. BIBLIOGRAFÍA	52
14. ANEXOS	53
14.1 Hoja de captación	
14.2. Consentimiento informado	54
14.3 Cronograma de actividades	55
14.4 Fotografías del procedimiento clínico	55

DEDICATORIAS:

-A PAPA DIOS: Gracias señor por todas las cosas buenas y malas que me brindaste durante mi paso por este posgrado, y sobre todo por darme la gran oportunidad de realizar este sueño que se veía imposible para mí... así pues, gracias te doy señor por que me llenaste de fuerza y entereza y no me permitiste caer cuando más te necesite y cuando estuve apunto de tirar todo por la borda...GRACIAS!!!!

-A TÍ MAMITA: A ti, más que a nadie en este mundo te la quiero dedicar, por que Tu eres mi pilar sobre esta tierra, y que a pesar de todo siempre tienes una sonrisa que me da fuerza para seguir adelante. Mami, gracias por ser Mamá y Papá a la vez, y por ser siempre tan linda, tan buena y tan cariñosa, eres única en esta vida.

Además por que este logro mío también es tuyo, por que se que en este sueño mió, se han realizado muchos tuyos... TE AMO!!!!

-A TÍ TIA SARITA: Mil Gracias tía, de verdad quiero agradecerte infinitamente todo esto que has hecho por mí, por Palomita, Por Inde y por mi Mamita, sabemos los tres que sin todo tu apoyo y amor nunca hubiéramos salido adelante....UN MILLON DE GRACIAS TIA!!!!

-A TÍ PALOMITA: Mil gracias mi niña. A ti sabes que no te puedo decir nada que ya no sepas...sabes que desde niños hemos estado juntos y que somos el complemento uno del otro, mil gracias por ser ese complemento que siempre necesito para caminar....

-A TÍ INDE: Se que piensa a veces que no te quiero, pero sabes que no es así, te quiero por que los dos somos iguales. Hermanita Gracia por ayudarme y acompañarme siempre.

-A UD. DRA VARGAS: A mi maestra, ejemplo y amiga. Dra. Vargas, le dedico este trabajo, por que nadie más que usted vio todo lo que me costo hacerlo crecer; cuando habían varios que no creían en el, usted me volvía a dar aliento para no desvanecer el sueño que me había forjado. Además de ser tan comprensible conmigo durante mi estancia en el posgrado, por que tenía que soportar mis genios y hasta a veces secar las lagrimas del alumno mas latoso que ha tenido, por todo eso y más....

MUCHAS GRACIAS!!!!!

-A TÍ ADRIÁN: Al amigo y hermano que nunca tuve. Amigo de dedico este pequeño trabajo con mucho cariño, sabemos que Tu y tu familia siempre ha sido un gran soporte y apoyo para mí y mis hermanas desde que llegue a vivir a Morelia. Se que sin tu ayuda no hubiera sido fácil para mí poder realizar este sueño de vida que tenía...

GRACIAS POR SIEMPRE!!!!

AGRADECIMIENTOS:

-DR ALAIN RAYMUNDO OROZCO: Por toda su ayuda brindada para la realización de este trabajo de investigación. Que se, que gracias a toda su experiencia, ya hemos obtenido varios éxitos, como un segundo lugar en un congreso Internacional. MUCHAS GRACIAS.

-M. FB. HÉCTOR RUÍZ: Mil gracias Hectorín, nunca voy a poder terminar de agradecerte toda tu ayuda y entrega a este trabajo. Y se que eres una persona súper preparada y vas a llegar muy lejos. GRACIAS!!

-A MIS MAESTROS:

DR. VIDAL ALANZA: Gracias por todos los conocimientos brindados estos 3 años, además por creer en mi y darme la oportunidad de participar en el congreso nacional en Tepic.

DRA. SARITA. Gracias por ser amiga y maestra.

DRA. ELIZABET ZEPEDA: Gracias por enseñarme a doblar alambre, le debo las clases de baile.

DR. RAMON RAMIREZ. Gracias por todas sus enseñanzas, de usted aprendí mucho!!!

DRA. ROSAIO ORTÍZ. Gracias por ser tan linda y tan gentil.

-A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS: Xo, Bere, Chavita, Rosy, Mayo, Alex, Karla, Sugey, Vere, Pao, a todos ustedes por siempre quererme y aceptarme como soy , con todos mis miles de defectos; siempre los recordaré por formar parte de una de las etapas más importantes de mi vida.

Especial a ti **BERE Y KARLA** que siempre estuvimos juntos, de la greña, pero juntos, nunca olvidare esos días tan padres....

-BERE Y SUGEY: Gracias por su ayuda en las pruebas de mi tesis...

-A MIS AMIGOS (MORELIA).

ANITA. Amiga te quiero mucho, nunca lo olvides. **CHUCHO:** amigo sabes que aun que ya estamos lejos siempre nos vemos como si no pasara el tiempo. **EMMANUEL:** No creas que por ser el tercero eres menos importante, gracias por toda tu amistad y apoyo. **ADRIANA ARREDONDO:** Amiga gracias por ser como eres, sabes que deseo que pronto termines tu también tu posgrado. **SANDRITA:** Amiga sabes que te queremos como una mas de la familia... **GLORIA (POLLITO):** Pollina, sabes que no te veo como una prima, te veo como una hermana. **PAO:** prima gracias por todo tu cariño.

-A MIS AMIGOS (HUETAMO).

BETO: Amigo, mil gracias por todos estos años de amistad y apoyo, y por confiar en mi como tu Doctor. **LEONOR:** chikis, sabes que te quiero mucho y que hemos vivido muchas cosas muy chidas y que siempre vamos a estas juntos. **ROSY;** Amiga se que te dan gusto mis logros, aun que no os demuestras... **VANE:** Se que pronto tu también lo vas a lograr. **LUIS ENRRIQUE:** Amigo ya termine, ahora cumple y ponme la clínica. **ISITAS:** Rentería León, Gracias a ti también por todos los buenos momentos, y por confiar en mi como tu Dr. **ADRIANA:** Gracias por ser mi madrina

-A MIS PAICENTES DEL POSGRADO. A todos y cada uno que vi durante mi estancia, que aparte que aprendí mucho de ellos me lleve a encariñar con todos... Gracias a cada uno de ustedes y en especial a los que participaron con mi trabajo de investigación.

1.-INTRODUCCION:

El apiñamiento dentario es una anomalía dentomaxilar altamente frecuente, asociado con otros signos de maloclusión. El recurso clínico-ortodóntico para corregirlo es el movimiento dentario inducido por fuerzas mecánicas en los tejidos periodontales que bajo la fuerza mantenida, sufren una serie de modificaciones reguladas por procesos histológicos y fisiológicos que pueden dar como respuesta reacciones inflamatorias.

La biología del movimiento dentario comprende el estudio de los fenómenos celulares, bioquímicos y moleculares que ocurren en la estructura del ligamento periodontal y el hueso alveolar que envuelven al diente, durante el tratamiento Ortodóntico lo cual condiciona fenómenos de resistencia celular, estímulo, adaptación y agresión a los tejidos.

Cuando algún agente físico, químico o biológico actúa sobre las células, ellas resisten por su estructura y por la producción de sustancias que inhiben o anulan tal acción. La reacción frente a un agente lleva a una ruptura circunstancial de la homeostasis y aumento de la función celular, estos cambios forman parte del estrés celular.

Cuando las células tienen que modificar su estructura y función a una nueva situación por acción de un agente, sin retorno al estado anterior de la agresión, tendremos una adaptación celular y de los tejidos.

Sí la agresión reduce la capacidad funcional y modifica la estructura celular debilitando esta, tendremos un fenómeno degenerativo que puede evolucionar hasta la muerte celular y desorganización local del tejido, esta desintegración celular y de los tejidos locales, genera productos tisulares, especialmente proteínas, que van a desencadenar la inflamación, un mecanismo que deja de ser estrictamente celular y pasa a ser un fenómeno de defensa de los tejidos. (1).

Estudios realizados por Tzannteou y cols. pretenden aclarar que los mecanismos involucrados en la respuesta ortodóntica, guardan una relación con la hipótesis de que el movimiento dental se asocia a una respuesta inmune, debido a la presencia de células inflamatorias, citocinas, prostaglandinas, factor de necrosis tumoral, interferón gamma, interleucinas, hormonas y otras moléculas que se observan en el ligamento periodontal después de aplicar la fuerza ortodóntica. En ésta hipótesis, se considera que éstos mediadores de la inflamación son liberados gracias a un estímulo mecánico que inicia los procesos biológicos asociados con la reabsorción y aposición ósea alveolar.

Aunque aún existen grandes interrogantes con respecto a la relación que existe entre el estímulo mecánico y éstos mediadores químicos locales durante el tratamiento ortodóntico,

deben tenerse presentes los mecanismos biológicos implicados en el mismo, ya que existen fuertes evidencias de que ciertas sustancias químicas son capaces de influir sobre la actividad celular, afectando la remodelación de los tejidos de sostén del diente.

2.-ANTECEDENTES:

2.1.-MALOCLUSIONES Y APIÑAMIENTO DENTARIO:

En un estudio, realizado por el Departamento de Estadística del Servicio de Salud Pública, de los Estados Unidos, aplicado a niños de entre 6 a 11 años de edad y a jóvenes de entre 12 a 17 años de edad, para valorar la oclusión y poder disponer de un indicador acerca de la gravedad general de los problemas oclusales, cerca de 25 % de los niños de entre 6 a 11 años tenían una oclusión casi ideal; el 75 % representaba alguna desviación apreciable con respecto a la oclusión ideal. Los porcentajes de los adolescentes de 12 a 17 años con maloclusión leve y moderada fueron similares, pero la mayoría presentaban problemas de maloclusión grave o muy grave.

Como era de esperar, los dientes mal alineados (apiñados) constituyen un factor aislado que con más frecuencia contribuye a la maloclusión. Aproximadamente el 40% de los niños y el 85% de los adolescentes, representan algún grado de mal alineación en los arcos dentales, es decir, una puntuación de desplazamiento dental superior a cero. (2).

El apiñamiento es una de las anomalías que con más frecuencia se presenta en la población en general y en pacientes ortodónticos, combinados o no con otros signos de maloclusión. Puede definirse cuantitativamente como una discrepancia entre la suma de los diámetros mesiodistales de un grupo de piezas y la longitud clínica de arcada disponible en la que la primera supera a la segunda.

En la dentición permanente, el apiñamiento aparece con más frecuencia en el grupo de incisivos inferiores, debido a los mecanismos biológicos que permiten compensar las diferencias de tamaño entre las piezas temporales y las permanentes. Berger cita cifras de varios autores que indican una frecuencia de 32% para el apiñamiento maxilar y un 52% para la mandibular; Lundstrom valora en un 35 % y 50% la prevaencia del apiñamiento

en las arcadas maxilar y mandibular; Moorrees aporta cifras de 26.4 y 48 % respectivamente.

Los datos epidemiológicos disponibles indican, en términos generales: Una frecuencia de apiñamiento del segmento anteroinferior de al menos de 50% en la población general que parece elevarse a cerca del 90% en población sometida a tratamientos dentales. (3).

Al pasar de medio rural a las ciudades, se ha observado una mayor prevalencia de apiñamiento, mordida cruzada posterior, y discrepancias de segmentos bucales en los jóvenes de las ciudades en comparación con los de las zonas rurales del Punjab, en el norte de la India. (4).

El apiñamiento y la malposición de los dientes fue el primer objetivo de la ortodoncia. El tratamiento del apiñamiento camina siempre entre la expansión y la extracción. La práctica actual de la estomatología, defiende el principio básico de intentar corregir cualquier maloclusión sin hacer extracciones. Teóricamente hay cuatro vías posibles los problemas de apiñamiento por falta de espacio: Ahorrar espacio en el periodo transicional antes de que complete la erupción permanente., recuperar espacio perdido por migración o la erupción anómala de algunas piezas, expansión transversal de las arcadas y extraer piezas permanentes. (5).

Aunque la evaluación del apiñamiento es importante en la planificación del tratamiento de cualquier maloclusión, a menos que sea grave no debe predominar sobre los factores de dimensión vertical, características de horizontalidad y posición de los incisivos. Si estos tres factores hablan a favor de un tratamiento sin extracciones, todos los casos, excepto los graves apiñados, podrán tratarse sin extracciones, mediante procedimiento de ganancia de espacios, como por ejemplo, el enderezamiento y la retracción de los molares, la expansión y el enderezamiento de los segmentos bucales por avance de los incisivos y un discreto stripping interproximal. Por otra parte, si los tres factores apoyan al tratamiento

con extracción, incluso los casos con apiñamiento mínimo, pueden tratarse con éxito mediante extracciones. (6).

2.2.-SALIVA:

El líquido de la cavidad oral “la saliva”, desempeña un papel importante en la digestión de diversos alimentos y en la protección de los dientes y de la mucosa oral y esofágica, y es producida por las glándulas salivales, que vierten sus secreciones en la boca.

Los principales tipos de secreciones, de las glándulas salivales humanas son las secreciones serosas, claras y acuosas, ricas en proteínas enzimáticas y no enzimáticas, y con pequeñas cantidades de polisacáridos, y las secreciones mucosas espesas, viscosas y filiformes, ricas en polisacáridos y con escasa cantidad de proteínas, generalmente de carácter no enzimático. Existe otra que es mixta, y consta de una mezcla de secreciones mucosas y serosas y las células que las producen poseen características morfológicas e histoquímicas intermedias entre las serosas y las mucosas. (7).

La principal función de las glándulas salivales, es secretar saliva, que humedece la boca y los alimentos. Esta función es ejecutada por el agua y por glucoproteínas que entran en la composición de la saliva.

Del total de la saliva producida en la especie humana, el 70% procede de las sublinguales, el 25 % de las parotideas y el 5 % de las sublinguales. Los acinos serosos, conductos intercalares y conductos estriados sintetizan las piezas secretoras que se unen a las inmunoglobulinas A (IgA) producidos por plasmocitos del tejido conjuntivo de las glándulas salivales, para formar IgA secretora, la cual es resistente a la digestión enzimática y constituye un mecanismo de defensa inmunológica frente a los organismos patógenos de la cavidad bucal. (8).

2.3.-BIOLOGÍA DE LOS MOVIMIENTOS DENTARIOS:

La biología del movimiento dentario comprende el estudio de los fenómenos celulares, bioquímicos y moleculares que ocurren en la estructura del ligamento periodontal y el hueso alveolar que envuelve el diente, durante el tratamiento ortodóntico.

- El movimiento dentario inducido por fuerzas mecánicas constituye el recurso clínico del cual, la ortodoncia hecha mano, para proporcionar a los pacientes, dientes con oclusión y estética aceptables. Por esta razón, se torna imprescindible a los que participan en esta área, el conocimiento global de estos eventos, pues:
- Se necesita de los fundamentos biológicos, para entender las variables respuestas clínicas frente a una misma mecánica.
- El avance de la biología molecular, como consecuencia de la alta tecnología, traza perspectivas de una ortodoncia futura, donde el movimiento dentario se hará con la ayuda de medicamentos; entonces, se hace necesario entender como ellos actúan. ⁶

En el entendimiento del movimiento dentario inducido, tenemos que tener en mente, lo que es resistencia celular, estímulo, adaptación y agresión a los tejidos.

Cuando algún agente físico, químico o biológico actúa sobre las células, ellas resisten por su estructura y por la producción de sustancias que inhiben o anulan tal acción (resistencia celular). La reacción frente a un agente lleva a una quiebra circunstancial de la homeostasia y aumento de la función celular, caracterizando un estrés celular. Cuando las células tienen que modificar su estructura y función a una nueva situación por acción de un agente, sin retorno al estado anterior de la agresión, tendremos una adaptación celular y de los tejidos.

Sí la agresión reduce la capacidad funcional y modifica la estructura celular debilitándola, tendremos entonces un fenómeno degenerativo que puede evolucionar hasta la muerte celular y desorganización local del tejido. Esta desintegración celular y

de los tejidos locales, generan productos tisulares libres, especialmente proteínas, que van a desencadenar la inflamación, un mecanismo que deja de ser estrictamente celular y pasa a ser un fenómeno de defensa de los tejidos, más amplio (agresión tisular) (9).

Desde hace bastante tiempo se ha intentado explicar el movimiento dentario ortodóntico, la primera teoría al respecto, se remonta, a 1880, cuando Norman Kingsley, dijo que los dientes se movían como resultado de la elasticidad del hueso alveolar. Posteriormente Oppenheim en 1911, estableció las bases de la clásica hipótesis de la Tensión-Presión, donde establece que el hueso que se opone al movimiento tendrá que resorberse para permitir el desplazamiento dentario, mientras que en el lado opuesto, aumentará la tensión de las fibras periodontales.

La teoría de presión-tensión, relaciona el movimiento dentario con respuestas bioquímicas de las células y componentes extracelulares del ligamento periodontal y apoya el término de que se puede alterar el flujo sanguíneo, reduciendo o aumentando el diámetro de los vasos. (10).

El movimiento ortodóntico puede consistir en un desplazamiento del diente, junto con la masa ósea o a través de la masa ósea. En el primer caso se produce una reabsorción ósea directa del hueso situado del lado en que se ejerce presión sobre el ligamento. En el lado opuesto el estiramiento del ligamento periodontal (LPD), se acompaña de un aumento de la superficie del proceso alveolar por aposición ósea. En el movimiento dental a través del hueso, reabsorción ósea indirecta, el LPD queda comprimido de tal manera en la zona de presión, que se produce un proceso de isquemia local, acompañado de hialinización. En este caso, la reabsorción ósea no se presenta en la zona de presión, sino a distancia y cuando alcanza al LPD, el diente se mueve de una sola vez por ensanchamiento del LPD y del proceso alveolar sin que se haya producido aposición ósea en el lado de la tensión. El

ensanchamiento inicial del LPD es de aproximadamente 0.5mm y se observa especialmente a nivel de la cresta alveolar y/o el ápice.

Si la presión ejercida sobre las estructuras periodontales excede la presión sanguínea normal (25 a 35 g/cm²), los vasos sanguíneos se ocluyen, se irrumpe la nutrición de los tejidos, se reduce la actividad celular y se impide el desplazamiento del diente. (11).

El conjunto periodontal es un sistema mecánico que soporta al diente y le permite resistir las fuerzas ambientales. Está compuesto por dos tipos de elementos que oponen resistencia al desplazamiento. Por otra parte, el propio ligamento compuesto por haces de fibras colágenas que al insertarse en el diente y en el hueso une dos estructuras prestándoles fijación y cierta movilidad. Pero, con frecuencia, se olvida que el sistema fibroso es una parte de éste doble sistema operativo y no se tiene en cuenta este papel hidráulico de los dos líquidos del espacio periodontal: corriente sanguínea y material conectivo de relleno.

Las fibras colágenas, son un mecanismo de las fibras periodontales, que ante una fuerza desplazante, actúan como resorte o muelles que amortiguan el impacto y sujetan al diente.

La presión hidráulica del líquido periodontal, actúa como primer amortiguador de la fuerza externa, se regula por la ley hidráulica básica según la cual, todo líquido transmite uniformemente en todas las direcciones, a todo el espacio periodontal y provoca un escape de líquidos hacia el exterior a través del sistema circulatorio. Si la intensidad de la fuerza o la persistencia de su acción logra vencer la resistencia de los haces colágenos, tendrá que ser el hueso alveolar el que se adapte al movimiento dentario por medio de una remodelación osteogénica y osteolítica.

Para que se produzca un movimiento dentario cuando aplicamos fuerza a un diente, tiene que existir reabsorción ósea. La fuerza ortodóntica debe vencer una doble resistencia. En primer lugar, la resistencia del periodonto, en la que se engloban las fibras y los líquidos que constituyen la sustancia amorfa fundamental del periodonto; tras superar ésta

resistencia se produce un ligero movimiento dentario en consonancia con el espesor del espacio periodontal. En una segunda fase cronológica hay que vencer la resistencia que ofrece el hueso maxilar. Inicialmente se opone a la elasticidad propia del alveolo y, tras la deformación mecánica viene una reabsorción del hueso que permite el desplazamiento dentario.

El ligamento periodontal está situado entre dos estructuras duras, el cemento y el hueso alveolar, y al aplicar la fuerza se reduce la circulación sanguínea. Si la intensidad es ligera y no llega a bloquear totalmente la irrigación de la zona, se iniciará una actividad osteoclástica que destruirá y reabsorberá la pared ósea alveolar que se enfrenta al desplazamiento dentario: es la reabsorción ósea directa del lado de la presión.

La aplicación de la fuerza intensa y prolongada, produce una oclusión vascular que da lugar a cambios progresivos a nivel periodonto donde microscópicamente se observa que desaparece la organización fibrilar y cesa toda actividad celular. Reitan ha denominado hialinización a éste fenómeno, que se caracteriza por la degeneración pínica de los núcleos de tejido conectivo, la lisis celular con desaparición de los capilares y la unificación de las fibras periodontales.

Actividad vascular: la relación entre la corriente circulatoria y la reabsorción ósea, fue reconocida en tiempos iniciales de estudios del movimiento dentario. Así Sandstedt observó que existía una significativa diferencia en la relación tisular ante fuerzas ligeras y fuerzas intensas aplicadas sobre los dientes de un grupo de perros. Estudios similares condujeron a Schwartz a proponer que para conseguir los máximos efectos biológicos las fuerzas ortodónticas no debían ocluir la corriente circulatoria; estimó que para que una fuerza no resultara lesiva no debería sobrepasar la presión capilar intraperiodontal, que para éste autor, estaba situada entre 20 y 26 g/cm².

Posteriormente, Gianelly, estudió por perfusión con tinta china, el estado vascular del ligamento periodontal en perros a los que les aplicó diferentes cantidades de fuerza. Cuando se aplicaban 50 gm, el paquete vascular no se afecta y aparecía la circulación sanguínea prácticamente intacta. Las fuerzas de 100 gm reducía el flujo vascular, aunque seguía habiendo una circulación a nivel periodontal. Al aumentar a 150 gm, se producía una verdadera oclusión vascular. (12).

La respuesta a una fuerza mantenida sobre los dientes, dependerá de la magnitud de la misma; las fuerzas intensas darán lugar a la rápida aparición de dolor, a necrosis de los elementos celulares del Ligamento Periodontal (LPD) y al fenómeno de la reabsorción basal del hueso alveolar cercano al diente afectado. Las fuerzas de menor intensidad son compatibles con la supervivencia de las células del LPD y con una remodelación del alvéolo dental mediante una reabsorción frontal, relativamente indolora. En la práctica ortodóncica, lo que se pretende es conseguir el mayor movimiento dental posible mediante reabsorción frontal, aceptando que es probable que sea posible que se produzcan algunas zonas de necrosis del LPD y de reabsorción basal, a pesar de nuestros esfuerzos por evitarlas.

Cuanto mayor sea la presión mantenida, mayor será la reducción del flujo sanguíneo a través de las zonas comprimidas del LPD, hasta el punto de que los vasos queden colapsados y dejen de fluir sangre por ellos. Cuando se aplica una fuerza ligera, pero prolongada, el flujo sanguíneo a través del LPD parcialmente comprimido, disminuye tan pronto como los líquidos salen del espacio del LPD y el diente se mueve en el alveolo. Al cabo de algunas horas, el cambio producido en el entorno químico induce a un patrón de actividad celular diferente. Los experimentos con animales indican que se produce un aumento en los niveles de monofosfato cíclico de adenosina (AMP), el segundo mensajero

en muchas funciones celulares importantes como la diferenciación después de 4 horas de mantener la presión. (13).

Al aplicar una fuerza ortodántica sobre un diente, el ligamento periodontal sufre una serie de modificaciones. En las zonas de presión se evidencian cambios vasculares con dilatación de los vasos sanguíneos, estasis y desintegración de las paredes vasculares. También pueden observarse zonas de tensión, cambios en el flujo sanguíneo con migración de leucocitos hacia el espacio extravascular, lo cual indica la presencia de una reacción inflamatoria leve.

Estas alteraciones de flujo sanguíneo inducen cambios químicos que actúan directamente o estimulan la liberación de otras sustancias biológicamente activas, para posteriormente conllevar a la diferenciación celular.

Según Rygh, 1986, el estímulo para la diferenciación celular que conlleva en última instancia al movimiento dental, depende más de señales químicas que eléctricas. Los mensajeros químicos juegan un papel importante en la secuencia de eventos que dan lugar a la remodelación del hueso. (14).

2.4.-CITOCINAS:

Las citocinas juegan un papel importante en la proliferación y diferenciación de las estirpes celulares y han sido implicadas en la patología de las enfermedades periodontales, en la remodelación del hueso, y en la respuesta del hueso al tratamiento ortodántico. Se ha podido identificar que las citocinas intervienen en la remodelación ósea, como una de las más importantes sustancias que inducen a la reabsorción. La remodelación ósea es usada por los ortodoncistas, cuando las fuerzas transmitidas al tejido circundante del periodonto, inician el proceso de remodelación.

El movimiento dental inicial, requiere una reacción inflamatoria aguda, con la migración de leucocitos. Se ha demostrado que los neurotransmisores y citocinas están asociadas con la activación del hueso alveolar y las células periodontales. El hueso es reabsorbido en áreas de compresión, del lado hacia donde las fuerzas son dirigidas, y las áreas de aposición están del lado donde se da la tensión. De éste modo el movimiento dental sobre el hueso se lleva acabo. (15).

Al contrario de la activación inicial de las células T, que implica el contacto íntimo con las células presentadoras de antígeno, la proliferación y maduración posteriores de la respuesta son orquestadas por citocinas.

Estas proteínas secretadas, de peso molecular bajo, por lo común de 15 a 25 kDa, median el crecimiento celular, la inflamación, la inmunidad, la diferenciación, la migración y la reparación. Dado que regulan la amplitud y la duración de las respuestas inmunoinflamatorias, deben ser producidas en forma transitoria y estrictamente reguladas; es relevante que las secuencias con alto contenido en las regiones no traducidas 3' del mRNA de muchas citocinas se relacionen en forma directa con un degradación rápida y, por lo tanto, con una vida media corta. Al contrario de las hormonas endocrinas, la mayoría de la citocinas normalmente actuan en el lugar en forma paracrína o incluso autocrina. Así, las citocinas derivadas de los linfocitos pocas veces persisten en la circulación, pero las células no linfoideadas pueden ser estimuladas a liberar citocinas por productos bacterianos, las cuales pueden detectarse en el torrente sanguíneo a menudo en perjuicio del huésped. Ciertas citocinas, como la Interluecina 1 y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF), también pueden ejercer sus efectos estimuladores sin tornarse solubles (16)).

2.5.-LINFOCITOS T Y CITOCINAS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL:

El desarrollo y la regulación de la respuesta inmunitaria dependen de gran parte de la producción local de ciertas cantidades de citocinas que pueden determinar si la respuesta es protectora o no. La respuesta inmunitaria a la infección es regulada por el equilibrio entre las citocinas T cooperadoras Tc1 y Tc2. Se ha aceptado por años que el efecto neto de las citocinas Tc1 IL-2 e IFG- γ es el de potenciar las respuestas celulares, mientras que las citocinas Tc2 es el de suprimir dichas respuestas celulares y, por lo tanto, mejorar la resistencia asociada a la inmunidad humoral. Algunas de la principales citocinas que se producen por linfocitos y que regulan muchos de los aspectos de la respuesta inmune en que participan estas células se muestran en la tabla I

TABLA I.- PRINCIPALES CITOCINAS. ORIGEN Y FUNCION

CITOCINAS	ORIGEN	FUNCION EFECTORA
IL-1	Monocitos	Coestimula las células T al aumentar la producción de citocinas entre las que se incluyen la IL-2; induce a las citocinas LI-1, IL-6, IL-8 y FNT
IL-2	Th1	Induce a la proliferación de las células T y B activadas; aumenta la citotoxicidad por NK, así como la destrucción de células tumorales
IL-3	T, NK, MC	Crecimiento y diferenciación de precursores hematopoyeticos
IL-4	Th2, Tc2, Nk, T y MC	Induce a las células Th2,

		estimula a la proliferación de B, T y MC activados; aumenta a la fagocitosis por los macrófagos.
IL-5	Th2, MC	Induce a al proliferación de eosinofilos y B activadas.
IL-6	Th2, Mono, MAC, DC y Estroma de la médula ósea.	Diferenciación de las células madre mieloides y células B en células plasmáticas; induce a proteínas en fase aguda; aumenta proliferación de T.
IL-7	Estroma de la médula ósea	Diferenciación de las células madre linfoides, en células T y B progenitoras
IL- 8	Mono, MAC y ENDO	Media la quimiotaxis y la activación de los neutrófilos
IL- 9	Th	Induce a la proliferación de monocitos y aumenta la producción de MC
IL-10	Th, TC, B, MAC	Inhibe la secreción de IL-2 en Th.

B, células B; DC, célula dendrítica; ENDO, endotelio; IL, interleucinas; MAC, macrófagos; MC, mastocitos; MONO, monocitos; NK, natural killer. (17).

2.6.- INTERLEUCINA-6

La IL-6 es una citocina que actúa en la inmunidad innata y adaptativa. La forma funcional de la IL-6 es un homodímero en el que cada subunidad forma un dominio globular de cuatro hélices alfa. El receptor de IL-6 consta de una subunidad de unión a citocinas y una subunidad transductora de señales; ambas pertenecen a la familia de receptores de citocinas tipo 1. La subunidad traductora de señales tiene un tamaño de 130 kD y se denomina gp130. La IL-6 tiene varias acciones. En la inmunidad innata, estimula la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos, contribuyendo así a los defectos sistémicos de la inflamación, la denominada respuesta de fase aguda. (18).

La IL-6 humana es producto de un gen localizado en el cromosoma 4 y es una linfocina sintetizada y segregada primariamente por células NK, timocitos medulares activados y células Thelper 1(Th1) estimuladas por mitógenos o por interacción del Complejo Receptor de Células T (TSR) con Complejos del Sistema Mayor de Histocompatibilidad-antígeno (MHC-Ag) en la superficie de células presentadoras.

Se ha considerado que también producen IL-6 monocitos, macrófagos, células endoteliales vasculares, fibroblastos, células T activadas y otras células en respuesta a microorganismos y a otras citocinas como IL-1 y TNF γ . (19).

2.7.-ANTECEDENTES ESPECÍFICOS:

En un estudio realizado por el Dr. Yijin Ren, se logró comparar los niveles de Interleucina 6, de 41 pacientes adultos, de entre 24 y 25 años, y de 43 adolescentes, de entre 11 a 12 años, con estado general de salud buena, que no habían recibido terapia antibiótica 6 meses antes, y no usaron medicamentos antiinflamatorios un mes antes y además con antecedentes de buena salud periodontal. Este estudio fue realizado en pacientes que necesitaban un movimiento de tipping del incisivo lateral superior, este moviendo se realizó con un arco 0.012 de Nitinol, mientras que el lateral del lado opuesto fue usado como de control. La fuerza inicial fue de 70cN.

Se tomó una muestra del Fluido Crevicular, antes de la aplicación de la fuerza (t0) y después de 24 hrs. de la aplicación de dicha fuerza (t24), de igual forma para ambos laterales.

Los resultados demostraron que la concentración de Interleucina tuvo un incremento de 64pg/uL a 76 pg/uL (20).

Otro estudio midió las cantidades de Interleucina -8 (IL8), secretadas por monocitos y considerada muy importante en la regulación de la reabsorción alveolar, durante el movimiento dental. Dicho estudio consistió en medir la cantidad de IL-8 del fluido crevicular de 10 caninos, sin importar la clasificación de Angle, en pacientes con extracción de los primeros premolares. Estos caninos fueron movidos distalmente. Se tomó una muestra del fluido crevicular de cada canino, mediante tiras de periodontales, en mesial y distal, a la hora, 24 hrs., 6 días, 10 días y 30 días después de la aplicación de la fuerza. Se usaron ELISAs para medir la cantidad de Interleucina-8. Se demostró que hubo un incremento en la concentración de dicha Interleucina, donde el nivel más alto se presentó a la hora y a las 24 hrs. a la aplicación de las fuerzas ortodónticas. (21).

En el 2006, la Dra. Bletsa realizó un estudio con ratas, en el que midió los niveles de Interleucina-1 y Factor de Necrosis Tumoral. El objetivo de dicho estudio, fue investigar la expresión de dichas citocinas, en los tejidos dentales, durante las primeras fases del movimiento dental Ortodóntico. 18 ratas macho fueron usadas, todos los primeros molares superiores fueron movidos ortodónticamente, con fuerzas de 0.5N, por 3 hrs., 1 día y 3 días. Se utilizó una sustancia inmunohistoquímica, para identificar la Interleucina-1 y otra para identificar al $TNF\alpha$, y las muestras fueron evaluadas en un microscopio de luz. Dichas citocinas se expresaron en el tejido periodontal y en el tejido óseo. Los resultados demostraron que, el incremento de la Interleucina 1 y del $TNF\alpha$ ocurre un día después de la aplicación de la fuerza mecánica, en las dos áreas, la de compresión y la de tensión, pero se expresó más en el área de tensión. (22).

3.-OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la respuesta inflamatoria, en pacientes con maloclusión, antes y después de la colocación de aparatología ortodóntica.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO:

Evaluar la expresión de IL-6 en cultivos de células mononucleadas, activadas con saliva, antes y después de la colocación de la aparatología ortodóntica, con el uso de arco .014 de NiTi, en pacientes con maloclusión.

Evaluar la expresión de IL-6 en la boca como respuesta a la colocación de arco .014 de NiTi en pacientes con maloclusión.

.

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Los movimientos dentales, inducidos por aparatos ortodónticos, causan una respuesta inflamatoria asociada a la expresión de sustancias inflamatorias y puede aumentar la proliferación de células implicadas en la respuesta inmune de la boca. Esos cambios se asocian a la evolución de la maloclusión.

Los movimientos ortodónticos, se encuentra regulados por una serie de procesos histológicos y fisiológicos, que involucran directamente a la respuesta inflamatoria a nivel local.

Al aplicar la fuerza actualmente requerida para los movimientos ortodónticos, efectuamos cambios histológicos, con los que vamos a conseguir la inducción de ciertas citocinas, que actúan en este medio local.

La Interleucina 6, el Factor de Necrosis Tumoral y el Interferón alfa, son mediadores de las respuestas inflamatorias, en particular la IL-6 se ha relacionado con cambios inflamatorios en la mucosa de aparato digestivo.

5.-JUSTIFICACION:

Se conoce que los movimientos ortodónticos, se efectúan gracias a una respuesta fisiológica inflamatoria local, y dicha inflamación esta asociada a la elevación de los niveles de las citocinas involucradas en estas respuestas.

Por su gran significado clínico resulta importante conocer el impacto que la síntesis de IL-6 tiene en la respuesta a las fuerzas aplicadas ortodónticamente.

6.-HIPOTESIS:

Las fuerzas ortodónticas provocan una reacción fisiológica inflamatoria, que aumentan la síntesis de IL-6 transitoriamente.

7.- MATERIAL Y MÉTODOS.

En este estudio de investigación participaron 5 pacientes con maloclusiones, provenientes de la clínica de Ortodoncia, del Centro de Estudios de Posgrado e Investigación de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo de la ciudad de Morelia, Michoacán, México. A estos pacientes se les colocó arco .014 de Nitinol, para corregir la su maloclusión.

7.1.-CLASIFICACION DEL ESTUDIO:

- **INVESTIGACION BÁSICA:** Por que se van a realizar estudios en los niveles de interleucinas humanas, extraídas del plasma de pacientes, antes de la colocación de la aparatología ortodóntica, así como a los 24 hrs. de la colocación.
- **ESTUDIO LONGITUDINAL:** Se hicieron mediciones de citocinas antes y después de la colocación de arco .014 de NiTi a un grupo de pacientes.
- **ESTUDIO COMPARATIVO:** Se realizaron comparaciones de los niveles de IL-6 previo al tratamiento ortodóntico, a las 24 y 72 hr a la colocación de la aparatología.

7.2 Criterios de inclusión:

Pacientes de la clínica de Ortodoncia, del Centro de Estudios de Posgrado e Investigación que presentaron:

- Apiñamiento dental.
- Pacientes entre 15 y 25 años de edad.
- Sin tratamiento Ortodóntico previo.
- Con buena salud periodontal.
- Pacientes sin algún tipo de infección o enfermedad sistémica.
- Que estuvieran algún tipo de tratamiento médico y/o tomando algún tipo de antiinflamatorio.

7.3.-Criterios de exclusión:

- Sin apiñamiento dental.
- Pacientes menores de 15 años y mayores de 25 años.
- Pacientes con tratamiento Ortodóntico previo
- Pacientes con lesiones periodontales.
- Con infecciones o enfermedades sistémicas.
- Que hallan tomado algún tipo de antiinflamatorio.

7.4.- PROCEDIMIENTO CLÍNICO ORTODÓNTICO.

A los cinco pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, se les procedió a realizar los requerimientos dispuestos por el Posgrado de Ortodoncia de la Facultad de Odontología, los cuales consiste en:

- 1.- Historia clínica.
- 2.-Toma de registros clínicos, impresiones y radiografías.
- 3.-Diagnóstico y plan de tratamiento.
- 4.-Cementado de bandas con tubo. El cementado se hizo con ionómero de vidrio de la marca 3M ESPE Ketacem, de autopolimeración.
- 5.-Bondeo de la Aparatología Ortodóntica con resina de fotocurado Trans Bond XP de la marca 3M

Previo a la colocación de la aparatología ortodóntica se realizaron pruebas de laboratorio, en el laboratorio de Inmunología del Posgrado de la Facultad de Ciencia Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la UMSNH.

7.5.-PRUEBAS DE LABORATORIO.

7.5.1. Obtención de la muestra biológica.

Se obtuvieron 10 mL de sangre periférica de cada uno de los pacientes con maloclusiones antes y después de la colocación de los alambres niti .014. La sangre se depositó en tubos de vidrio estéril de 13x75mm con tapón convencional lavanda, el cual contenía anticoagulante EDTA. La sangre extraída se utilizó con la finalidad de obtener y separar células mononucleadas. Además, se recolectó 3 mL de saliva de cada uno de los pacientes en cajas petri estériles, antes y después de la colocación de los alambres niti .014.

7.5.2. Medio RPMI + SBFI 10%.

Medio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) complementado con suero fetal de bovino inactivado al 10% (SFBI 10%).

Descripción: RPMI 1640 (Gibco, Grand Island NY, USA) es un medio de cultivo celular básico usado para una gamma amplia de aplicaciones. Para perfeccionar el cultivo celular de ciertos tipos de células puede complementarse con suero, vitaminas y aminoácidos.

Suero Fetal de Bovino Inactivado: Se inactivó el suero de bovino previamente filtrado (filtros milipore de 0.22 m) en baño maría a 55°C/30 minutos, para inactivar las proteínas del complemento hemolítico.

Medio RPMI + SBFI 10%. En un tubo cónico estéril de 50 mL se depositaron 45 mL de medio RPMI 1640 y se agregaron 5 mL de SFBI inactivado, la solución se agitó en vortex hasta homogenizar.

7.5.3. Obtención de células mononucleadas (Método: Ficoll Paque d = 1.077).

La separación de células mononucleadas (MN) se realizó por el método de selección Ficoll-paque (Amersham Biosciences), con gradiente de densidad 1.077. Las células

totales obtenidas de 10 mL de sangre periférica del paciente, se depositaron en un tubo con anticoagulante (EDTA), se mezcló cuidadosamente y se pasaron a un tubo cónico de 50 mL el cual contenía 10 mL de la solución de medio RPMI 1640 + SFBI 10%, a la mezcla se le adicionó solución 1:2 de Ficoll-paque (10 mL). Posteriormente, el tubo cónico se centrifugó a 2500 rpm durante 30 minutos a 4°C (centrífuga refrigerante eppendorf-Centrifuge 5804R). El Ficoll tiene un gradiente de densidad igual al de células MN (linfocitos T, linfocitos B, monocitos y células NK) pero menor que los eritrocitos y granulocitos. Los eritrocitos y polimorfonucleares (PMNs) formaron una pastilla en el fondo del tubo, mientras que las células MN quedan en la interfase del medio y el Ficoll. Las células MN se separaron con ayuda de una pipeta pasteur, pasándose a otro tubo cónico donde fueron lavadas 2 veces con 10 mL de solución PBS (amortiguador de fosfato de potasio 0.015 M pH=7.4, NaCl 0.15 M) y centrifugadas a 2500 rpm durante 10 minutos para su posterior utilización.

La suspensión celular se ajustó a una concentración final de 1×10^6 cel/mL, en Hemocitómetro (Cámara de Newbauer) y se aceptó la viabilidad celular igual a 95% como adecuada para la realización de los ensayos.

La obtención y separación de células MN se realizó en campana de Bioseguridad Clase II

7.5.4. Estimulación de células mononucleadas por constituyentes de la saliva.

Las células MN se sembraron en cajas estériles de 96 pozos de fondo plano (Sarstedt, Inc. Newton, NC 28658, USA), a 2×10^5 células/100 μ L por pozo en medio RPMI-1640 completo. Las células se trataron con 20 μ L/pozo de saliva de cada uno de los pacientes ante sus propias células mononucleadas y a cada uno de los pozos se le adicionó 80 μ L de RPMI 1640 + SFBI al 10% como fuente de nutriente al que previamente se inactivó el comacemento a 55°C por 30 minutos.. Las células se incubaron durante 24h y 72 horas a 37

°C en una incubadora (CO₂ Incubator – SHEL LAB) con atmósfera de CO₂ al 5%. Todos los ensayos se realizaron por triplicado

El control negativo consistió en células mononucleadas no tratadas con saliva: 2x10⁵ células/100 µL pozo y 100 µL de RPMI 1640 + SFBI al 10% como fuente de nutriente.

Los sobrenadantes de cultivo se recolectaron a las 24h y 72 horas en tubos eppendorf.

7.5.5. Determinación de interleucina-6 presente en sobrenadantes de cultivo celular (Método: ELISA).

ELISA es una técnica inmunoenzimática fase sólida en forma de sandwich. En nuestro estudio determinamos los niveles de expresión de IL-6 presentes en sobrenadantes de cultivo celular. Utilizamos un Kit de ELISA IL-6 humana de la marca *Biosource international S.A. Inc. 542 Flynn Road. Camarillo, California 93012 USA*. El corrimiento de esta prueba se realizó en las instalaciones del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el laboratorio de investigaciones epidemiológicas.

Fundamento de la prueba: Una capa de anticuerpo monoclonal anti-IL-6 se encuentra adherida en cada uno de los 96 pocillos de la placa, la IL-6 presente en la muestra o en las soluciones estándar se une a la capa del anticuerpo monoclonal; posteriormente un conjugado con biotina anti-IL-6 se une a la IL-6 capturada por el primer anticuerpo, se incorpora Streptavidin-HRP que se une al conjugado con biotina anti-IL-6. Figura 2.

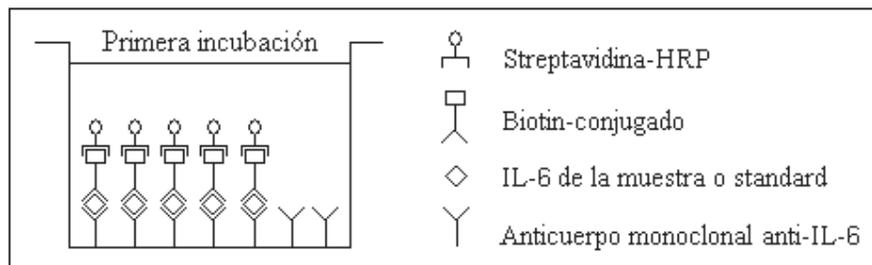


Figura 1. Esquematación de los reactivos empleados durante la primera incubación en ELISA.

Pasado el tiempo de la primera incubación, el conjugado con biotina anti-IL-6 y la Streptavidina HRP que no se unieron durante esta incubación, fueron removidos por un buffer de lavado, posteriormente se agregó una solución con sustrato TMB (Figura 3-A). Un producto de color es formado en proporción a la cantidad de IL-6 presente en la muestra (Figura 3-B), la reacción es detenida por adición de ácido H_2SO_4 0.18M. Por último, se determinó la concentración de las muestras mediante una lectura de absorbancia a 450nm (lector de ELISA).

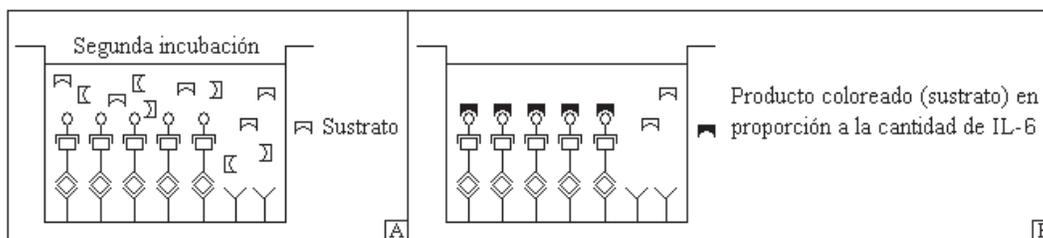


Figura 2. Esquematización de los reactivos empleados durante la segunda incubación en ELISA.

En la figura 3 se observa el diagrama a bloques del resumen de la metodología empleada en ELISA, para la determinación de IL-6 presente en sobrenadantes de cultivo celular.

7.5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

- Todos los experimentos reaccionaron por triplicado
- Se utilizó el *método de mínimos cuadrados* para realizar el ajuste de la recta de la curva estándar y poder determinar las concentraciones de la citocina (IL-6).
- Se cálculo la desviación standar.
- Se realizó estadística descriptiva y graficas en barras para la presentación de los resultados.

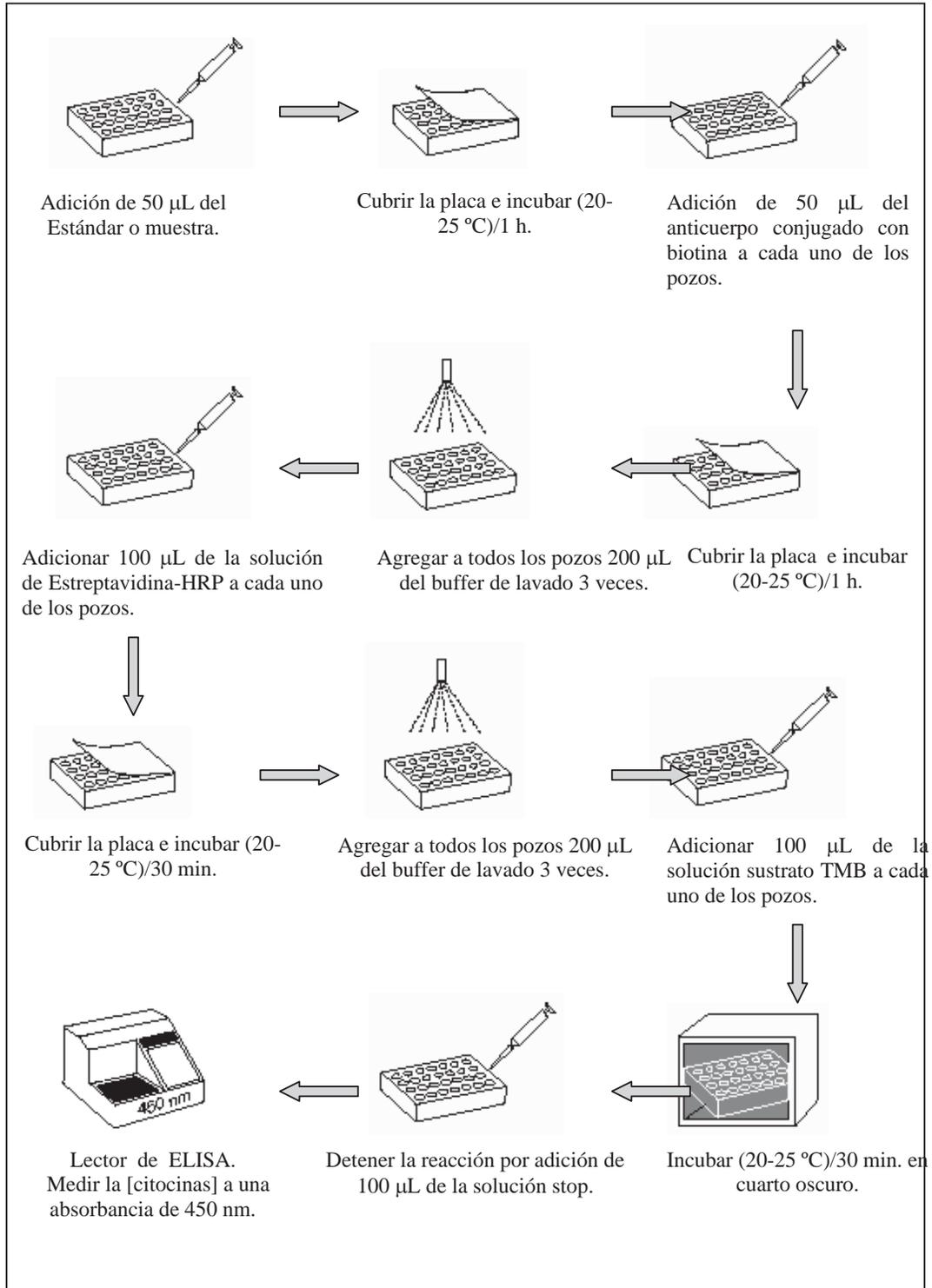


Figura 3. Diagrama a bloques de la metodología empleada para determinación de interleucina 6 por ELISA.

8.- ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.

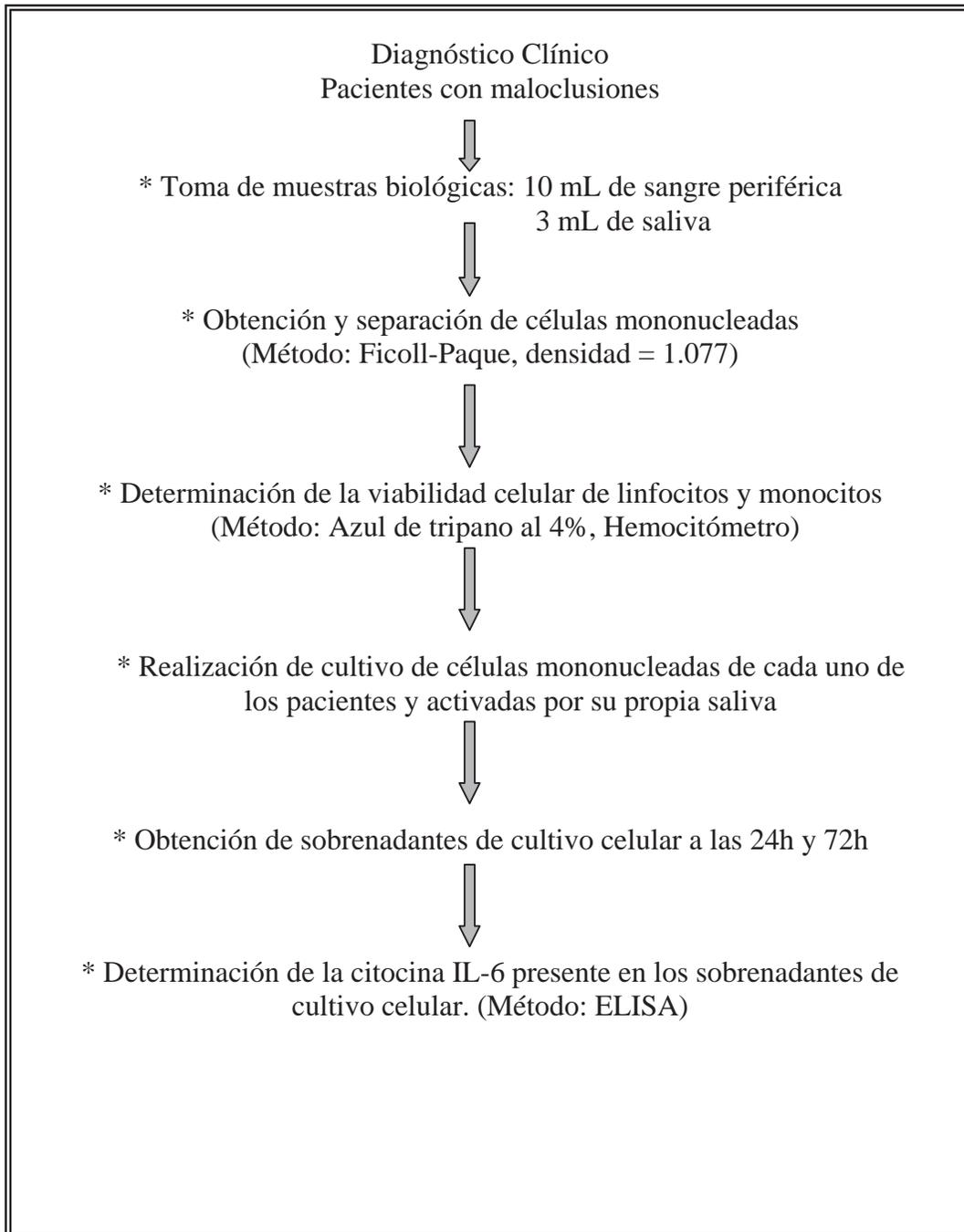


Figura 4. Estrategia experimental de laboratorio. * Pruebas realizadas antes y después de la colocación de la aparatología ortodóntica con alambres de Nitinol .014.

RESULTADOS.

9.1 Tabla 3.-Ajuste de la curva Standard de IL-6 Humana.

Datos lector ELISA	X	Y	n = 7	
Absorbancia 450 (nm)	IL-4 Humana [pg/mL]	Inv. Log Absorbancia 450 (nm)	XY	X ²
0.0	0	1	0	0
0.0	7.8	1	7.8	60.84
0.001	15.6	1.0023	15.6358	243.36
0.003	31.2	1.0069	31.4152	973.44
0.004	62.5	1.0092	63.075	3906.25
0.004	125	1.0092	126.15	15625
0.005	250	1.0116	252.9	62500
	ΣX = 492.1	ΣY = 7.0392	ΣXY = 496.976	ΣX² = 83308.89

$$m = \frac{\Sigma Y \Sigma X - n \Sigma XY}{(\Sigma X)^2 - n \Sigma X^2}$$

$$m = 0.0044$$

$$b = \frac{\Sigma X \Sigma XY - \Sigma Y \Sigma X^2}{(\Sigma X)^2 - n \Sigma X^2}$$

$$b = 1.0044$$

$$Y = mx + b$$

$$Y_1 = (0.0044)(0) + 1.0044 = 1.0025$$

$$Y_2 = (0.0044)(7.8) + 1.0044 = 1.03682$$

$$Y_3 = (0.0044)(15.6) + 1.0044 = 1.07114$$

$$Y_4 = (0.0044)(31.2) + 1.0044 = 1.13978$$

$$Y_5 = (0.0044)(62.5) + 1.0044 = 1.2775$$

$$Y_6 = (0.0044)(125) + 1.0044 = 1.5525$$

$$Y_7 = (0.0044)(250) + 1.0044 = 2.1025$$

Curva patrón para la determinación de IL-6 por ensayo ELISA.

La curva patrón para la determinación de concentraciones de IL-6 mostró los siguientes parámetros: coeficiente de regresión lineal r = 0.998, pendiente = 0.0044 e intercepto en el eje y = 1.0044, lo que se consideró adecuado para las mediciones que se efectuaron en los sobrenadantes de cultivo de células MN activadas por saliva de cada uno de los pacientes. La figura 5 es una representación gráfica de dicha curva.

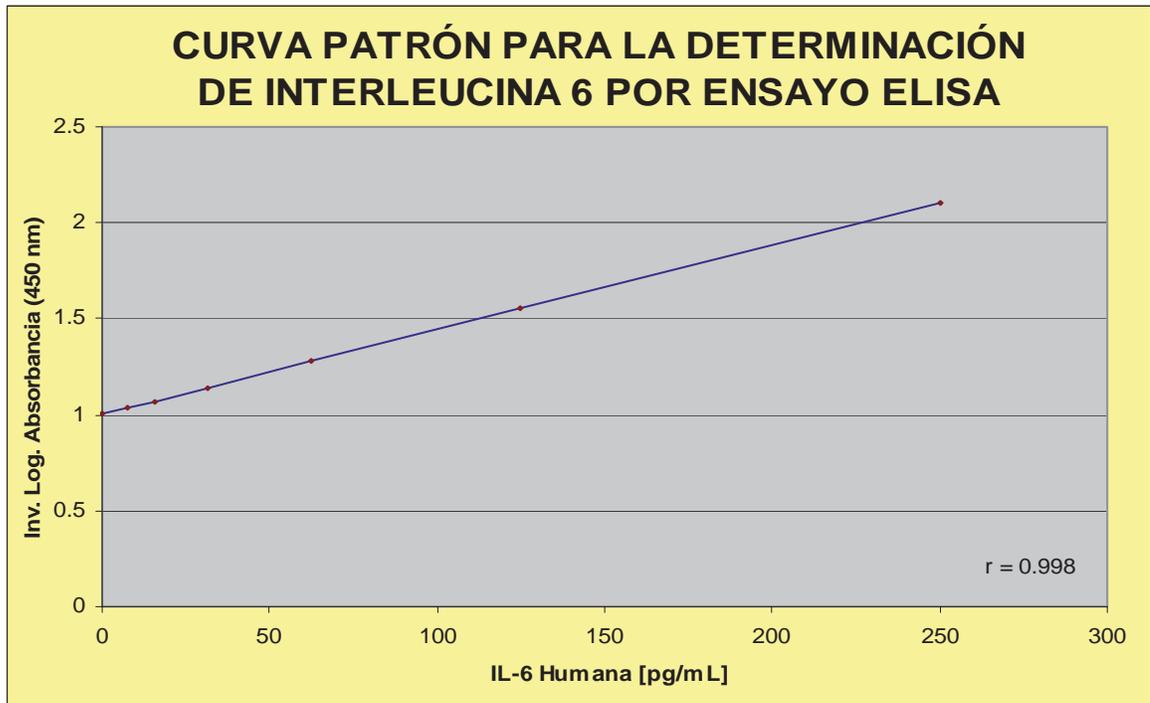


Figura 5. Los puntos representan las concentraciones detectables de interleucina 6 expresadas en pg/mL según el inverso del logaritmo de la absorbancia.

9.3.- TABLA 2. CONCENTRACIÓN DE IL-6 EN SOBRENADANTES DE CULTIVO CELULAR ANTES Y DESPUES DE LA COLOCACION DE LA APARATOLOGIA ORTODÓNTICA.

A continuación se presenta la tabla 2 que muestra las concentraciones detectadas de IL-6 en los sobrenadantes de cultivo celular antes (A) y después (D) de la colocación de la aparatología ortodóntica, de cada uno de los seis pacientes que participaron en el estudio.

Paciente	Absorbancia	Inv. Log. Abasorbancia	IL-6 Humana [pg/mL]
P-1 SCMN 24h (A)	0.001	1.0023	0.045
P-1 SCMN 72h (A)	0.001	1.0023	0.045
P-1 C- 24h (A)	ND	ND	ND
P-1 C- 72h (A)	ND	ND	ND
P-1 SCMN 24h (D)	0.007	1.0162	3.114
P-1 SCMN 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-1 C- 24h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-1 C- 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-2 SCMN 24h (A)	0.005	1.0116	2.068
P-2 SCMN 72h (A)	0.009	1.0209	4.182
P-2 C- 24h (A)	0.004	1.0092	1.522
P-2 C- 72h (A)	0.004	1.0092	1.522
P-2 SCMN 24h (D)	0.006	1.0139	2.591
P-2 SCMN 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-2 C- 24h (D)	ND	ND	ND
P-2 C- 72h (D)	ND	ND	ND
P-3 SCMN 24h (A)	ND	ND	ND
P-3 SCMN 72h (A)	0.002	1.0046	0.477
P-3 C- 24h (A)	ND	ND	ND
P-3 C- 72h (A)	0.001	1.0023	0.045
P-3 SCMN 24h (D)	0.008	1.0186	4
P-3 SCMN 72h (D)	0.007	1.0162	3.114
P-3 C- 24h (D)	0.009	1.0209	4.182
P-3 C- 72h (D)	0.011	1.0256	5.25
P-4 SCMN 24h (A)	0.008	1.0185	3.636
P-4 SCMN 72h (A)	0.009	1.0209	4.182
P-4 C- 24h (A)	0.009	1.0209	4.182
P-4 C- 72h (A)	0.008	1.0185	3.636
P-4 SCMN 24h (D)	0.002	1.0046	0.477
P-4 SCMN 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-4 C- 24h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-4 C- 72h (D)	ND	ND	ND
P-5 SCMN 24h (A)	0.001	1.0023	0.045
P-5 SCMN 72h (A)	0.002	1.0046	0.477
P-5 C- 24h (A)	0.004	1.0092	1.522
P-5 C- 72h (A)	0.009	1.0209	4.182

EXPRESION DE IL-6 EN RESPUESTA AL MOVIMIENTO DENTARIO INDUCIDO POR EL ARCO .014 DE NiTi

P-5 SCMN 24h (D)	0.002	1.0046	0.477
P-5 SCMN 72h (D)	ND	ND	ND
P-5 C- 24h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-5 C- 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-6 SCMN 24h (A)	ND	ND	ND
P-6 SCMN 72h (A)	0.001	1.0023	0.045
P-6 C- 24h (A)	ND	ND	ND
P-6 C- 72h (A)	ND	ND	ND
P-6 SCMN 24h (D)	0.003	1.0069	1
P-6 SCMN 72h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-6 C- 24h (D)	0.001	1.0023	0.045
P-6 C- 72h (D)	0.002	1.0046	0.477

* ND = No Detectable

P = No de Paciente.

SCMN = Sobrenadantes de cultivo celular, ya sea de 24 h o 72 horas.

C- = Control negativo.

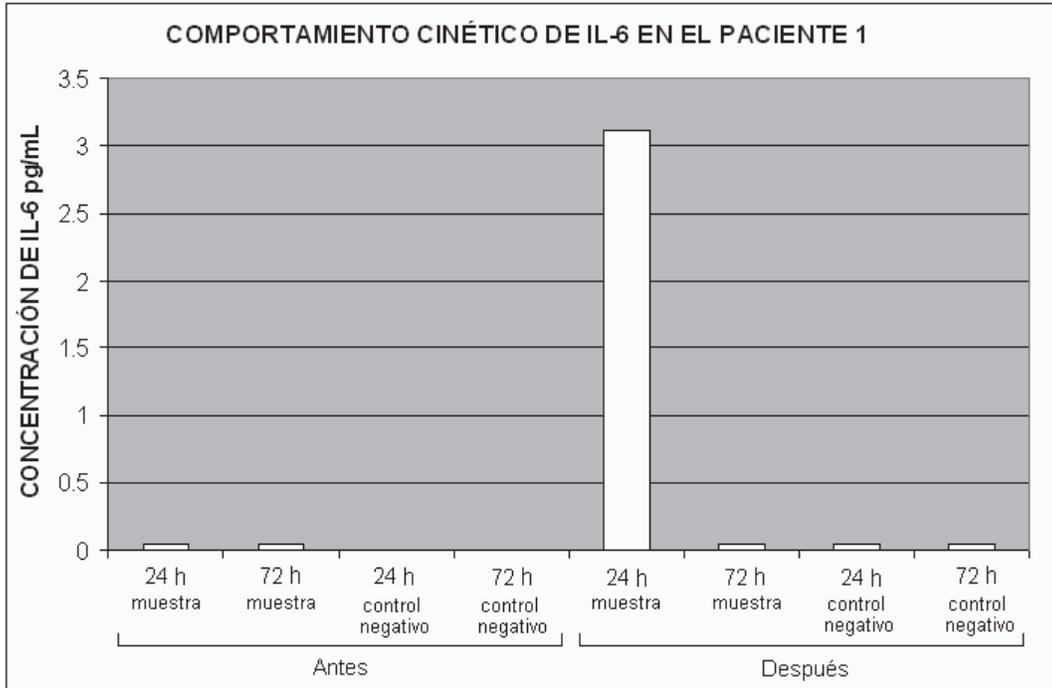


Figura 6. Niveles de expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular (control negativo) y activadas con saliva del propio paciente 1 (muestra), antes y después del tratamiento ortodóntico.

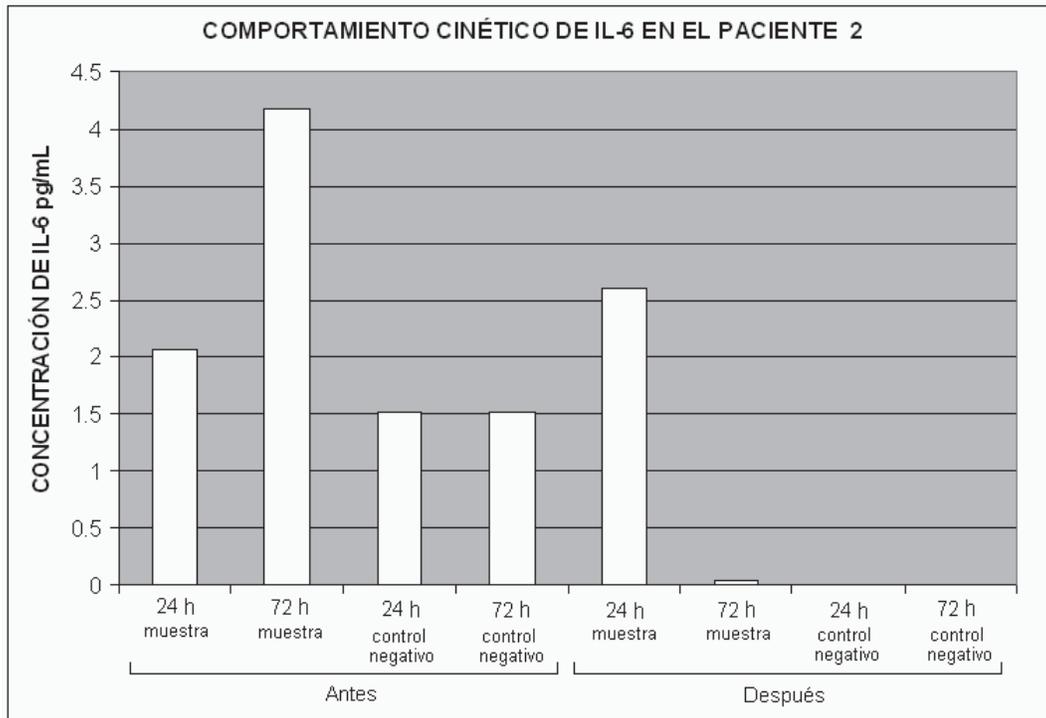


Figura 7. Niveles de expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular (control negativo) y activadas con saliva del propio paciente 2 (muestra), antes y después del tratamiento ortodóntico.

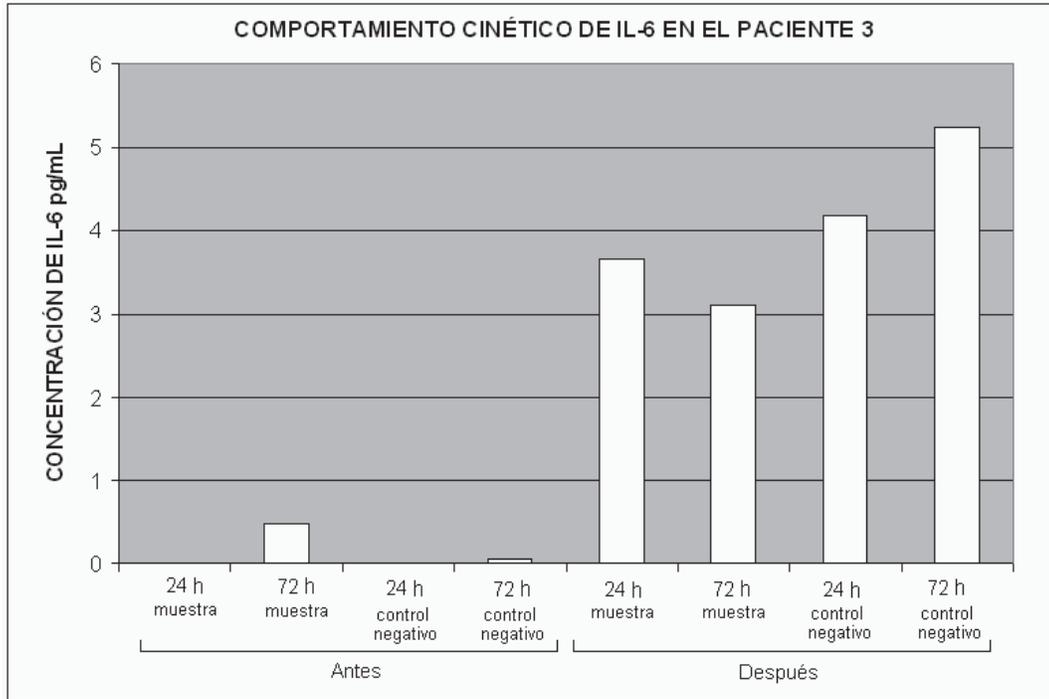


Figura 8. Niveles de expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular (control negativo) y activadas con saliva del propio paciente 3 (muestra), antes y después del tratamiento ortodóntico.

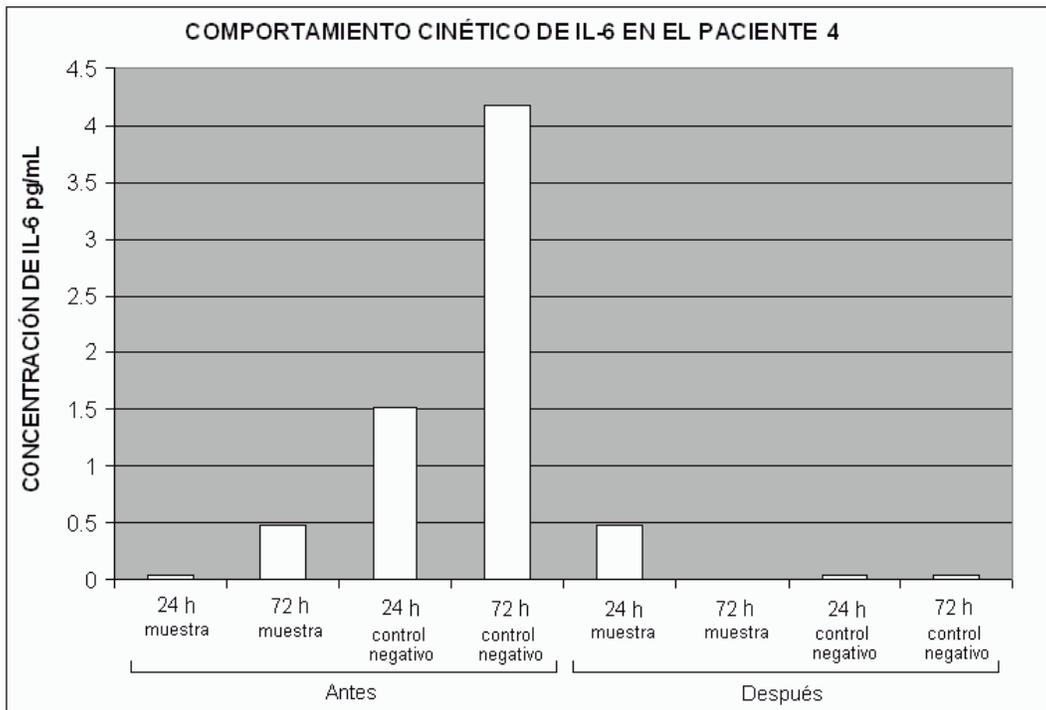


Figura 9. Niveles de expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular (control negativo) y activadas con saliva del propio paciente 4 (muestra), antes y después del tratamiento ortodóntico.

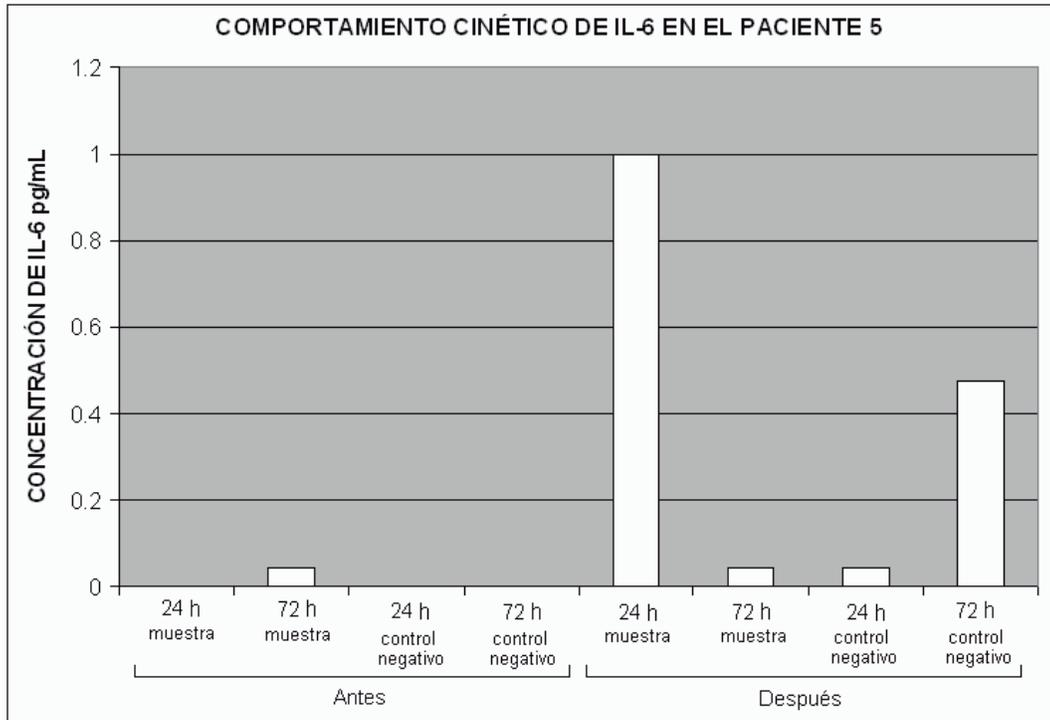


Figura 10. Niveles de expresión de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular (control negativo) y activadas con saliva del propio paciente 5 (muestra), antes y después del tratamiento ortodóntico.

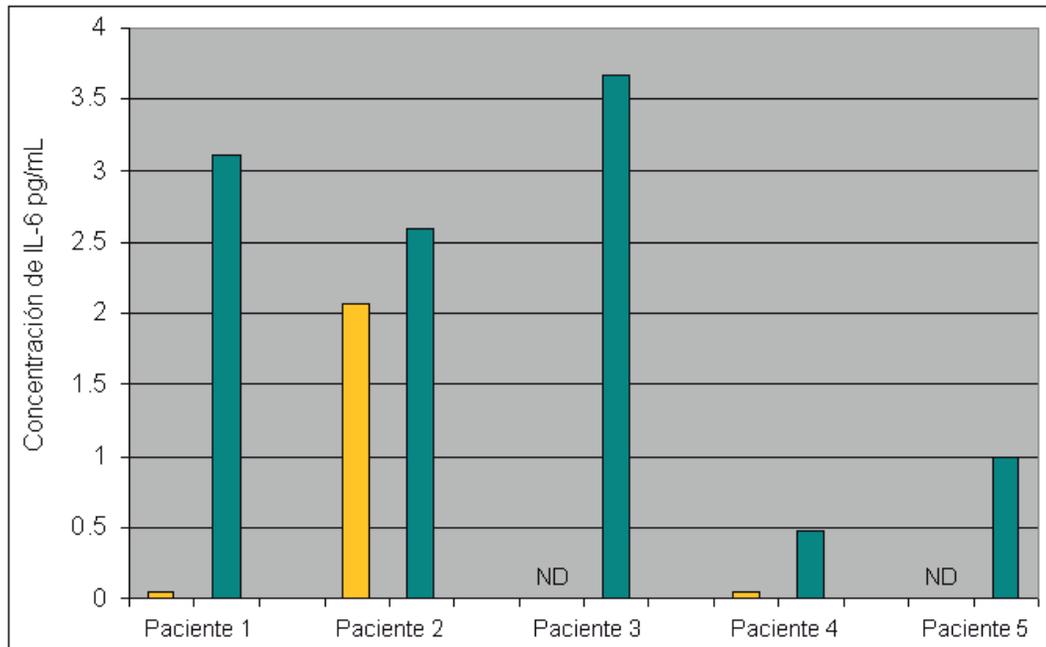


Figura 11. Comparación de los niveles de expresión de interleucina 6 en sobrenadantes de cultivo celular de 24 horas, antes y después de la colocación de la aparatología ortodóntica.

- Concentración de IL-6 detectada 24 horas antes de la colocación de la aparatología ortodóntica, en sobrenadantes de cultivo de células mononucleadas activadas con saliva del propio paciente.
- Concentración de IL-6 detectada 24 horas después de la colocación de la aparatología ortodóntica, en sobrenadantes de cultivo de células mononucleadas activadas con saliva del propio paciente.

ND = Concentración de IL-6 **No Detectable**.

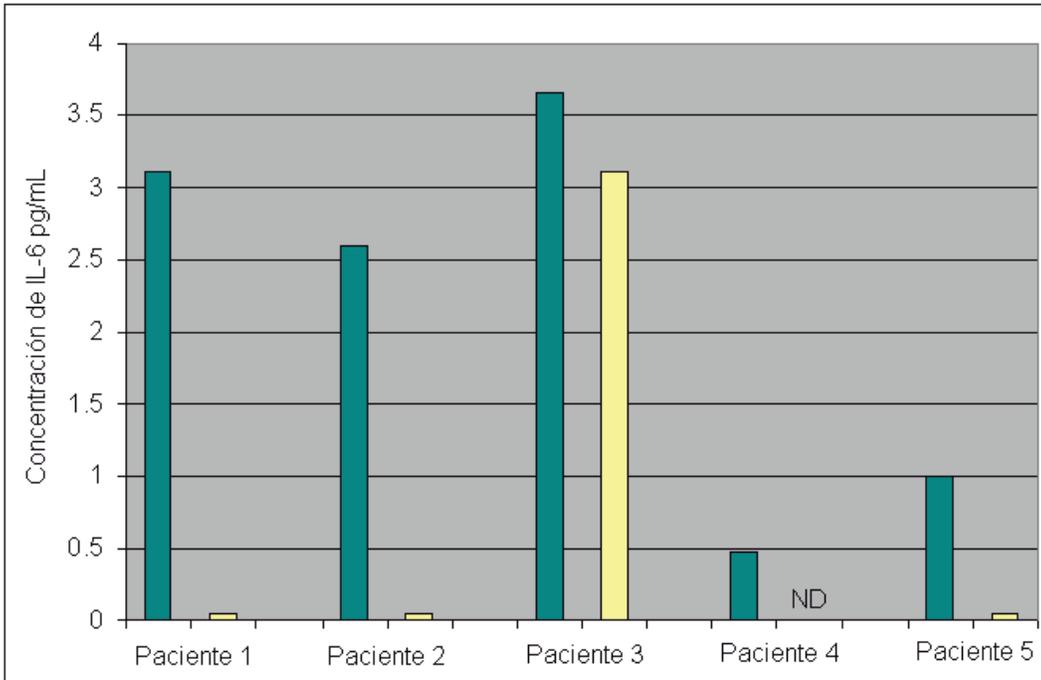


Figura 12. Comparación de los niveles de expresión de interleucina 6 en sobrenadantes de cultivo celular a las 24 y 72 horas, después de la colocación de la aparatología ortodóntica, observando que durante las primeras 24 horas de la respuesta inflamatoria, IL-6 se incrementa para luego a las 72 horas disminuir su expresión.

- Concentración de IL-6 detectada 24 horas después de la colocación de la aparatología ortodóntica, en sobrenadantes de cultivo de células mononucleadas activadas con saliva del propio paciente.

- Concentración de IL-6 detectada 72 horas después de la colocación de la aparatología ortodóntica, en sobrenadantes de cultivo de células mononucleadas activadas con saliva del propio paciente.

ND = Concentración de IL-6 **No Detectable**

9.5 Análisis Estadístico

Estadística descriptiva y comparación de medias mediante *t student*.

Antes de la colocación de Brackets.

- VAR 1: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva (24 horas). N.S
- VAR 2: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva (72 horas). N.S
- VAR 3: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular, control negativo. (24 horas). N.S
- VAR 4: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular, control negativo. (72 horas). N.S

Después de la colocación de Brackets.

VAR 5: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva (24 horas). P < 0.05

- VAR 6: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva (72 horas). N.S
- VAR 7: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular, control negativo. (24 horas). N.S
- VAR 8: IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular, control negativo. (72 horas). N.S

Estadísticamente significativo.

N.S = No significativo

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR 1	5	.4316	.9151	.4092
VAR 2	5	1.0452	1.7668	.7901
VAR 3	5	.6088	.8336	.3728
VAR 4	5	1.1498	1.8164	.8123
VAR 5	5	2.2364	1.4689	.6569
VAR 6	5	.6498	1.3777	.6161
VAR 7	5	.8634	1.8553	.8297
VAR 8	5	1.1634	2.2927	1.0253

Tabla 3. Media y desviación estándar de cada una de las variables.

	Test Value = 0 t student	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper
VAR 1	1.055	4	.351	.4316	-.7046	1.5678
VAR 2	1.323	4	.256	1.0452	-1.1485	3.2389
VAR 3	1.633	4	.178	.6088	-.4263	1.6439
VAR 4	1.415	4	.230	1.1498	-1.1056	3.4052
VAR 5	3.404	4	.027	2.2364	.4126	4.0602
VAR 6	1.055	4	.351	.6498	-1.0608	2.3604
VAR 7	1.041	4	.357	.8634	-1.4402	3.1670
VAR 8	1.135	4	.320	1.1634	-1.6834	4.0102

Tabla A. Cálculo de la T Student de cada una de las variables.

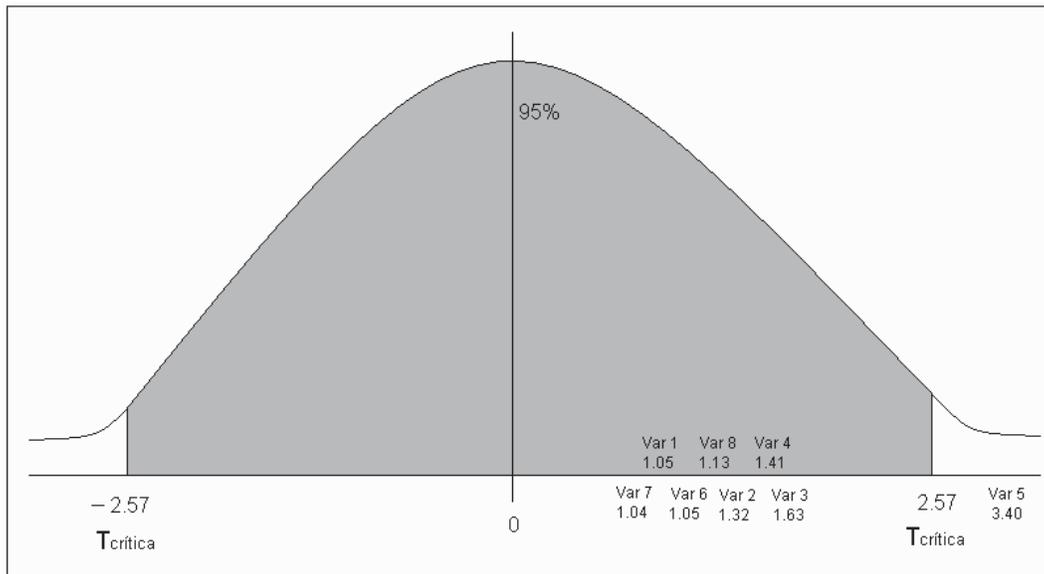


Figura 13. Distribución de IL-6 detectada en cada una de las variables señaladas en la **tabla A** mediante la prueba T Student. Para la cual $P = 0.05$, g.l. = 5, dos colas y el valor de T crítica: $T_c = 2.57$. Se puede observar claramente como la variable 5 (IL-6 detectada en sobrenadantes de cultivo celular activadas con saliva de 24 horas, después del tratamiento ortodóntico) presenta una t student de 3.40, siendo esta mayor que la t crítica del estudio, indicando que fue la única variable que presentó significancia estadística a una $P < 0.05$.

DISCUSION.

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, las principales aportaciones son:

A) Se comprobó que los movimientos dentales inducidos por el tratamiento ortodóntico, producen una respuesta inflamatoria de fase aguda y el organismo en condiciones fisiológicas regula esta respuesta en un periodo no mayor a 72 hr.

B) Observamos que la cuantificación de interleucina-6 puede ser un buen biomarcador, para estimular la respuesta inflamatoria, provocada por las fuerzas aplicadas durante el tratamiento ortodóntico, mediante el uso de arco .014 de NiTi en pacientes con maloclusion.

C) Los niveles de expresión de Interleucina 6 producidos en los sobrenadantes de cultivo de células mononucleadas activadas por componentes de la saliva de pacientes sometidos a tratamiento ortodóntico, con arco .014 de NiTi, demostraron que no existe una influencia marcada sobre los niveles de producción de IL-6, debido a que en los controles negativos, los cuales no se activaron con la saliva, también presentaron niveles de IL-6 elevados. Lo que nos hace pensar que, existe una respuesta local y general ya que IL-6 se eleva con componentes de la saliva y sin ellos.

Estudios previos mencionan que durante los movimientos dentarios inducidos, existe una síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias, como IL-1 β , IL-6 y TNF α , las cuales tienen un efecto de inmunoregulación sobre la remodelación ósea y periodontal (Alhashimi N, *et al*, 2001). Por otra parte, se han realizado ensayos en pacientes sometidos a movimientos dentarios ortodónticos y a partir del fluido crevicular se cuantificó algunas citocinas como IL-8 e IL-6 como marcadores de la respuesta inflamatoria y de remodelación ósea (Yijin R. *et al*, 2002 y Burco B. *et al*, 2004). Debido a éstos estudios, decidimos proponer a IL-6 como posible biomarcador de la respuesta inflamatoria aguda,

en pacientes con maloclusion sometidos a movimientos dentarios inducidos por fuerzas ortodónticas, con el uso del arco .014 de Nitinol. Así como valorar dicha respuesta inflamatoria en cultivos de células mononucleadas (linfocitos T, linfocitos B y monocitos), obtenidas a partir de sangre periférica de cada uno de los pacientes. Estas células sintetizan y liberan interleucina 6, además, expresan receptores IL-6R en la superficie de sus membranas. Interleucina 6 es una citocina pleiotrópica con diferentes actividades endocrinas, paracrinas y actividades posiblemente autocrinas en varios tejidos, además, IL-6 es también un inductor de las reacciones de fase aguda en respuesta a inflamación o tejido lesionado. Aunque la mayoría de individuos sanos tienen niveles de IL-6 indetectables en suero, grandes cantidades de IL-6 son detectadas en varias situaciones inflamatorias, por lo tanto, el incremento de IL-6 puede ser un parámetro sensible para investigar condiciones inflamatorias.

En nuestro estudio participaron 5 pacientes con edades de 18.33 ± 2.73 años, de los cuales el 60 % fue del sexo femenino y el 40 % del sexo masculino. En los resultados obtenidos, observamos que el paciente 1 presentó un incremento de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular 24 h después de la colocación de la aparatología ortodóntica, desde 0.045 a 3.114 pg/mL, disminuyendo la expresión de IL-6 a las 72 h con 0.045 pg/mL. En el segundo paciente se logró detectar una concentración de IL-6 a las 24 h antes de la aparatología ortodóntica, 2.06 pg/mL, sin embargo, después de la aplicación de las fuerzas ortodónticas se observó un ligero incremento de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular de 24 h, el cual fue de 2.59 pg/mL y disminuyó a 0.045 pg/mL en sobrenadantes de cultivo celular 72 h después de la colocación de la aparatología ortodóntica.

En sobrenadantes de cultivo celular de 24 h, antes de la colocación de la aparatología ortodóntica del paciente 3, no presentó concentraciones de IL-6 detectables, en cambio, en sobrenadados de cultivo celular de 24 h después de la colocación de la aparatología, se

observó un gran incremento de IL-6 con 4.0 pg/mL y disminuyó esta en cultivo celular a las 72 h después de colocar los aparatos con 3.1 pg/mL. En sobrenadantes de cultivo celular de 24 h antes de la colocación de la aparatología ortodóntica del paciente 4, presentó niveles de expresión de IL-6 muy bajos, siendo estos de 0.045 pg/mL, en cambio, en sobrenadantes de cultivo celular de 24 h después de la colocación de la aparatología, se observó un ligero incremento de IL-6 con 0.48 pg/mL y disminuyó a concentraciones no detectables a las 72 h después de colocar la aparatología. Por último el paciente 5 también mostró niveles no detectables de IL-6 en sobrenadantes de cultivo celular 24 h antes de la colocación de la aparatología ortodóntica, pasando a 1.0 pg/mL de IL-6, las concentraciones de IL-6 disminuyeron en sobrenadantes en cultivos celulares de 72 h con 0.045 pg/mL.

Por otro lado, Yijin Ren y colaboradores en el 2002 realizaron un estudio comparativo entre 43 jóvenes (11 ± 0.7 años) y 41 adultos (24 ± 1.6 años) los cuales fueron sometidos a tratamiento ortodóntico, con el uso del arco .012 de Nitinol y se valoró los niveles de citocina IL-6 en fluido crevicular, mediante tiras absorbentes periodontales y leídas por radioinmunoanálisis, para observar el comportamiento cinético de expresión de IL-6 durante el proceso de inflamación, los resultados obtenidos de éste ensayo indicaron que la concentración de IL-6 incrementó significativamente, a partir del tiempo 0 con 64 pg/ μ L al tiempo 24 h con 76 pg/ μ L en los pacientes jóvenes ($p < 0.01$). Comparando estos datos con nuestros resultados, observamos que interleucina 6 tuvo un comportamiento similar durante el ensayo, comprobando esto mediante la aplicación de la prueba *t student* a nuestros datos experimentales, observamos lo siguiente: IL-6 presentó niveles de expresión muy bajos en sobrenadantes de cultivo celular a la hora 0 con una $t = 1.055$, media de 0.432, desviación estándar de 0.915 e intervalos de confianza del 95% [-0.705, 1.568], es decir, a las 24 horas antes de aplicar el tratamiento ortodóntico, sin embargo, los

niveles de expresión de IL-6 incrementaron de manera significativa ($P < 0.05$) en sobrenadantes de cultivo celular de 24 h después del tratamiento ortodóntico con el uso del arco .014 de Nitinol, presentando una $t = 3.404$, media de 2.236, desviación estándar de 1.469 e intervalos de confianza del 95% [0.413, 4.060] y posteriormente, en sobrenadantes de cultivo celular de 72 h, los niveles de expresión de IL-6 disminuyeron, presentando una $t = 1.055$, media de 0.650, desviación estándar de 1.378 e intervalos de confianza del 95% [-1.060, 2.360]. Esto nos refiere que las fuerzas aplicadas durante el tratamiento ortodóntico con arco .014 de Nitinol en los pacientes con maloclusión inducen una reacción inflamatoria aguda a las 24 horas y que esta disminuye a las 72 h, hasta los niveles que existían hasta antes de empezar el tratamiento ortodóntico en pacientes sin enfermedad periodonral, ni infecciones en boca, ni con enfermedades sistémicas asociadas. Proponemos sea evaluado el uso de IL-6 como biomarcador para estimar la respuesta inflamatoria a la colocación de la aparatología ortodóntica.

La disminución en los niveles de expresión de IL-6, en sobrenadantes de cultivo celular de 72 horas después de la colocación de la aparatología ortodóntica es una prueba, bastante importante de que los movimientos dentales inducidos por fuerzas, que nosotros los ortodoncistas provocamos, presentan una respuesta inflamatoria de fase aguda, y que es autolimitada. Cabe destacar, que nosotros los ortodoncistas debemos conocer y entender lo que histológica y molecularmente provocamos con los movimientos dentales, y que no debemos limitarnos únicamente al conocimiento fisiológico de dichos movimientos, ya que la ortodoncia del futuro estará enfocada a tratamientos a niveles moleculares.

CONCLUSIONES:

- Se comprobó que los movimientos dentales inducidos, por el tratamiento ortodóntico, producen una reacción inflamatoria de fase aguda.
- La mayor concentración de IL-6, como sustancia reguladora del proceso inflamatorio de fase aguda, se da a las 24 hrs. a la colocación de la aparatología ortodóntica
- Los niveles de IL-6 pueden modificarse por algún componente de la saliva, que activa su producción por células mononucleadas.
- Ocurre un efecto compensatorio propio del organismo, el cual hace descender los niveles de IL-6, a las 72 horas después a la aplicación de las fuerzas.
- Proponemos el estudio de IL-6 como biomarcador para evaluar la respuesta inflamatoria, como respuesta a las fuerzas aplicadas durante el movimiento inducido.

SUGERENCIAS:

- Evaluar el uso de IL-6 como biomarcador para evaluar la respuesta inflamatoria, en pacientes sometidos a tratamiento ortodóntico y que padezcan enfermedad periodontal y/o enfermedad sistémica.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.-Ki, H.r. The effects of orthodontics forces on the mechanical properties of periodontal of periodontal ligament in the rat maxillary molars. American Journal. of Orthodontics.And Dentofacial Orthopedics.1990: Vol .98:6 P: 553- 43
- 2.-Proffit W.R: Ortodoncia Contemporánea. Madrid, España. Edit. Mosby Doyma P 6-7 1994
- 3.-Canut J.: Ortodoncia Clínica. Barcelona, España. Salvat. Edit. P: 337. 1992
- 4.-Proffit. W.R.: Ortodoncia Contemporánea. Madrid, España. Edit. Mosby Doyma P 9-10 1994
- 5.- Canut J Ortodoncia Clínica. Barcelona, España. Salvat. Edit. P: 344. 1992
- 6.- Mjor A.I Embriología e histología oral humana Barcelona, España. Edit. Salvat. P 235 1996.-Interlandi S.: Ortodoncia, bases para la iniciación. Sao Paulo, Brasil. Edit. Artes Médicas 1° ed. P: 56 2002
- 7.-_Oral Sciences. Vol. 114. Num 14 P: 423. Oct 2006
- 8.- 27.-Junqueira & Carneiro. Histología básica, texto y atlas. Barcelona España. Edit Masson. 2001 P: 310-312.
- 9.-Interlandi S. Ortodoncia, bases para la inclinación. Sao Paulo, Brasil. Edit. Salvat. Artes Médicas 1°ed. P:56. 2002
- 10.-Gianelly A. Force inducided changes in the vasculary of the periodontal ligament. Am. Journal of Orthod; 1969 55:5-11
- 11.-Varela M. Ortodoncia interdisciplinar. 2003. Vol.1 Num 23 P 101-111
- 12.- Canut J.: Ortodoncia Clínica. Barcelona, España. Salvat. Edit. P: 239- 245. 1992
- 13.-Profit W.R. Ortodoncia Contemporánea. Madrid, España. Edit.
- 14.-Guercio E.: Biología del movimiento dentario, revisión de conceptos. Acta Odontologica Venezolana . Caracas,Venezuela. 2001 Vol: 39. Núm 1.
- 15.-Nicolary D. Sahnfeld J. Neurotranmitters,cytokines and the control of alveolar bone remodeling in the orthodontics. Dent Clinic Northam; 1988. 32:411-434.
- 16.-Lindenmann J. Virus interfernte I., Type 1 Interferns and the Th1//Th2 paradigm. Mag. Comp Inmunology.; 1987 23:657-63
- 17.-Janewey Ca Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition annu. Rev Immunology. 2002; 20: 197-216
- 18.- .-Abba A., H. Lichtman A, S. Pober J. Inmunología celular y molecular. Bcelona, España. Edit. Mc Graw Hill. 4ª ed. 2002 P: 262
- 19.-Gammely G. Control e inmunorreguladores de los perfiles funcionales de las citoquinas Periodontology 2000 Edic. Española 2005 Vol. 10. P 21
- 20.- Yijin R_ Citokine levels in crevicular fluid are less responsive to orthodontics force in adults than in juvenile. Journal of Clinical Periodontology. Vol 29. 2002 P: 757.
- 21.- Burcu B.Tuncer et al. Levels of interukin-8 during tooth movement. The Angle Orthod: Vol. 75, Núm. 4, pp. 631-636.
- 22.- .-Bletsa A., Berggreen E., Brudik P. Interlukin -1ª and tumor necrosis factor, a expression during the early phases of orthodontic tooth movement in rats. European Journal of Orthodontics. Vol 5, Núm: 8. P: 56-78.

14.-ANEXOS:

14.1.-HOJA DE CAPTACION

No. DE EXPEDIENTE _____

NOM. DEL PACIENTE: _____

EDAD: _____ GENERO: MASC _____ FEM: _____

DOMICILIO: _____ COL: _____

CIUDAD: _____ EDO: _____ TEL: _____

FECHA DE LA 1ª PRUEBA DE IL-6 BASAL _____

RESULTADOS DE LA 1ª PRUEBA A LAS 0 HRS.

SALIVA: _____ SANGRE: _____

FECHA DE LA 2ª PRUEBA DE IL-6 EN PLASMA Y SALIVA, Y POR ESTIMULACION DE PLASMA CON SALIVA A LAS 24 HRS: _____

RESULTADOS DE LA 2ª PRUEBA:

SALIVA: _____ SANGRE: _____

ESTIMULACION DE PLASMA CON SALIVA _____

FECHA DE LA 3ª PRUEBA DE IL-6 EN PLASMA Y SALIVA, Y POR ESTIMULACION DE PLASMA CON SALIVA A LAS 72 HRS: _____

RESULTADOS DE LA 3ª PRUEBA:

SALIVA: _____ SANGRE: _____

ESTIMULACION DE PLASMA CON SALIVA _____

FIRMA DE INVESTIGADOR

FIRMA DEL QUIMICO

14.2.-CONSENTIMIENTO INFORMADO

El estudio que se realiza en la ciudad de Morelia, va encaminado a conocer los niveles de Interleucina-6 en pacientes con aparatología ortodóntica.

Motivo por el cual, pedimos de la manera más respetuosa, se realice las pruebas de laboratorio pertinentes para dicho estudio. En este caso, las pruebas están planeadas para conocer la cantidad de dichas citocinas en el organismo.

Para ello es necesario que se presente los días y a los horarios que le sean indicados para la toma de dichas muestras en el Posgrado de la Facultad de Medicina, de esta misma universidad.

Si desea no participar en el presente estudio puede dejar sin firmar los espacios disponibles para su autorización.

La información obtenida, será estrictamente confidencial.

La toma de muestras y los estudios de laboratorio, serán manejados por expertos, y no se divulgarán los datos de los pacientes.

Este estudio de de carácter médico-científico, por lo cual no tiene intereses lucrativos.

Si desea puede cooperar, permitiendo se le hagan las tomas de muestra de saliva y sangre a ud., sí es mayor de edad, o a su hijo (a), si éste es menor de edad, para ello es necesario que nos firme este consentimiento de información, y éste sea entregado a las autor del estudio y con copia a las autoridades de la institución universitaria que respaldan el presente estudio.

De antemano, se le agradece todo su apoyo brindado.

DR. ALAIN RODRIGUEZ O.
INMUNOLOGO.

DRA LUZ M^a VARGAS P.
ORTODONCISTA

DR. LUIS LEON ROMERO.
AUTOR DEL ESTUDIO.

FIRMA DEL PACIENTE O DEL PADRE O TUTOR.

14.3.-CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES:

	SEP-2006/ ENE-2007	ENE 07/ ABRIL 07	ABRIL 07/ MAYO 07
REVISION BIBLIOGRAFICA	X		
CAPTACION DE PACIENTES.		X	
REGISTROS DE DATOS			X

21-31 MAYO/07 4-16 JUN/07 18-30 Jun/07 2-14 JUL/07 .16-20 JUL/07

1ª PRUEBA	X		
COLOCACION DE LA APARA- TOLOGIA		X	
2ª PRUEBA		X	
3ª PRUEBA			X
RESULTADOS			X
GLOSARIO:			

14.4.-FOTOGRAFIAS DE EL PROCEDIMIENTO CLINICO Y DE LABORATORIO.



1.-Obtención de sangre periférica (10 mL) en tubos esteriles con anticoagulante EDTA.



2.-Obtención de saliva (20 mL) en cajas petri de plástico estériles.



3.-Suspensión de sangre en RPMI 1640 + SFBI 10 % (20 mL

10 mL Ficoll-Paque Plus

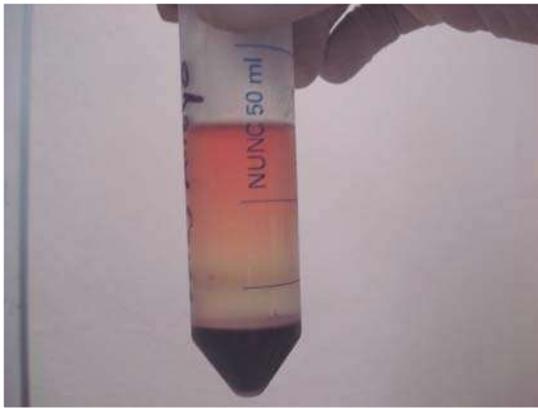


4.- Preparación para la separación de las células mononucleadas





5.-Centrifugar 30 min/2500 rpm a 4 °C



7.- Células monocleadas



8.- Se dio lectura del kit de IL-6 (ELISA) en lector RAINBOW 2001