



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

TESIS

**EXPRESIÓN DE LEUCOCITOS Y ANÁLISIS BACTEREOLÓGICO EN UN PACIENTE
CON NECROSIS PULPAR Y ABSCESO APICAL CRÓNICO: CASO CLÍNICO.**

Para obtener el grado de:

ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

PRESENTA:

CIRUJANO DENTISTA SANDY NEGRETE MARES.

Director de tesis:

**CIRUJANO DENTISTA ESPECIALISTA EN ENDODONCIA
ADRIANA LUCÍA ARENAS PÉREZ.**

Asesor Metodológico:

**QUÍMICO FARMACOBIOLOGO MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS
HÉCTOR RUÍZ REYES.**

JULIO DE 2014, MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO.

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. MARCO TEÓRICO: ANTECEDENTES GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	6
3. JUSTIFICACIÓN.....	56
4. OBJETIVO GENERAL.....	57
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	57
5. PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO.....	58
6. RESULTADOS	69
7. DISCUSIÓN.....	71
8. CONCLUSIONES.....	72
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	73
10. ANEXOS.....	75
10.1 HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	75
10.2 HOJA DE RESULTADOS DE LA BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA.....	77
10.3 HOJA DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	78
10.4 HOJA DE RESULTADOS: PROTEINA “C” REACTIVA.....	79

RESUMEN

Las enfermedades periapicales son una patología muy frecuente. Este tipo de lesiones desarrolla una respuesta inmune la cual es desencadenada por la presencia de bacterias en el conducto radicular y sus toxinas en la región periapical. El sistema inmunológico esta compuesto de células cuya principal función es el reconocimiento, neutralización o destrucción de antígenos que penetran en el organismo. Algunos reportes de la literatura confirman la participación del sistema inmune en el proceso periapical inflamatorio. Grupos de bacterias se comunican unas con otras para coordinar su comportamiento y función como un organismo multicelular. Como especialistas en el área odontológica debemos de reconocer este tipo de mecanismos antígeno-anticuerpo y todo lo que se desarrolla en estas etapas del desarrollo de la enfermedad periapical a nivel celular. El propósito de este estudio es valorar la respuesta inmunológica y microbiológica en muestras biológicas provenientes de un paciente con diagnostico de periodontitis apical.

PALABRAS CLAVE: PERIODONTITIS APICAL, RESPUESTA INMUNE, ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

ABSTRACT

Periapical disease is a common condition. This type of injury develops an immune response which is triggered by the presence of bacteria in the root canal and their toxins in the periapical region. The immune system is composed of cells whose main function is the recognition, neutralization or destruction of antigens that enter the body. Some literature reports confirm the involvement of the immune system in the inflammatory periapical process. Groups of bacteria communicate with each other to coordinate their behavior and function as a multicellular organism. As specialists in the dental area we must recognize this type of antigen-antibody mechanisms and all what develops in these stages of development of periapical disease at the cellular level. The purpose of this study is to assess the immune and microbiologic response in biologic samples provided from a patient with a apical periodontitis diagnosis.

KEYWORDS: PERIODONTITIS APICAL, IMMUNE RESPONSE, MICROBIAL ANALYSIS.

1. INTRODUCCIÓN.

En 2008 la Asociación Americana de Endodoncia celebró una conferencia de consenso para estandarizar los términos diagnósticos utilizados en endodoncia en donde se realizaron recomendaciones universales con respecto al diagnóstico endodóntico dando como definición de *necrosis pulpar* como una categoría de diagnóstico clínico en donde se indica la muerte de la pulpa dental, necesitado de un tratamiento de conductos. La pulpa no responde a las pruebas y es asintomática. La ***necrosis pulpar*** por sí sola no causa periodontitis apical (dolor a la percusión o evidencia radiográfica de destrucción ósea) a menos de que el conducto radicular esté infectado. Algunos dientes no responden a las pruebas pulpares a causa de calcificaciones, una historia reciente de trauma, o simplemente el diente no está respondiendo. Es por ello que todas las pruebas deben ser de naturaleza comparativa (e.g. el paciente puede que no responda a pruebas térmicas en ningún diente).

Por otra parte, la Asociación Americana de Endodoncia describe el ***absceso apical crónico*** como una reacción inflamatoria a la infección y necrosis pulpar estando dentro de la clasificación de lesiones periapicales, caracterizada por un ataque gradual, pequeño o algún malestar con pequeñas secreciones intermitentes de pus a través de una fístula asociada. Radiográficamente, existen signos típicos de destrucción ósea tales como radiolucidez. Para identificar el origen de la fístula cuando ésta se presenta, una punta de gutapercha es colocada cuidadosamente a través de la entrada hasta que se detenga.(AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTIST 2013)

Este tipo de lesiones de origen endodóntico plantean un reto particular desde que la bacteria persiste en un reservorio protegido que no es fácilmente accesible a la defensa del sistema inmune, durante esta respuesta del huésped existe una inhibición de la respuesta inmune, induciendo la formación de lesiones osteolíticas. Ambas lesiones exhiben inflamación la cual parece inhibir la formación de hueso. Las lesiones de origen endodóntico están asociadas con la contaminación bacteriana y la necrosis de la pulpa dental, la cual progresa típicamente a través de cuatro etapas: 1) Exposición de la pulpa dental hacia la cavidad oral con una colonización subsecuente de bacterias. 2) Inflamación y necrosis de la pulpa dental. 3) Desarrollo de la inflamación en el área apical y, 4) Resorción periapical del hueso y formación de granulomas o quistes. (Graves, 2011; Staudt, 2001)

Por otra parte, el absceso apical crónico es una enfermedad inflamatoria que afecta el tejido que rodea la porción apical de la raíz dental y es afectada principalmente por microorganismos infecciosos que afectan la raíz dental. La enfermedad puede manifestarse clínicamente en distintas formas y las bacterias son los mayores microorganismos implicados en la patogénesis de periodontitis apical. Las lesiones periapicales son para la mayoría infecciones endógenas que surgen de la microbiota oral normal bajo condiciones predisponentes (necrosis pulpar, o remoción pulpar en un tratamiento). En los últimos años se ha presenciado una tendencia hacia un concepto holístico de la etiología de infecciones humanas endógenas que consideran la comunidad bacteriana como una unidad de patogenicidad. Este concepto es aplicable en los tres mayores grupos de enfermedades orales, caries, periodontitis marginal y periodontitis apical. (Siqueira, 2009)

Las infecciones endodónticas pueden ser clasificadas de acuerdo a su localización anatómica (infección intrarradicular o extrarradicular) y por el tiempo en el que participan los microorganismos que van entrando hacia los conductos radiculares (primaria, secundaria o persistente). (Siqueira 2005)

Análisis de perfiles comunitarios de la microbiota endodóntica han revelado algunos hallazgos interesantes: a) la confirmación de que los diferentes tipos de infecciones endodónticas están compuestas de diversas especies bacterianas; b) algunas bacterias no cultivadas con baja representación pueden encontrarse comúnmente en infecciones de conductos radiculares; c) las especies bacterianas pueden seguir un patrón específico de acuerdo a la condición clínica (periodontitis apical crónica, absceso apical agudo y dientes tratados); d) existe una gran variabilidad interindividual en las especies bacterianas endodónticas asociadas con la misma enfermedad clínica, i.e. cada individuo aloja una microbiota única en términos de especie, riqueza y abundancia; e) esta variabilidad interindividual es aun mayor cuando individuos de distintas localidades geográficas son analizadas. (Siqueira, 2009; LI, 2013)

Estas infecciones están causadas por microorganismos que colonizan el tejido pulpar necrótico. Puede además ser también considerado como una infección inicial o “salvaje”, en el sentido de que no ha existido una intervención profesional aún. Los microorganismos participantes han estado involucrados en etapas tempranas de invasión pulpar (usualmente por vía de la caries), la cual culmina en inflamación y una necrosis, o pueden ser recién llegados los cuales tomaron ventaja de las condiciones ambientales en el conducto antes de la necrosis pulpar. Las lesiones primarias son la causa primaria de periodontitis apical, la cual se puede manifestar por si sola como una enfermedad crónica o aguda. Algunas condiciones agudas pueden evolucionar a un absceso. (Siqueira, 2009)

Las infecciones primarias son dominadas principalmente por bacterias anaerobias organizadas en una comunidad mixta. El total de la densidad bacteriana por conducto radicular varía entre 10^{x3} hasta 10^{x8} . La periodontitis apical aguda y el absceso apical crónico son dos formas típicas de periodontitis apical. (Siqueira, 2009).

Por tales motivos el presente estudio de investigación de caso clínico está enfocado a valorar la expresión de leucocitos que se presentan durante la respuesta inmunológica en un paciente con lesión primaria, además se realizará un examen bacteriológico de una muestra proveniente del absceso apical de este paciente.

2. MARCO TEÓRICO:

ANTECEDENTES GENERALES Y ESPECÍFICOS.

2.1. LESIONES DE ORIGEN ENDODÓNTICO

Las lesiones endodónticas típicamente son desarrolladas por la exposición del tejido pulpar a una bacteria oral como resultado de las deficiencias en la integridad de un diente. Esto puede resultar de una lesión cariosa la cual disuelve el tejido dental mineralizado, fracturas de la estructura dental, así como circunstancias iatrogénicas y otras las cuales alojan a la bacteria y penetra dentro de los tejidos pulpares. (Graves, 2011)

Las lesiones periapicales crónicas son el resultado de una actividad mutua de la microbiota en el conducto radicular y la respuesta multilateral del huésped a la infección. Inflamaciones no específicas, agudas o crónicas, incluyendo las respuestas inmunológicas humorales o celulares, participan en la aparición, desarrollo y perpetuación de esta lesión. Las lesiones crónicas periapicales son una consecuencia de un proceso inflamatorio agudo sin tratar, y al mismo tiempo la reacción de protección del organismo el cual no tuvo éxito en neutralizar los factores nocivos los cuales subsecuentemente perpetuaron en el proceso inflamatorio. (Graves, 2011) Los aspectos fundamentales radiográficos fundamentales a tener en cuenta para la valoración radiográfica son: anomalías de densidad, alteraciones de la estructura, signos de proliferación y topografía de las lesiones. (Torrijos, 2006)

Durante esta respuesta un número de tipos celulares presentan la liberación de citoquinas, quimiocinas, leucotrienos y prostaglandinas dentro del área. Estos mediadores inflamatorios refuerzan el reclutamiento de leucocitos polimorfonucleares (PMNs) y otros leucocitos, creando una dicotomía interesante de actividad y consecuencias en cuanto a los papeles de protección o destrucción de los mediadores. Como es de esperarse, la respuesta del huésped juega un papel crítico y protector en lesiones de origen endodóntico, limitando la proliferación de la infección hacia planos faciales. Los inhibidores específicos de las citoquinas inflamatorias tienden a causar la formación de lesiones osteolíticas mayores desde que se compromete la habilidad del huésped para protegerse a si mismo del reservorio bacteriano en el tejido pulpar. Este aumento de las dimensiones de la lesión ocurren aunque las citoquinas inflamatorias bloqueadas jueguen un papel importante en la osteoclastogénesis. (Graves, 2011) En otro ejemplo, la supresión del receptor de señal del TNF e IL-1 causa grandes lesiones osteoclástica aunque ambas citoquinas estimulen la resorción ósea. Esto ocurre porque la supresión de la señalización del TNF o IL-1 daña la actividad antibacteriana de la respuesta del huésped la cual es crítica en lesiones de origen endodóntico. En particular el receptor de señalización de IL-1 es necesitado para prevenir la proliferación de la infección de la pulpa necrótica en planos faciales y proteger al huésped de una morbilidad significativa y una mortalidad que pueda resultar. Así, existe un complejo considerable en la examinación del impacto de la señalización de citoquinas desde que estas tienen ambos papeles destructivo, así como de protección en la defensa antibacteriana. El control de la infección periapical parece ser un aspecto crítico de este proceso, desde que la ausencia de la enzima pleiontrópica inducible de óxido nítrico sintetasa (iNOS) también resulte en lesiones mayores con el reclutamiento de un mayor número de células inflamatorias

y frecuentemente asociado con el desarrollo de abscesos periapicales. (Graves, 2011)

2.2. MICROFLORA Y FACTORES DE VIRULENCIA (PAMPs).

Miller, en 1894 fue el primero en publicar observaciones de conductos radiculares infectados, sin embargo no existían los métodos para verificar sus hallazgos. Con el tiempo, la diversidad de los microorganismos comenzó a ser evidente y su clasificación para la identificación de especies comenzó a ser necesaria. La taxonomía bacteriana fue basada en sus características principales. La identificación precisa de los microorganismos que participan en la periodontitis apical es de gran importancia en orden de entender el proceso infeccioso y proveer un tratamiento antimicrobiano efectivo. La identificación de patógenos generalmente involucra el microscopio, ensayos inmunológicos y métodos moleculares. La población microbiana y el ambiente que lo rodea juntos son conocidos como ecosistema. El establecimiento de microorganismos en un hospedero es llamado colonización. Una colonización permanente en una relación simbiótica resulta en el establecimiento de la flora normal. Colonización microbiana de un recién nacido es un estímulo para el desarrollo del sistema inmunológico. Si la flora normal proporciona las condiciones adecuadas y gana acceso a un tejido normal estéril tal como la pulpa dental o tejidos periradiculares, se vuelven en patógenos oportunistas. El grado de patogenicidad es determinado por su virulencia. La respuesta del huésped a una infección microbiana debe ser de inflamación no específica y/o de reacción inmunológica específica.

Una infección es producida si la invasión de microbios produce un daño a los tejidos. EL absceso apical crónico es el resultado de ambos: efecto patogénico de los microbios y la respuesta del huésped. El objetivo de los clínicos es el de interrumpir y destruir el ecosistema microbiano asociado con el proceso de la enfermedad. (Peciluene, 2008; Baumgartner, 2004)

Kakehashi et al. demostraron que la necrosis pulpar y el desarrollo de lesiones periapicales inflamatorias sólo ocurren después de una exposición de la pulpa dental hacia la cavidad oral en ratas convencionales con microorganismos normales en su flora y en ratas libres de gérmenes. (Baumgartner, 2004) La microflora de diversos tipos de bacteria en la pulpa necrótica dental fue demostrada mas de un siglo atrás. (Miller, 1894; Nair, 2004; Siqueira, 2009)

La diversidad microbiana en infecciones endodónticas ha sido evaluada por cultivos anaeróbicos y por métodos de cultivos moleculares independientes. Colectivamente mas de 400 taxones microbianos diferentes han sido identificados en diferentes formas de periodontitis apical. Esta taxa es usualmente encontrada en combinación involucrando muchas especies en infecciones primarias y algunas otras en infecciones secundarias/persistentes. (Sundqvist, 2003; Siqueira, 2009)

Estudios filogenéticos han revelado que los organismos vivientes están dentro de tres grupos dominantes- Bacteria, *Eucarya* y *Arqueas*. Las bacterias están siguiendo seis filios: *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Espiroquetas* con los tres últimos grupos conteniendo la mayoría de las bacterias identificadas en infecciones endodónticas. Las infecciones endodónticas son infecciones

polimicrobianas consistiendo principalmente en anaerobios obligados y anaerobios facultativos. (Craig, 2004)

Las bacterias anaerobias son capaces de fermentar aminoácidos y péptidos, mientras que las bacterias que obtienen energía principalmente por la fermentación de carbohidratos pueden estar restringidas por una falta de nutrientes disponibles. Esta es una de las causas por las cuales la flora es dominada por bacterias facultativas anaerobias tales como *Streptococco*, en la sección coronal de los conductos radiculares expuestos a la cavidad oral, y bacterias anaerobias dominando la sección apical. (Sundqvist, 2003) Para que la bacteria se establezca favorablemente como un patógeno endodóntico, tienen que sobrellevar una serie consecutiva de barreras sobre y dentro del diente hospedador. En un conducto no tratado, microbios deben violar el esmalte dental por la vía de microfiltración, fracturas o caries, luego llegar a la pulpa por medio de la dentina. La pulpa tiene su propio mecanismo de defensa, el cual debe vencer por medio de un consorcio colectivo microbiano. El factor más importante que maneja este desarrollo es la disponibilidad de nutrientes, niveles de oxígeno (potencial redox) y el pH local dentro del conducto. Nutrientes exógenos, tales como carbohidratos fermentados, pueden afectar la ecología microbiana de áreas de la corona de un conducto radicular, pero proteínas endógenas y glucoproteínas son los principales nutrientes en el conducto principal del sistema de conductos radiculares. (Sundqvist, 2003).

Infecciones Primarias son causadas predominantemente por bacterias Gram-negativas anaerobias especialmente: *Prevotella*, *Porphyromonas* *Treponemas*, *Fusobacterium spp.* (Gomes, 2012) Principales patógenos endodónticos importantes: *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia/ Nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Streptococcus anginosus* (Siqueira, 2007). La infección de túbulos dentinarios llega dentro de los túbulos dentinarios hasta 2000µm como es el caso de *E. Faecalis*, *A. Israeli*, *Lactobacilos*, *Streptococos*, *Propionibacterium*, *Peptoestreptocoscoc*os siendo estos los mas penetrables. (Baugh 2005) Es bien sabido que para que cualquier especie bacteriana produzca una enfermedad, deben alcanzar una densidad poblacional (carga) para propiciar un daño de tejidos ya sea causado por la misma bacteria o por una respuesta del huésped como una respuesta del mecanismo de defensa. (Peciluene, 2008; Siqueira, 2007; Siqueira, 2008)

Antes de que una gran cantidad de células bacterianas lleguen a la zona infectada, ningún signo o síntoma de enfermedad es aparente. Posiblemente el número de células para provocar una enfermedad es inversamente proporcional a la virulencia, es decir, cuanto mayor es virulencia bacteriana, menor es el numero de células necesarias para causar la enfermedad. Las infecciones endodónticas son caracterizadas por poblaciones mixtas de 10 a 20 especies con varios niveles de virulencia, es virtualmente imposible comprobar el umbral mas allá del numero de células necesarias para inducir enfermedad. La resistencia del huésped es otro factor importante que influye en la patogénesis de la enfermedad. La misma combinación de especies bacterianas pueden dar respuesta a diferentes respuestas en diferentes individuos. (Siqueira, 2008)

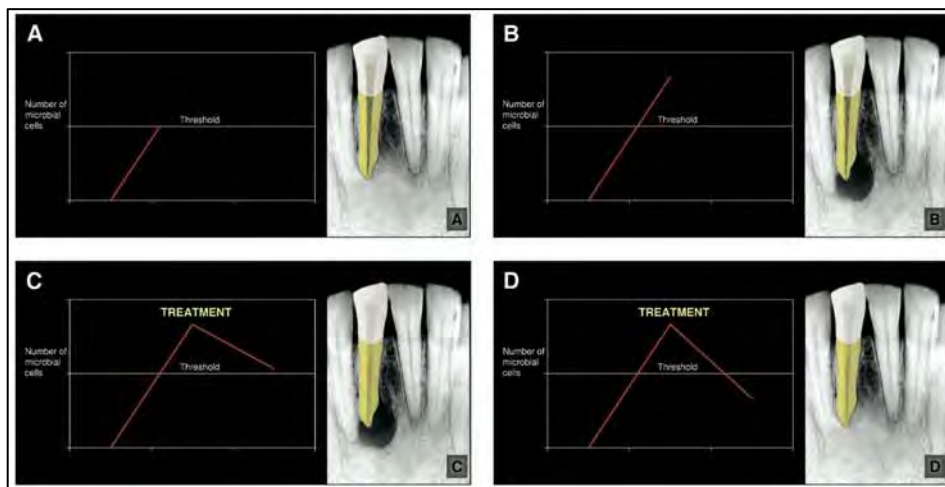


Figura 1. El objetivo principal del tratamiento endodóntico de dientes con periodontitis apical. (A) las bacterias deben alcanzar una cantidad de células suficientes para causar una enfermedad (carga bacteriana). Antes de que se alcance este umbral, los signos clínicos y síntomas de la enfermedad no son evidentes. (B) Después de que los niveles de bacterias son alcanzados y exceden el umbral, la enfermedad infecciosa (periodontitis apical) es establecida. (C) Si los procedimientos del tratamiento no tienen éxito en reducir los niveles bacteriológicos por debajo del umbral, la enfermedad persistirá. (D) El tratamiento exitoso no necesariamente esteriliza el conducto radicular pero reduce la población bacteriana a un nivel subcrítico que son compatibles con la cicatrización. (Siqueira, 2008)

Idealmente, los procedimientos de tratamientos endodónticos deben esterilizar el conducto radicular (es decir, eliminar todos los microorganismos vivos presentes en todo el sistema de conductos radiculares). Sin embargo, dada la complejidad anatómica del sistema, es ampliamente reconocido que con instrumentos disponibles, sustancias y técnicas, el cumplimiento de esta meta es utópico en la mayoría de los casos. Por lo tanto, el objetivo alcanzable es reducir la población bacteriana a un menor nivel del necesario para inducir o sostener una enfermedad. (Siqueira, 2008; Nair, 2004) En este entendido el verdadero propósito del tratamiento endodóntico es el reducir la población bacteriana a niveles que no sean detectados por procedimientos de cultivo (aprox. $<10^3 - 10^4$ células). (Siqueira, 2008)

Se ha reportado que el *Solobacterium oral*, *Bacteroides*, *Pseudoramibacter*, están presentes antes del tratamiento endodóntico, mientras que las especies de *Streptococcus* son predominantes después del tratamiento con pasta de hidróxido de calcio. Sin embargo, perfiles detallados de microflora no han sido aclarados, y la influencia de los medicamentos intraconducto además del hidróxido de calcio han sido desconocidos. Basados en las curvas de rarefacción, la comunidad bacteriana antes de los tratamientos es más diversa que después del tratamiento. *Fusobacterium* así como *Streptococcus*, *Olsenella*, *Pseudoramibacter*, son predominantes (en un total de 39%) antes del tratamiento de conductos en el estudio de Yasuhiro Ito et al. Estos cuatro géneros predominantes parecen pertenecer a la microflora oral, lo que sugiere que estas bacterias del conducto radicular son derivadas de otros sitios orales, y que estas bacterias se encuentran entre las bacterias más predominantes en los conductos radiculares, siendo asociados estas con lesiones periapicales. (Yosuhiro, 2010; Nair, 2004) $>90\%$ anaerobios obligados *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus*. En contraste la composición microbiana en el tercio apical de los conductos

de dientes afectados periapicalmente con conductos pulpares expuestos a la cavidad oral no es solamente diferente pero es además menos dominado 70% < por anaerobios estrictos (Baumgartner, 1991; Nair, 2004).

Las bacterias involucradas en la patogénesis de la periodontitis apical pueden haber participado en etapas tempranas de inflamación pulpar y necrosis o tal vez han logrado entrar al espacio del conducto radicular en cualquier momento antes de la necrosis pulpar. En la primera situación, las bacterias involucradas son usualmente aquellas presentes en lesiones cariosas avanzadas y los baños de saliva en el área afectada. Las bacterias implicadas en enfermedades pulpares primero se adhieren a las paredes dentinarias y colonizan la superficie, formando un biofilm auténtico. La difusión de los productos bacterianos a través de los túbulos dentinarios induce una inflamación pulpar mucho antes de que el tejido este expuesto. Después de la exposición pulpar, la superficie del tejido puede ser también colonizada y cubierta por bacterias presentes en el biofilm de la caries. (Siqueira, 2007)

Tabla 1 . Numero de clones basados en una secuencia de 16s RNA de análisis obtenida de conductos radiculares infectados antes de tratamiento de conductos. (Yashuiro, 2012)

	Gen Bank Accession Numbers	Before treatment (At first root canal treatment)							After treatment (Prior to root canal obturation)							
		Samples Total	1A	1B	2	3	4	5	Total	1A	1B	2	3	4	5	Total
			11	15	0	12	2	18	58	(100) ^a	27	25	31	6	4	3
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	JN052091	2	1		6			9 (15.5)								0
<i>Streptococcus mitis / oralis</i>	JN052092							4 4 (6.9)								0
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i>	JN052093		1					3 4 (6.9)								0
<i>Olsenella profusa</i>	JN052094		3					1 4 (6.9)								0
<i>Methanobrevibacter oralis</i>	JN052095							3 3 (5.2)								0
<i>Odoribacter denticanis</i>	JN052096	2	1					3 (5.2)								0
<i>Veillonella parvula</i>	JN052097							2 2 (3.4)								0
<i>Bacteroides</i> sp. 22C-like	JN052098	2						2 (3.4)								0
Uncultured bacterium clone GOR_aag74h11-like	JN052099	2						2 (3.4)								0
<i>Propionibacterium acidifaciens</i>	JN052100		1					1 2 (3.4)								0
<i>Deferribacteres</i> sp. oral clone JV006	JN052101	2						2 (3.4)								0
<i>Nevskia soli</i>	JN052102				1			1 (1.7)								0
<i>Sphingomonas echinoides</i>	JN052103					1		1 (1.7)								0
<i>Actinomyces georgiae</i>	JN052104				1			1 (1.7)								0
<i>Streptococcus sobrinus</i>	JN052105						1	1 (1.7)								0
Uncultured <i>Olsenella</i> sp. clone 1+7-15	JN052106						1	1 (1.7)								0
<i>Prevotella intermedia</i>	JN052107		1					1 (1.7)								0
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	JN052108		1					1 (1.7)								0
<i>Treponema socranskii</i>	JN052109	1						1 (1.7)								0
<i>Rothia aeria</i>	JN052110						1	1 (1.7)								0
<i>Acholeplasma morum</i> -like	JN052111	1						1 (1.7)								0
<i>Eubacterium minutum</i>	JN052112	1						1 (1.7)								0
<i>Pyramidobacter piscolens</i>	JN052113		1					1 (1.7)								0
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	JN052114		1					1 (1.7)								0
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i> -like	JN052115		1					1 (1.7)								0
<i>Pseudomonas putida</i>	JN052116					1	1	1 (1.7)	7	8	8		1	24	(25.0)	
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	JN052117				3		3	(5.2)	9	6	7	1	23	(24.0)		
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	JN052118						0		8	4	3	1	1	17	(17.7)	
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JN052119						1	1 (1.7)		3	2	1	1	7	(7.3)	
Uncultured bacterium clone nbw572e08c1	JN052120				1		1	(1.7)	2	2			1	5	(5.2)	
<i>Sphingomonas echinoides</i> -like	JN052121						0		1	2	1		4	(4.2)		
<i>Pseudomonas fluorescens / reactans</i>	JN052122						0		1	1			2	(2.1)		
<i>Bacteroides</i> -like sp. oral clone X083	JN052123		1				1	(1.7)					1	1	(1.0)	
<i>Caulobacter crescentus / vibrioides / segnis</i>	JN052124						0				1		1	(1.0)		
Uncultured bacterium clone mek64b12	JN052125						0			1			1	(1.0)		
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> -like	JN052126						0			1			1	(1.0)		
<i>Propionibacterium acnes</i>	JN052127						0				1		1	(1.0)		
<i>Methylobacterium dichloromethanicum / extorquens / thiocyanatum</i>	JN052128						0		1				1	(1.0)		
<i>Mesorhizobium loti</i>	JN052129						0		1				1	(1.0)		
Uncultured bacterium clone nbw643g04c1	JN052130						0		1				1	(1.0)		
<i>Aquabacterium hongkongensis</i>	JN052131						0			1			1	(1.0)		
Uncultured <i>Acidovorax</i> sp. clone A19	JN052132						0			1			1	(1.0)		
<i>Massilia brevitalea</i>	JN052133						0			1			1	(1.0)		
<i>Herbaspirillum putei</i>	JN052134						0				1		1	(1.0)		
Uncultured bacterium clone: TSCOR001_M22	JN052135						0			1			1	(1.0)		
Uncultured bacterium clone G-30	JN052136						0				1		1	(1.0)		

Tabla 2. Especies bacterianas comúnmente encontradas en conductos radiculares infectados asintomáticos. (Love 2002)

<u>Gram-positive Cocci</u>	<u>Gram-positive Rods</u>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Actinomyces israeli</i>
<i>S. sanguinis</i>	<i>A. naeslundii</i>
<i>S. mitis</i>	
<i>S. mutans</i>	<i>Eubacterium alactolyticum</i>
	<i>E. lentum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>E. nodatum</i>
	<i>E. timidum</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>	
<i>P. anaerobius</i>	<i>Propionibacterium propionicum</i>
	<i>P. granulosum</i>
	<i>Lactobacillus</i>
<u>Gram-negative Cocci</u>	<u>Gram-negative Rods</u>
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>C. sputigena</i>	
	<i>Prevotella intermedia</i>
	<i>P. melaninogenica</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>P. denticola</i>
	<i>P. buccae</i>
	<i>P. buccalis</i>
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>P. oralis</i>
<i>C. curvus</i>	
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
	<i>P. endodontalis</i>
	<i>Bacteroides gracilis</i>

Adapted from Sundqvist, 1992a,b, 1994; Le Goff et al., 1997.

El tejido pulpar expuesto está en contacto directo con las bacterias y sus productos, y responde con una inflamación severa. Alguna invasión de tejido de algunas bacterias también puede ocurrir. Las bacterias en el frente de la batalla deben sobrevivir al ataque de la defensa del huésped y al mismo tiempo debe adquirir nutrientes para mantenerse con vida. En este choque pulpo-bacteriano el tejido pulpar es derrotado y se vuelve necrótico. Así las bacterias avanzan y “ocupan el territorio”, es decir, colonizan el tejido necrótico. Estos eventos ocurren por compartimentos de tejido que se unen y mueven hacia la parte apical del conducto hasta que virtualmente el conducto radicular es por completo infectado y necrótico. En esta etapa, las bacterias involucradas pueden ser consideradas como las colonizadoras iniciales o especies pioneras en el conducto radicular. (Siqueira, 2007)

Las bacterias encapsuladas han incrementado su habilidad para causar abscesos. Las bacterias colonizadoras del conducto radicular necrótico empiezan a inducir daño en los tejidos perirradiculares y dan lugar a los cambios inflamatorios. En realidad la inflamación perirradicular puede ser observada incluso antes de que el conducto radicular esté totalmente necrótico. Por lo tanto, los primeros colonizadores juegan un rol importante en la iniciación del proceso de la enfermedad de la periodontitis apical. Las condiciones del ambiente en el conducto son modificadas por las especies pioneras y el proceso de enfermedad el cual puede ser propicio para el establecimiento de grupos de bacterias diferentes a las primeras colonizadoras. Una vez que el tejido es

necrótico, otras especies pueden participar en la infección inicial teniendo un acceso por la exposición por vía coronal o por medio de túbulos expuestos. En efecto, un cambio en la microbiota es observado como resultado de reordenamiento en las proporciones de las especies pioneras y las recién llegadas. Algunas especies colonizadoras se espera que no participen en el consorcio en la enfermedad una vez avanzada. Al momento de que pasa el tiempo, la microbiota endodóntica se vuelve más y más estructurada y espacialmente organizada. Algunos atributos de virulencia son necesarios para prosperar, en otros sitios pueden ser de ningún valor para las bacterias que llegan al conducto de la raíz después de la necrosis como, por ejemplo, la habilidad de evadir la defensa del huésped. Esto se debe a que los recién llegados no se enfrentan a ninguna oposición de la defensa del huésped, los cuales no son activados en el conducto después de la necrosis. A pesar de que la colonización pueda parecer una tarea fácil para los colonizadores tardíos, otros factores del ambiente, tales como la interacción con otras especies, tensión del oxígeno y la disponibilidad de nutrientes, determinaran si las nuevas especies que entran al conducto tendrán éxito en el establecimiento ahí dentro. Así, las especies recién llegadas se unirán las especies pioneras para realizar una mezcla dinámica de la comunidad en el conducto radicular. Al final, los conductos radiculares de los dientes evidenciando una periodontitis apical detectada radiográficamente albergan las primeras colonizadoras que lograron mantenerse en los conductos y colonizadores recién llegados que lograron adaptarse a las nuevas, propiciado, condiciones ambientales. (Siqueira, 2007)

Las etapas usuales secuenciales para infección bacteriana en varios sitios incluyen

- a) *Apego a y colonización a las superficies del huésped.*
- b) *Invasión a los tejidos del huésped.*
- c) *Supervivencia dentro de los tejidos por medio de la adquisición de nutrientes y evadiendo los mecanismos de defensa del huésped.*
- d) *Inducción de daño al huésped directa o indirectamente.*

(Siqueira, 2007)

Las bacterias ejercen su patogenicidad causando destrucción el tejido de huésped por mecanismos directos o indirectos. Factores bacterianos que causan daño directo incluyen aquellos que dañan las células huésped y/o la matriz intercelular del tejido conectivo. Estos factores usualmente involucran productos secretados, incluyendo *enzimas, exotoxinas y productos metabólicos.*

Además los componentes estructurales de la bacteria incluyen *peptoglicanos, ácido lipoteicoico, fimbrias, flagelos proteínas de la membrana externa y vesículas, ADN, exopolisacáridos y lipopolisacáridos*, los cuales se desprenden hacia los tejidos perirradiculares y actúan como moduladores estimulando el desarrollo de las reacciones inmunes del huésped capaces no solo de defender al huésped contra la infección sino también de un daño severo en los tejidos. Las células huésped inflamatorias y no inflamatorias pueden ser estimuladas por componentes bacterianos para liberar *mediadores químicos* tales como *citoquinas y prostaglandinas*, los cuales están involucrados en la inducción de resorción ósea característica observada en lesiones crónicas de periodontitis apical. Citoquinas pro-inflamatorias estimulan la reabsorción osteoclástica ya sea por aumento de

la proliferación y diferenciación de precursores de osteoclastos o promoviendo la activación de osteoclastos maduros o ambas. (Siqueira, 2007)

Otro ejemplo de daño indirecto causado por bacterias es la formación de *exudado purulento* en abscesos apicales agudos. Los mecanismos de defensa del huésped contra las bacterias que emanan del conducto radicular parecen ser los factores mas importantes involucrados en la formación de pus asociada con bacterias. La formación de *oxígeno derivado de radicales libres*, tal como *superóxido* y *peróxido de hidrogeno* junto a la liberación de *enzimas lisosomales por leucocitos polimorfonucleares*, da un aumento a la destrucción de la matriz extracelular conduciendo a la formación de *pus*. Por lo tanto las bacterias pueden ejercer efectos destructivos indirectos, los cuales parecen ser mas significativos en el daño del tejido asociado con lesiones crónicas de periodontitis apical. (Siqueira, 2007)

Aislar la ubicación de la microbiota en los conductos radiculares indica que para producir su patogenicidad la bacteria debe invadir los tejidos perirradiculares o sus productos/ o sus componentes estructurales deben penetrar los tejidos y ser capaces de provocar la respuesta de defensa en el huésped. La bacteria puede invadir los tejidos ya sea por su motilidad o por crecimiento. Bacterias móviles pueden evadir fagocitos por un movimiento rápido. Invasión por medio de crecimiento requiere que la velocidad de reproducción supere el mecanismo de defensa del huésped. Una invasión franca de los tejidos perirradiculares es bastante fuera de lo común y, cuando ocurre, las bacterias son rápidamente eliminadas. En algunos casos, en los cuales dependen muchos factores, una invasión masiva de bacterias en los tejidos perirradiculares puede resultar en la formación de un absceso. La presencia de mas especies o cepas virulentas , o un consorcio virulento mixto, puede predisponer a la formación de un absceso. Sin embargo, es asumido que la microbiota oral contiene solo algunas especies patogénicas, y la mayoría de estos tienen una baja virulencia. (Siqueira, 2007)

VI. FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA (PAMPS)

Los factores de virulencia comprenden componentes celulares estructurales y productos liberados. Las estrategias bacterianas que contribuyen a la patogenicidad, tales como la habilidad de co-agregación y la formación de biofilm, han sido también considerados como factores de virulencia. La mayoría de los factores de virulencia tienen sus funciones primarias que no sea de causar daño al tejido del huésped. Tienen un papel estructural o fisiológico y el factor de virulencia es meramente coincidencia y consecuentemente. Diversos factores de virulencia usualmente actúan en combinación en varias etapas de la infección, un factor por si solo tiene varias funciones en diferentes etapas. Los factores de virulencia están involucrados en cada paso del proceso infeccioso (adhesión, invasión, supervivencia y daño). (Siqueira, 2007)

COMPONENTES ESTRUCTURALES

1.- LIPOPOLISACÁRIDOS (LPS)

Esta sustancia fue llamada *endotoxina* la cual fue subsecuentemente revelada para ser una denominación errónea, desde que las endotoxinas viven de la superficie de la bacteria, no dentro de ella. Aun cuando los términos *lipopolisacáridos (LPS)* y *endotoxina* han sido utilizados indistintamente, ha sido recomendado que el

termino de LPS sea reservado para extractos de bacterias purificadas libres de contaminantes (mayormente proteínas) y el termino de endotoxina utilizado para referirse a complejos macromoleculares de LPS, proteínas y fosfolípidos.

La molécula del LPS, potente activador del sistema inmune, consiste es un polisacárido hidrofílico, subdividido en un o-polisacárido de cadena específica (antígeno-o) y un centro oligosacárido con un componente glicolípido hidrofóbico, denominado lípido A. Forman parte integral de las paredes celulares de Gram-negativos. Son liberados durante la desintegración de la bacteria después de la muerte o inclusive durante su multiplicación y desarrollo. Los efectos de LPS son debido a su interacción con las células endoteliales y macrófagos. No solo indican a las células endoteliales para expresar la adhesión de moléculas sino que además activa a los macrófagos para producir varios mediadores moleculares tales como TNF- α e interleucinas. Su liberación a través del foramen apical inicia y mantiene la periodontitis apical. (Siqueira, 2007; Nair, 2004)

El lípido A se encuentra incrustado en la membrana externa de la pared celular de Gram-negativos, mientras que las porciones del núcleo y el antígeno O se extienden hacia fuera desde la superficie bacteriana. La larga cadena de polisacáridos LPS puede alojar la fijación del sistema de complemento en un sitio distante de la membrana de la célula bacteriana, protegiendo a la bacteria del efecto lítico letal del sistema de defensa del huésped. El lípido A es liberado de la membrana externa durante la multiplicación o después de la muerte, cuando los LPS es liberado ya sea como una forma libre o como un LPS complejo con una superficie de proteínas (endotoxinas). (Siqueira, 2007)

Como consecuencia de la liberación, el lípido A es expuesto a las células huésped y puede aumentar a una amplia gama de eventos biológicos. Los macrófagos parecen ser una célula clave involucrada en la respuesta del huésped hacia los LPS. Después de la liberación de las bacterias, LPS son inicialmente unidos a una proteína plasmática llamada LPS-proteína de unión LBP, después la cual es entregada a CD14, una célula receptora de LPS en la superficie de los macrófagos. La posterior activación de los macrófagos es el resultado de una señal que desencadenada por un receptor de señal de transducción llamado *receptor Toll-like (TLR)*. La familia de receptores T abarca moléculas transmembrana que une el compartimiento extracelular, donde ocurre el reconocimiento y el contacto de los patógenos, y donde son iniciados las cascadas de señalización guiando la iniciación de la respuestas celulares. TLR son los responsable de la señalización celular a una variedad de componentes celulares. El receptor TLR-4 esta involucrado en la activación celular por LPS de casi todas las bacterias. Sin embargo TLR-2 tal vez estén involucrados en la señalización celular de varios tipos de LPS, tales como en la forma de *Porphyromonas Gingivalis*. El compromiso del receptor es activar los factores de transcripción, los cuales inducen la activación de genes codificando varias citoquinas.

Los efectos biológicos de LPS incluyen:

- a) Activación de macrófagos/monocitos con una consecuente síntesis y liberación de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 β , IL-6, CXCL8 o IL-8, TNF- α), prostaglandinas, oxido nítrico, y radicales libres

- derivados del oxígeno. Estas sustancias son mediadores químicos de la inflamación y la mayoría de ellos pueden estimular la reabsorción ósea.
- b) Activación del sistema de complemento. Algunos productos del complemento son quimiotácticos a las células inflamatorias (C5a), actúan como opsoninas, y pueden aumentar la permeabilidad vascular (C3a y C5a).
 - c) Activación del factor Hageman, el primer paso del sistema de coagulación intrínseco, activando la cascada de coagulación o la producción de bradiquinina, un importante mediador químico de la inflamación.
 - d) Inducción de la expresión de las moléculas de adhesión de leucocitos en las células endoteliales, las cuales son importantes en las primeras etapas de inflamación.
 - e) Estimulación de la diferenciación de osteoclastos y reabsorción ósea, particularmente en interacciones dentro de células TLR-4 del linaje de osteoblastos. Los LPS inducen expresión de RANKL en osteoblastos y estimula estas células para segregar interleucina (IL)-1, IL-6, prostaglandina E2 (PGE2), y TNF- α , cada uno conocido por la inducción de la actividad y diferenciación osteoclástica.
 - f) LPS pueden ser mitogénicos a linfocitos B y células epiteliales.
 - g) LPS pueden estimular células B naives en la ausencia de células Tcooperadores. En concentraciones bajas, LPS estimulan la producción de anticuerpos específicos. En concentraciones altas, esta molécula puede causar la activación no específica de células policlonales de células B.
 - h) Se ha demostrado recientemente que las neuronas aferentes trigeminales expresan receptores TLR4 y CD14 y desencadenan una cascada de señalización, llevando así a una liberación periférica de la neurotransmisión nociceptiva central. Esto aumenta la posibilidad de que uno de los mecanismos de dolor asociado con el proceso de infección bacteriana pueda resultar como un efecto directo de LPS en fibras sensoriales a través de la interacción y activación directa del complejo TLR4/CD14.

Se espera que la concentración de LPS en conductos infectados sea directamente proporcional a la carga (numero de células) de bacterias Gram-negativas. Estudios han revelado que el contenido de endotoxinas o LPS en conductos infectados es mayor en dientes con periodontitis apical sintomática, dientes con destrucción ósea perirradicular, o en dientes con un exudado persistente que aquellos dientes con ausencia de ello. Murakami et al. detectaron LPS en muestras de *Porfiromonas endodontalis* en muestras de raíces infectadas o en muestras de pus de abscesos agudos en casi el 90% de los pacientes examinados. Ellos sugieren que LPS de *P. Endodontalis* pueden jugar un papel integral como potente estimulador de citoquinas inflamatorias involucradas en la formación de abscesos agudos. Dahlén et al. inocularon LPS de *Fusobacterium nucleatum* dentro de conductos radiculares de monos y reportaron la incidencia de reacción inflamatoria en los tejidos perirradiculares de todas las muestras experimentales con reabsorción de ambos tejidos, óseo y dentario. Dwyer y Torabinejad evaluaron histológica y radiográficamente el tejido perirradicular de gatos después de la deposición de la solución de endotoxina *E. Coli* en los conductos radiculares y concluyeron que la endotoxina pueda tener un papel en la inducción y perpetuación de lesiones inflamatorias perirradiculares. Tales resultados fueron similares a aquellos obtenidos por Pitts et al. después de inocular solución de endotoxina *Salmonella Minnesota* en conductos radiculares de perros.

No todas las bacterias Gram-negativas producen LPS. Por ejemplo, algunos *Treponemas* poseen lipooligosacáridos (con una porción con carbohidratos mas corta), y lipoproteínas en la membrana externa y tal vez tengan una bioactividad similar a LPS. (Siqueira, 2007)

El comportamiento de infecciones con componentes patológicos como LPS incluyen en sus fases agudas respuestas con comportamientos fisiológicos de enfermedad de fase aguda respuestas que incluyen: fiebre, dolor (hiperalgesia, desgaste, etc.) componentes en el comportamiento incluyen una disminución generalizada en la actividad, somnolencia, deterioro cognitivo (deterioro en el aprendizaje), disminución de la interacción social y exploración, disminución en actividad sexual y disminución del apetito. (Cleeland, 2003; Yirmiya, 1996)

2.- PEPTIDOGLICANOS

Excepto de las células micoplasmas sin pared celular, cada bacteria contiene peptidoglicanos en su pared celular, el cual su función primaria parece ser el proteger a la célula contra la lisis osmótica. Los peptidoglicanos son polímeros complejos que consisten en dos partes: una porción de glicano y una porción tetrapéptida. Debido a enlaces cruzados, los peptidoglicanos forman una fuerte hoja de múltiples capas que rodea a la célula bacteriana por completo. En bacterias Gram-positivas existen de 40-100 hojas de peptidoglicanos, que comprende un 50% de material de la pared celular. En bacterias Gram-negativas, aparecen solo una o dos hojas, que comprenden de un 5-10% del material de la pared celular. Los peptidoglicanos pueden inducir diversos efectos biológicos, los cuales juegan un papel en la patogénesis de lesiones de periodontitis apical. Estos efectos incluyen la activación de macrófagos/monocitos con una consecuente liberación de citosinas, tales como IL-1 β , IL-6, TNF- α , factor de estimulación de colonias granulocitos/macrófagos G-CSF y M-CSF, y activación del sistema de complemento por la vía alternativa. La señalización de peptidoglicanos esta mediada principalmente a través de TLR-2. (Siqueira, 2007)

3.- ÁCIDO LIPOTEICOICO

Polímeros aniónicos, tales como el ácido lipoteicoico (LTA), son los mayores componentes de las paredes celulares de las bacterias Gram-positivas, que representa hasta un 50% de su peso seco. LTA es un polímero de glicerol fosfato único covalentemente a un glucolípido en la membrana citoplasmática y sobresaliente de la capa de peptidoglicanos. El LTA puede activar macrófagos/monocitos e inducir la liberación de citoquinas pro-inflamatorias tales como IL-1 β , IL-6, CLCX8 y TNF- α . El LTA ejerce un efecto por la señalización vía TLR-2. El LTA puede también activar el sistema de complemento. Todos estos efectos pueden considerarse para la inducción de daño a tejidos tisulares indirectamente. Ya que el LTA se asemejan de cierta manera a los efectos biológicos de los LPS, se puede considerar como componente homólogo de LPS Gram positivos. (Siqueira, 2007)

4.- MEMBRANA EXTERNA DE PROTEÍNAS

Aproximadamente el 50% de masa drenada de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas está constituido por proteínas. Aparte de su papel estructural, la membrana externa de proteínas (OMPs) también ha mostrado tener otras funciones fisiológicas, tales como la actividad porina. OMPs ha mostrado estimular los

macrófagos y linfocitos para liberar una serie de citoquinas pro-inflamatorias e inmunomoduladoras, incluyendo IL-1, IL-4, IL-6, CXCL8, TNF- α , GM-CSF y IFN- γ . OMPs también promueve la resistencia al complemento-mediador killing por medio de la activación preventiva de cascadas de complemento y/o bloqueando la formación del complejo de ataque de membrana. Un estudio reciente reportó que más de la mitad de sueros de pacientes con lesiones de periodontitis apical tienen fuertes reacciones a los componentes celulares de *Porphyromonas Gingivalis*, especialmente a RagB, el cual es una membrana externa de proteínas de su especie. Fue sugerido que la membrana externa de proteínas puede ser un factor de virulencia posible en las lesiones de periodontitis apical. (Siqueira, 2007)

5.- VESÍCULAS DE MEMBRANA EXTERNA

La liberación de material de membrana hacia la superficie externa de bacterias Gram-negativas ha sido reportada por un número de especies patógenas. Este material ha sido referido como vesículas o flictenas. Las vesículas son consideradas como parte de una extrusión de la membrana externa, derivados de una ambivalencia entre el crecimiento de la membrana externa y de las estructuras celulares fundamentales. Las vesículas de la membrana externa tienen la capacidad de atrapar los contenidos del espacio periplásmico, particularmente enzimas líticas que pueden acabar con grandes moléculas impermeables favoreciendo su consumo así como las enzimas que confieren la resistencia a los antibióticos. Por lo tanto las vesículas pueden proporcionar un potencial virulento formidable a la bacteria. (Siqueira, 2007)

6.- LIPOPROTEÍNA

Las lipoproteínas son usualmente presentadas en la pared celular de bacterias Gram-negativas y son responsables del anclaje de la membrana externa y la capa de peptidoglicanos. Las lipoproteínas han demostrado ser estimulantes para la liberación de IL-1 β , IL-6, IL-12 y TNF- α por medio de los macrófagos. (Siqueira, 2007)

7.- FIMBRIAS

Las fimbrias son estructuras en forma de vara originarias de la membrana citoplasmática y compuestas de una sola subunidad de proteína denominada fibrilina. La distribución y número de fimbrias varían significativamente, presentando 10 fimbrias por célula y algunas otras presentes hasta 1000. Las fimbrias son distribuidas sobre la superficie de la bacteria, pero en algunos casos están localizadas preferentemente en una parte de la superficie de la bacteria. Las fimbrias son encontradas mayormente en bacterias Gram-negativas, aunque pueden estar presentes en ciertos *Streptococos* y *Actinomicas*. La punta de la fimbria regula la adherencia bacteriana a la superficie del huésped u otro microorganismo, por medio de la unión a receptores específicos, usualmente en la interacción de lectina. Además de promover la adhesión, las fimbrias han demostrado provocar la liberación de citoquinas por medio de macrófagos, incluyendo IL- α , IL-1 β , IL-6, CXCL8 y TNF- α . (Siqueira, 2007)

8.- EXOPOLISACÁRIDOS

La producción de exopolisacáridos es una característica común de células bacterianas creciendo en su medio ambiente natural. Los exopolisacáridos forman un geles hidratados insolubles en agua. Estos deben estar

formados por homo- o heteropolisacáridos. Exopolisacáridos juegan un papel importante cuando se habla de patogenicidad bacteriana. Estos pueden alojar la adhesión bacteriana a la superficie del huésped y también servir como un sustrato metabólico en periodos de inanición. Además, los exopolisacáridos (cápsula) juegan un papel crucial en la virulencia bacteriana al obstaculizar la fagocitosis o inhibir la activación y la muerte complementaria. Varias especies bacterianas producen una cápsula con una estructura química que imita el tejido del huésped, camuflajeando a los microorganismos en el sistema inmune. Los exopolisacáridos también pueden estimular la síntesis de citoquinas por macrófagos incluyendo IL-1 β , IL-6, CXCL8, TNF- α , contribuyendo al daño. (Siqueira, 2007)

9.- FLAGELOS

Los flagelos son relativamente proyecciones largas extendidas hacia fuera de la membrana citoplasmática que confiere motilidad a la bacteria. El flagelo puede rotar a velocidades arriba de 1200rpm, permitiendo así que las células bacterianas se muevan a velocidades de 100 m/s. En algunas bacterias el flagelo surge del final de la célula – flagelo polar, mientras que los flagelos polítricos son aquellos que rodean la célula. Aunque la estructura básica de flagelo bacteriano parezca similar para todas la bacterias, existen variaciones estructurales que reflejan la diversidad bacteriana. Por ejemplo, el flagelo de las espiroquetas no se extienden de la célula sino mas bien están insertadas subterminalmente en cada polo del cuerpo de la célula. Denominados flagelo periplásmico y están localizados entre el cilindro protoplásmico y capa externa (vainas). La rotación axial del filamento impulsa la célula propagando una onda helicoidal por toda la longitud de la célula de manera que se mueve con un movimiento de sacacorchos. El flagelo periplásmico, además de ser necesarios para la motilidad, tienen grandes influencias en la morfología de células helicoidales.

Los principales ejemplos de bacterias orales que poseen flagelos y motilidad incluyen *Treponemas* (flagelos periplásmico), *Campilobacter rectus*, y otras especies de *Campilobacter* (flagelo único polar), especies de *Selenomonas* (mas de 16 flagelos laterales formando un penacho), *Centipeda Periodontii* (flagelos peritricosos), especies *Eubacterium* (como *E. Yurii*, el cual tiene un flagelo único polar), y especies del genero *Bacillus* y *Clostridium* (la mayoría con flagelos en penacho). La motilidad puede ser un rasgo patogénico importante en algunas especies ya que permite a la bacteria evadir fagocitosis e invadir el tejido. Además, los flagelos también pueden inducir la producción de citoquinas pro- inflamatorias por un proceso que involucra el reconocimiento de flagelina por TLR5. (Siqueira, 2007)

10.- ADN BACTERIANO

El ADN bacteriano difiere del DNA mamífero a causa de la presencia de un centro no metilado dinucleótido CG (CpG). Mientras los motivos de CpG son no metilados y completamente abundantes en el DNA de la bacteria, son metilados y altamente suprimido en el DNA mamífero. Sin embargo, el contexto de nucleótidos CpG en el genoma humano no es aleatorio, con Cps Fs precedido frecuentemente por C o seguido de G, el cual es desfavorable para la estimulación inmune. Debido a esto, las células del sistema inmune innato pueden percibir el DNA bacteriano e interpretar su presencia como un daño infeccioso. Macrófagos y células dendríticas pueden ser directamente estimuladas por DNA bacteriano para producir una variedad de citoquinas, tales como IL-8 β ,

TNF- α , IL-6, IL-1 α , IL-18, proteína -1 monocitos quimiotácticos y IFN- γ . Además DNA bacteriano ha sido demostrado ser un potente mitógeno de células B. TLR9 está involucrado en la iniciación de la activación celular por DNA CpG. Similar a los LPS, DNA CpG modula la osteoclastogénesis de los cultivos de células/osteoblastos del hueso de la médula. A la unión de TLR-9, CpG DNA interactúa con osteoblastos TLR-9 y provoca unos eventos celulares conduciendo al aumento de expresión molecular regulando la osteoclastogénesis. (Siqueira, 2007)

PRODUCTOS SECRETADOS

1.- ENZIMAS

Algunas enzimas producidas y liberadas por las bacterias juegan un papel importante en la patogenicidad. La Proteinasa (o proteasa) son enzimas tanto secretadas extracelularmente o expresadas en superficie celular la cual es capaz de hidrolizar las uniones péptidas de las proteínas. Son candidatas para la contribución de la patogénesis de las lesiones de periodontitis apical en algunos mecanismos, incluyendo el daño directo por medio de la degradación de componentes de la matriz extracelular del tejido conectivo; daño indirecto por medio de la activación de la metaloproteínasa de la matriz del huésped; y la desestabilización del mecanismo de defensa del huésped por medio de la inactivación de proteínas tales como las inmunoglobulinas y componentes del complemento. Por ejemplo, se ha encontrado que las bacterias que tienen activada la colagenasa han sido frecuentemente encontradas en los casos de grandes lesiones de periodontitis apical, lo que sugiere que tal actividad enzimática puede contribuir al aumento de la lesión. Además de tener efectos perjudiciales directos e indirectos así como las actividades de protección en contra de la defensa del huésped, las proteinasas bacteriales pueden jugar un papel ecológico fundamental en el hábitat adquiriendo nutrientes en la forma de péptidos y aminoácidos que pueden ser usados por otras especies en el consorcio mixto de especies bacterianas. Otras enzimas pueden jugar un papel en la patogenicidad bacteriana. La hialuronidasa esta involucrada en la hidrólisis del ácido hialurónico, un integrante de la sustancia fundamental del tejido conectivo. Esta enzima puede ser importante también para la proliferación hacia los tejidos. Hashioka et. al, observaron que la bacteria con actividad de hialuronidasa fueron aisladas de los conductos radiculares con síntomas apicales agudos. Chondroitin Sulfatase y Acido Fosfatasa son otras enzimas que pueden estar involucradas en la degradación de componentes de la matriz extracelular del tejido conectivo. DNases reducen la viscosidad del debris de las células muertas del huésped (como abscesos) y puede así alojar la proliferación de la bacteria dentro de una extensa área donde el daño al huésped ha ocurrido. Fibrinolysin es producida por muchos *Streptococcus hemolíticos* y activa una enzima proteolítica de plasma, el cual es capaz de disolver plasma coagulado y probablemente este involucrado en la proliferación de la infección a través del tejido. Fosfolipasas pueden estar asociados con el daño de la membrana de la célula huésped causadas por la escisión de fosfolípidos, los cuales desestabilizan la membrana y resulta en una lisis celular. (Siqueira, 2007)

2.- EXOTOXINAS

Las exotoxinas son polipéptidos termolábiles excretados por bacterias que viven y son altamente antigénicas y altamente tóxicas. La leucotoxina es la exotoxina más documentada conocida por jugar un papel en la

patogénesis de la enfermedad periodontal. La leucotoxina es una célula específica y se une a los neutrófilos, monocitos y a un subconjunto de linfocitos, formando poros en la membrana plasmática de las células blanco. Como resultado de la formación de un poro inducido por la toxina, la célula pierde la habilidad de mantener la homeostasis osmótica y muere. Pocas bacterias orales, incluyendo *Fusobacterium necrophorum* y *Campylobacter rectus*, son reconocidas por producir exotoxinas. De éstos solo el último ha sido fuertemente observado en infecciones endodónticas. (Siqueira, 2007)

3.- PÉPTIDO BACTERIANO (fMLP) N-Formil-metionil-leucil-fenilalanina

Los péptidos fMLP son derivados del extremo terminal N de proteínas bacterianas recién sintetizadas. Para algunas proteínas, particularmente aquellas que ocurren en el citoplasma, los péptidos fMLP son divididos después de la traducción y no están presentes en la proteína madura. Para las membranas o proteínas secretoras, las extensiones de señales del extremo terminal son divididos por una peptidasa siguiendo el transporte a través de la membrana y por lo tanto, son liberados hacia el espacio extracelular. El péptido señal es incorporado en la proteína en la forma de una extensión de secuencia corta y se cree que dirige el transporte de péptidos recién sintetizados a través de la membrana siguiendo su síntesis. El fMLP es un péptido bacteriano y es considerado como un fuerte quimioatrayente y un poderoso activador de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. (Siqueira, 2007)

4.- PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO

El estrés ambiental (por ejemplo la disponibilidad de nutrientes, temperatura, pH, potencial Redox, etc.) puede afectar la supervivencia de la bacteria oral e inducir la acumulación de daño o desnaturalización de proteínas. Las células procariontas y eucariontas responden a esta condición por medio de la inducción o aceleración de la síntesis de proteínas específicas conocidas como proteínas de estrés, incluyendo las proteínas de choque térmico. Las HSP son familias de proteínas conservadas altamente, las cuales su principal función es el de alojar microorganismos para que sobrevivan bajo condiciones de estrés. Actúan como acompañantes moleculares en la formación y doblamiento de proteínas, y como proteasas cuando el daño o proteínas tóxicas necesitan ser degradadas. Muchas HSP son expresadas constitutivamente bajo condiciones normales pero son reguladas rápidamente bajo condiciones de estrés.

Las HSP no son proteínas intracelulares exclusivamente, además pueden ser localizadas en la superficie celular o en alguna vesícula de membrana externa liberada por alguna bacteria. Están comúnmente agrupados en familias basadas en el peso molecular. Muchas HSP de patógenos endodónticos, incluyendo *Tannerella Forsythia*, *Campylobacter Rectus*, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella buccae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Treponema denticola*, han sido identificadas. La proteína HSP puede jugar diferentes papeles como factor de virulencia. Un número de bacterias aparentemente usan algunas proteínas HSP como adhesinas. Además de participar en la adhesión bacteriana, las HSP han mostrado tener propiedades de señalización entre célula y célula y son capaces de modular la actividad de las células huésped. La acción de las proteínas HSP bacteriano en células huésped incluyen la inducción de la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias. HSP han sido además reportadas por promover el efecto de apoptosis,

tal efecto probablemente inhiba la respuesta antibacterial del huésped. La citotoxicidad de algunas HSP puede también contribuir para la destrucción de tejidos, mientras la presencia de epítomos comunes en las proteínas del huésped y en las HSP puede conducir a respuestas patológicas autoinmunes. (Siqueira, 2007)

2.2.3 PRODUCTOS METABÓLICOS FINALES

Muchos productos-finales del metabolismo bacteriano son liberados al ambiente extracelular y pueden ser tóxicos para las células huésped, causan degradación de constituyentes de la matriz extracelular del tejido conectivo, e interfiere en el proceso de respuesta de la defensa del huésped. Entre los diversos productos metabólicos finales, compuestos de azufre volátiles, ácidos grasos de cadena corta, poliaminas, indol y amonio han sido considerados supuestos (putativo) factores de virulencia. Los compuestos de azufre volátiles son formados como resultado de la desulfuración de aminoácidos que contienen grupos sulfhidrilo. Por ejemplo el hidrógeno de sulfuro es derivado de la desulfuración de metionina. Ha sido demostrado que un gran número de especies son capaces de formar compuestos de azufre volátiles. (Siqueira, 2007) Algunos ejemplos: *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parviromonas micras* (antiguamente *peptostreptococcus/micromonas micros*), *Actinomices* (especies) y *Eubacterium* (especies).

Se espera que los compuestos de azufre volátiles se formen por bacterias endodónticas de aminoácidos libres de azufre presentes en los fluidos del tejido o del exudado que penetra en el conducto radicular. La actividad proteolítica de algunas especies bacterianas dentro del conducto radicular pueden además suministrar o abastecer a otras bacterias con sustancias adecuadas para la producción de compuestos de azufre volátiles. Estas sustancias pueden ser altamente tóxicas para las células huésped. Aunque ningún estudio parece existir en cuanto a la producción de compuestos volátiles de azufre en conductos radiculares infectados, es completamente posible que estos compuestos puedan acumularse en conductos radiculares necróticos y alcanzar niveles tóxicos en los tejidos perirradiculares. (Siqueira, 2007)

Ácidos grasos de cadena corta son liberados por bacterias endodónticas al medio ambiente incluyendo ácidos volátiles (propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, acético y ácidos fórmicos) y ácidos no volátiles (ácido láctico y succínico). Los ácidos grasos de cadena corta tienen una amplia gama de efectos biológicos. Ácidos butírico, propiónico y valérico han demostrado manifestar efectos citotóxicos en células vero. Los ácidos grasos de cadena corta y los ácidos butíricos en particular pueden causar la inhibición de la proliferación de células T e induce la producción de citoquinas pro-inflamatorias por monocitos. El ácido butírico puede además inducir la apoptosis en células esplénicas T y células B. Ácido succínico en concentraciones comúnmente encontradas en abscesos clínicos ha mostrado deteriorar la actividad antimicrobiana de los neutrófilos. (Siqueira, 2007)

Las poliamidas son producidas por microorganismos como resultado de una descarboxilación de aminoácidos por descarboxilasas. Ejemplos de poliamidas incluyen: Putrescina, Espermidina, Espermina y Cadaverina. Estas enzimas están presentes en muchas bacterias, incluyendo especies del género de: *Enterococcus*,

Pseudomonas, *Lactobacillus*, *Escherichia* y *Staphylococcus*. Las poliaminas pueden estar involucradas en el mantenimiento de la viabilidad celular, estimulación de la proliferación celular y la modulación en procesos inflamatorios. Poliaminas pueden disregular la apoptosis de leucocitos polimorfonucleares y llevar a una muerte celular prematura. Un estudio ha identificado y cuantificado poliaminas en conductos radiculares infectados y demostró las grandes cantidades detectadas en dientes con dolor espontáneo, inflamación y olor fétido comparados con dientes asintomáticos. Los autores sugieren que las poliaminas intraconducto, especialmente putrescina, puede filtrarse fuera del foramen apical y estar involucrada en el desarrollo del dolor. Otros productos metabólicos liberados por bacterias, tales como el indol y amonio, pueden ser tóxicos para las células huésped. (Siqueira, 2007)

La composición del consorcio bacteriano dentro de los conductos radiculares infectados probablemente dicta el tipo de productos metabólicos finales así como su concentración. Por otro lado, algunos compuestos pueden ser consumidos por otras especies y mas adelante ser degradados. Por otra parte, los metabolitos pueden ser dejados para acumular y alcanzar niveles tóxicos en los tejidos perirradiculares. La acumulación de productos metabólicos en conductos radiculares puede representar un mecanismo patógeno adicional en la microbiota de los conductos radiculares. Muchos de estos productos metabólicos finales, tales como los ácidos grasos de cadena corta, poliaminas y particularmente los compuestos de azufre volátiles, son responsables por el típico mal olor de las infecciones endodónticas anaerobias. (Siqueira, 2007)

La periodontitis apical es una enfermedad multifactorial la cual es el resultado de la interacción del huésped y muchos factores bacterianos. Aunque los LPS son indudablemente los factores de virulencia mas estudiados y citados, suena simplista atribuir a esta molécula toda la responsabilidad de la periodontitis apical por casualidad. Esta declaración se refuerza aun más por el hecho de que algunas infecciones primarias y muchos casos de infecciones secundarias persistentes albergan únicamente bacterias Gram-positivas. Por lo tanto, la participación de otros factores no deben ser pasados por alto. De hecho, la patogénesis de los diferentes tipos de periodontitis apical e incluso el mismo tipo en diferentes individuos es improbable que siga un estereotipo considerando el involucramiento de mediadores bacterianos. Aquí se presentan varios factores que pueden actuar juntos para causar diversas etapas del proceso de enfermedad, con los consiguientes signos y síntomas. No hay una sola especie que posea o exprese todos los factores aquí mencionados. Así, por lo tanto, que los factores estén involucrados en cada caso en especifico dependerá de la composición de la microbiota, i.e., las especies bacterianas presentes en la necrosis de conductos radiculares. Todavía vale la pena señalar que la potencia de los efectos biológicos del mismo factor de virulencia (e.g., LPS) pueden significativamente variar de especie a especie. Por lo tanto, dada la naturaleza no especifica de las infecciones especificas primarias, diferentes combinaciones de factores de virulencia pueden causar enfermedades en diferentes temas. El conocimiento de los principales factores de virulencia involucrados en la patogénesis de la periodontitis apical puede ayudar a establecer las medidas propias terapéuticas para inactivar esta “artillería” bacteriana. **(SIQUEIRA, 2007)**

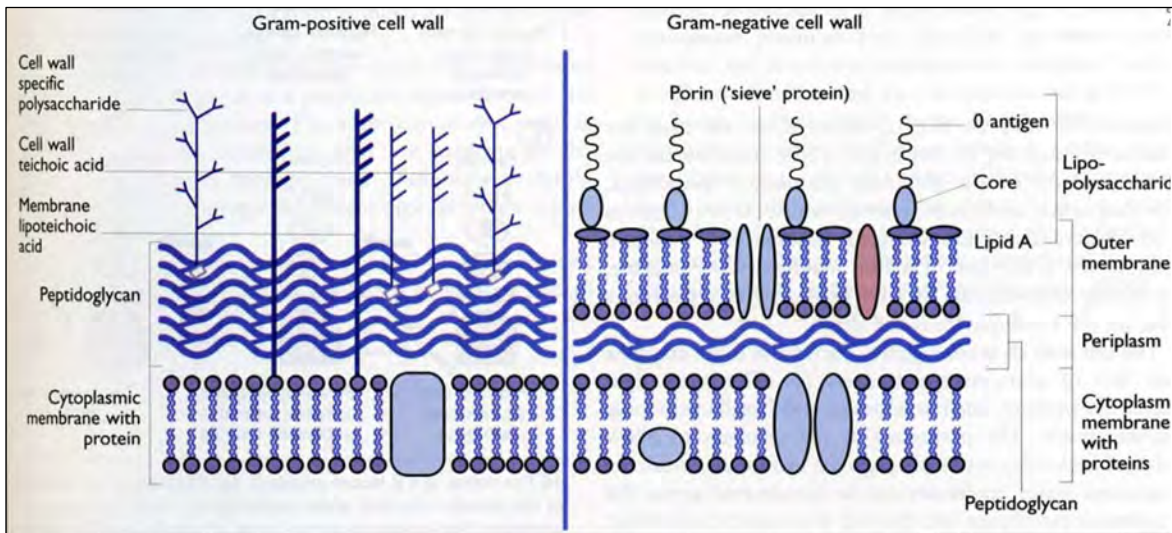



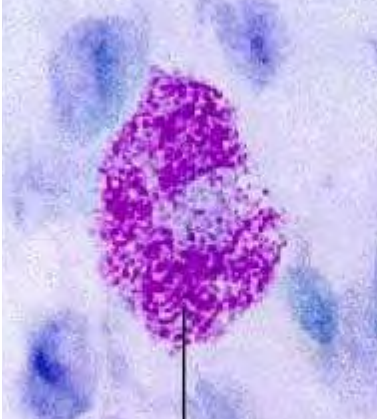
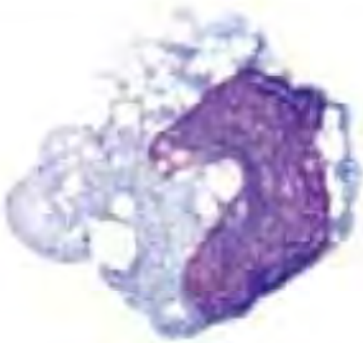
Fig. 2. Estructura de la pared celular de bacterias Gram positiva y Gram negativa. (Scholar 2000)

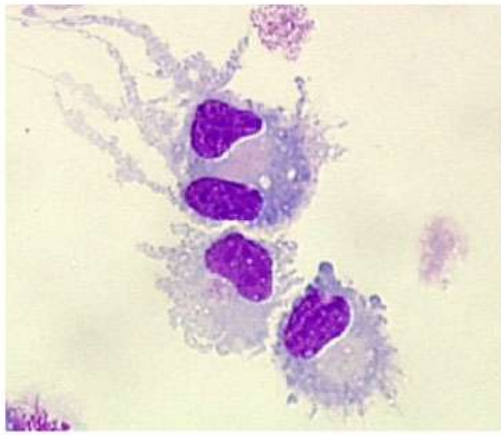
Tabla 3. Factores de virulencia bacterianos involucrados en distintas etapas del proceso infeccioso. (Siqueira, 2007)

Function	Virulence factors
Attachment	Adhesins (fimbriae, afimbrial surface proteins) Exopolysaccharides Lipoteichoic acid Outer membrane proteins Outer membrane vesicles
Invasion	Flagella Enzymes (collagenase, hyaluronidase, chondroitin sulfatase, fibrinolysin, acid phosphatase, and Dnase)
Survival (evasion of host defenses or acquisition of nutrients)	Exopolysaccharides (capsule) IgA, IgG, IgM, C3, and C5 proteinases Lipopolysaccharide (antigen-O portion) Flagella Exotoxins Heat-shock proteins Metabolic end-products
Direct damage	Exotoxins Enzymes (collagenase, hyaluronidase, chondroitin sulfatase, gingipains, aminopeptidases, phospholipase, neuraminidase, and acid phosphatase) Metabolic end-products (short-chain fatty acids, polyamines, volatile sulfur compounds, indole, ammonia)
Indirect damage	Lipopolysaccharide (mainly lipid A portion) Peptidoglycan Lipoteichoic acid Fimbriae Exopolysaccharides Outer membrane proteins (porins) Lipoproteins DNA Heat-shock proteins

CELULAS EFECTORAS DEL SISTEMA INMUNE Y CELULAS DE REPARACION QUE PARTICIPAN EN LA RESPUESTA INNATA Y ADAPTATIVA DE LESIONES PERIAPICALES

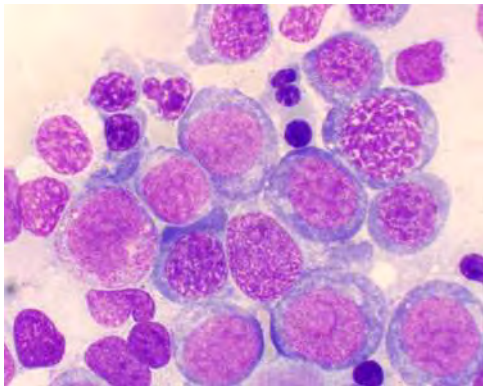
Figura 3. (a) neutrófilos, (b) mastocitos, (c) monocitos, (d) células dendríticas, (e) células natural killer, (f) linfocito B, (g) linfocito T, (h) osteoclastos, (i) osteoblastos, (j) células endoteliales.

 <p style="text-align: right;">a</p>	<p>GRANULOCITOS POLIMORFONUCLEARES: NEUTRÓFILOS O LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES: Son las células mas abundantes en la sangre, correspondiendo entre un 50% y 60% del total de leucocitos circulantes. Alcanzan el sitio de la infección en pocas horas y son responsables de la primera oleada de células encargadas de la respuesta del huésped. Si estos no son “reclutados” en un tiempo no mayor a 6 horas estos experimentan apoptosis. Su membrana tiene moléculas de superficie: receptores de opsoninas, receptores para la adhesión a la pared vascular (integrinas LFA-1 y -4) para poder fijarse a la pared celular para poder migrar fuera de la sangre (diapédesis) , glucoproteínas, receptores para quimiocinas y citocinas. Su contenido molecular es rico en lisozima, colagenasa, elastasa (moléculas muy dañinas que permiten la digestión del microorganismo) y moléculas reguladoras de la inflamación: quimiocinas y factores quimiotácticos. Su actividad fagocítica es estimulada por los microorganismos invasores que son “marcados” con anticuerpos (opsonización). Células pequeñas de 10 mm (Parkin 2001)</p>
 <p style="text-align: right;">b</p>	<p>MASTOCITOS: Reconocido como fuente de histamina, serotonina y otros aminos vasoactivos para el control del tono vascular y permeabilidad, juegan un papel importante en reacciones de hipersensibilidad y en la patogénesis de inflamación crónica, contribuyendo a la iniciación y amplificación del mecanismo de defensa del huésped contra infecciones bacterianas. Producen una gran variedad de mediadores creando un puente entre la activación de mastocitos y la subsecuente estimulación de linfocitos T. (Rodini 2004, Constantino)</p>
 <p style="text-align: right;">c</p>	<p>MONOCITOS: Células maduras precursoras de los macrófagos. Células de mayor tamaño y capacidad fagocítica aun mayor. Constituyen la segunda “oleada” de células que acuden al sitio de la infección. Es el leucocito mas grande alrededor de 12-18 µm de diámetro. Los monocitos también dan origen a los osteoclastos (macrófago en el hueso). (Parkin 2001) En la inflamación tienen tres principales funciones: presentación de antígeno, fagocitosis e inmunomodulación a través de la producción de varias citoquinas y factores de crecimiento. (Chin Lo Hahn 2007)</p>



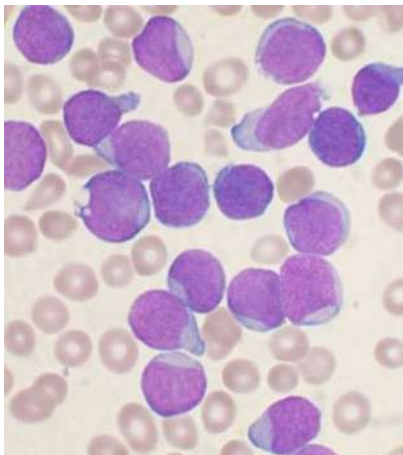
d

CÉLULAS DENDRÍTICAS: Son las encargadas de transportar los antígenos hacia los ganglios linfáticos, estos en su gran mayoría son proteínas que fueron fagocitadas y ahora se expresan en la membrana de estas células a través de las moléculas de clase II del CMH, pero existe un pequeño grupo de antígenos no proteicos y que no son transportados por las células dendríticas, si no que viajan libres en el líquido linfático y de esta manera alcanzan los ganglios. (Brandan N. 2007)



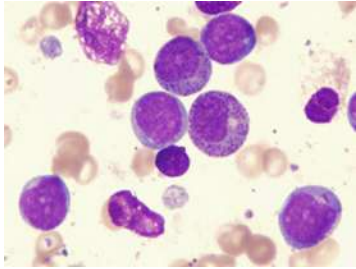
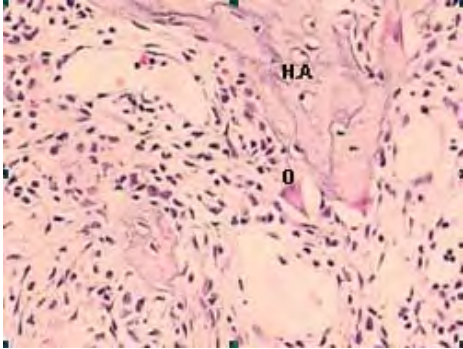
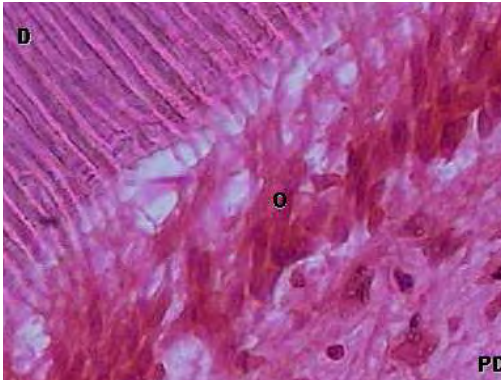
e

CELULAS NK NATURAL KILLER: Éstas tienen la morfología de los linfocitos pero no llevan un receptor específico. Reconocen células anormales de dos maneras. 1ro llevan receptores de inmunoglobulinas y enlaza blancos (objetivos) recubiertos llevándolos a citotoxicidad obligada. 2do tienen receptores en su superficie celular para el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I. Si este receptor no es unido, la célula NK está programada para lisar el objetivo. Esto se logra por la secreción de perforinas en la superficie de la célula a la cual la célula NK ha sido adherida. Las perforinas hacen cavidades en la membrana celular y granzimas causan una inducción de apoptosis en el objetivo. Las células huésped normales son el complejo mayor de histocompatibilidad MHC tipo I positivo, la unión de esta molécula a su receptor en la célula NK inhibe la vía de muerte. Células tumorales y virus (sobre todo la familia de los herpes virus) con frecuencia causan una baja regulación de la clase I. Además esto puede ofrecer alguna ventaja para el patógeno perjudicando el reconocimiento por células T citotóxicas, las cuales dejan abiertas para el ataque con células NK. (Parkin, 2001, The Lancet 2001)



f

LINFOCITOS B: Producen anticuerpos. Esto sirve para neutralizar toxinas, prevenir que microorganismos se adhieran a las superficies mucosas, activa el complemento, opsoniza bacterias para la fagocitosis, y sensibiliza células infectadas y tumorales para ataque de anticuerpos dependientes por células NK. Este anticuerpo actúa para mejorar los elementos del sistema innato. Aunque por último el anticuerpo es el producto secretado de células B activadas junto con las funciones mencionadas, tempranamente en el desarrollo de células B es una membrana unida a una molécula la cual actúa como receptor de células B. En este rol este interioriza al antígeno y lo procesa para presentarlo como CPA para la respuesta de células T. Diferentes clases de anticuerpos predominan en diferentes compartimientos del cuerpo (IgM siendo intravascular, IgG el anticuerpo principal de la sangre y los tejidos, IgA en secreciones). Tamaño muy variable hasta -5 µm de diámetro hasta 15 µm. (Parkin 2001)

 <p style="text-align: right;">g</p>	<p>LINFOCITOS T: (también producen células NK) Son los más abundantes en lesiones periapicales inflamatorias (Ledezma 2004)</p>
 <p style="text-align: right;">h</p>	<p>OSTEOCLASTOS: Derivan de las células hematopoyéticas, en concreto de la línea monocito-macrófago principalmente. Llevan a cabo el remodelado de hueso actuando de manera coordinada en tiempo y espacio, resorbiendo un pequeño volumen de hueso, unos 0.025 mm³. Cuando finalizan la resorción en una unidad de remodelado desaparecen por apoptosis. (Riancho 2011)</p>
 <p style="text-align: right;">i</p>	<p>OSTEOBLASTOS: Derivan de la célula madre hematopoyética a través de células formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos (TCF-GM). Con sus procesos celulares se extienden hacia los túbulos dentinarios, son los primeros en encontrarse con los antígenos bacterianos de la caries. Participan en la respuesta inmune innata contra la caries. Expresan citoquinas en niveles bajos y receptores de quimiocinas. Llegan después de la fase de resorción, sintetizan nueva matriz ósea que después se mineralizara, formándose así hueso nuevo que sustituye al hueso viejo destruido por los osteoclastos. Sufren al termino de la síntesis de matriz ya sea una apoptosis, muchos quedan embebidos en la matriz que se van sintetizando, o se transforman en osteocitos o células de revestimiento. (Chin-Lo Hahn 2007, Riancho 2011)</p>

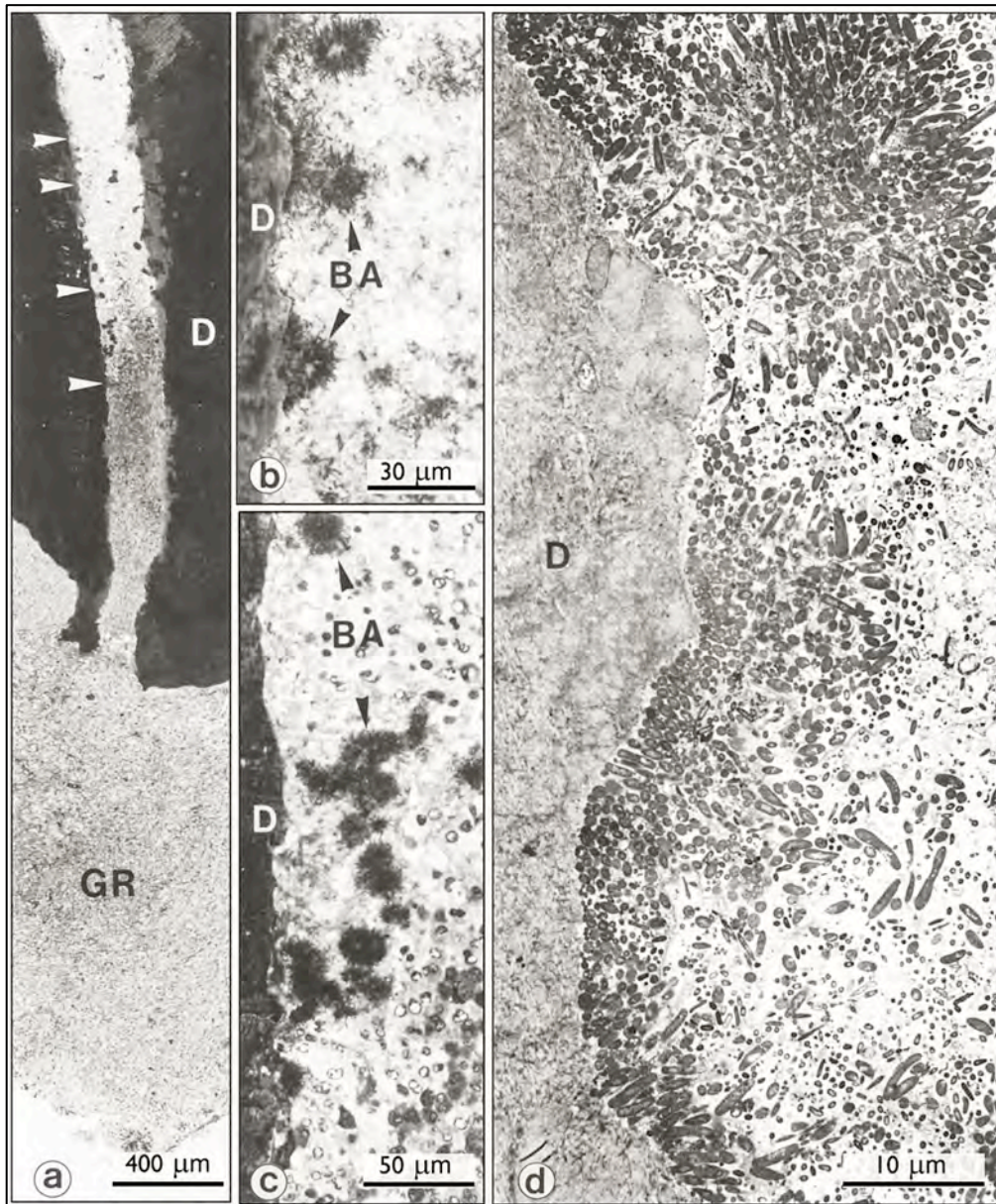


Fig. 4. Microflora endodóntica de un diente humano con periodontitis apical (GR). Las áreas entre las flechas superior e inferior en (a) están magnificadas en (b) y (c), respectivamente. Nótese la densidad de bacterias agregadas (BA), pegadas (b) a la pared dentinaria (D) permaneciendo entre granulocitos neutrófilos en la fase fluida del conducto radicular (c). Una vista de trasmisión electrónica de microscopio (d) de la interfase pulpo dentinal muestra la condensación bacteriana en la superficie de la pared dentinaria, formando una gruesa capa de biofilm en capa. Magnificaciones: (a) 46 X; (b) 600X; (c) 370X; y (d) 2350 X. (Nair, 1997)

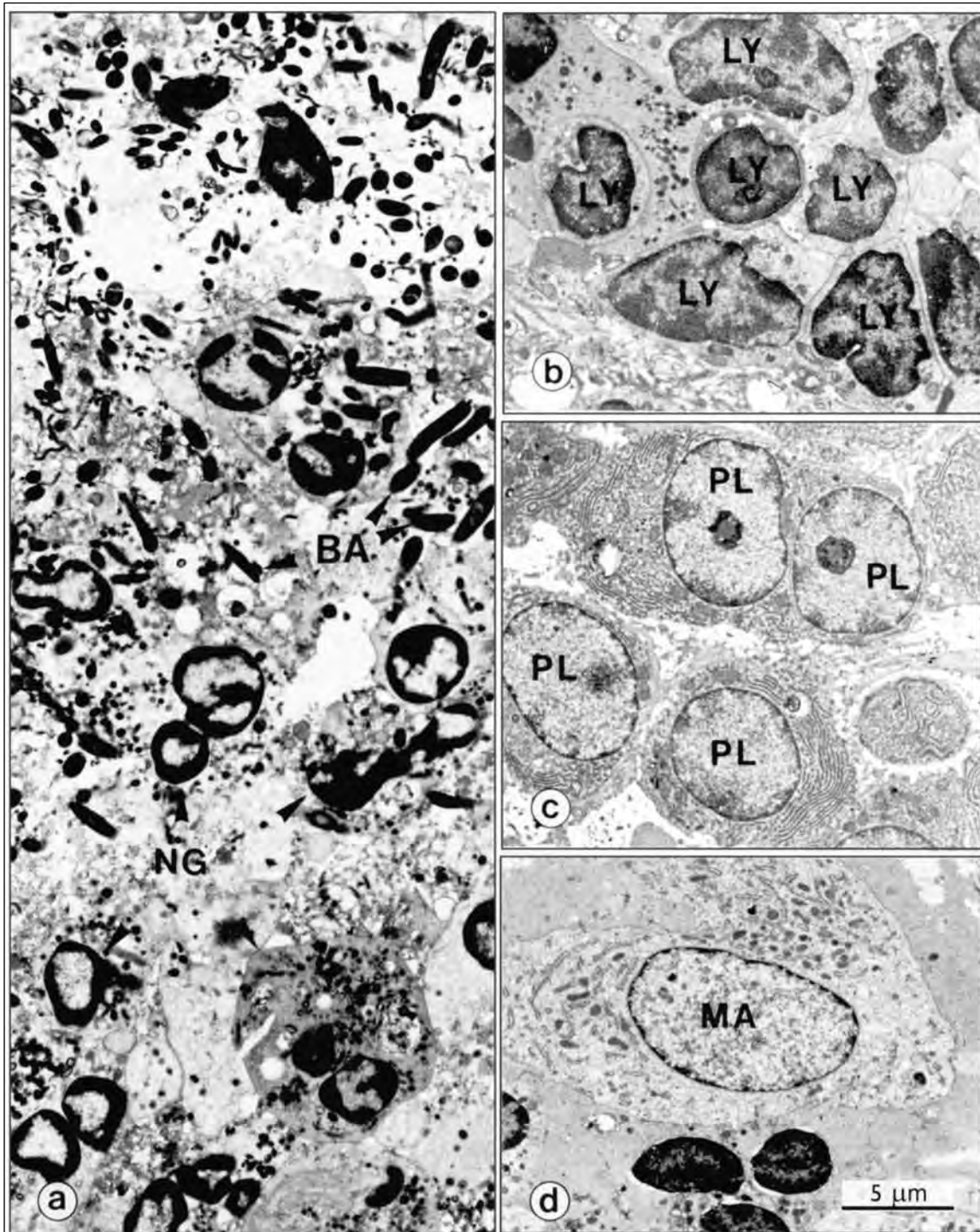


Fig. 5. Células primarias del cuerpo involucradas en la patogénesis de la periodontitis apical. Neutrófilos (NG en a) en combate con la bacteria (BA) en una periodontitis apical exacerbada. Linfocitos (LY en b) son los mayores componentes de una periodontitis apical crónica, pero sus subpoblaciones no pueden ser identificadas en una base estructural. Células plasmáticas (PL en c) forman un componente de lesiones crónicas asintomáticas. Nótese el desarrollo del retículo endoplásmico rugoso del citoplasma y la condensación localizada de heterocromatina subyacente a la membrana nuclear, la cual brinda la apariencia típica de “rueda de carro” en el microscopio de luz. Macrófagos (MA en d) son células voluminosas con una formación de U elongada en su núcleo y citoplasma con retículo endoplásmico rugoso. Magnificaciones (a, b, c, d) 3900x. NAIR 1998. (Nair, 2004)

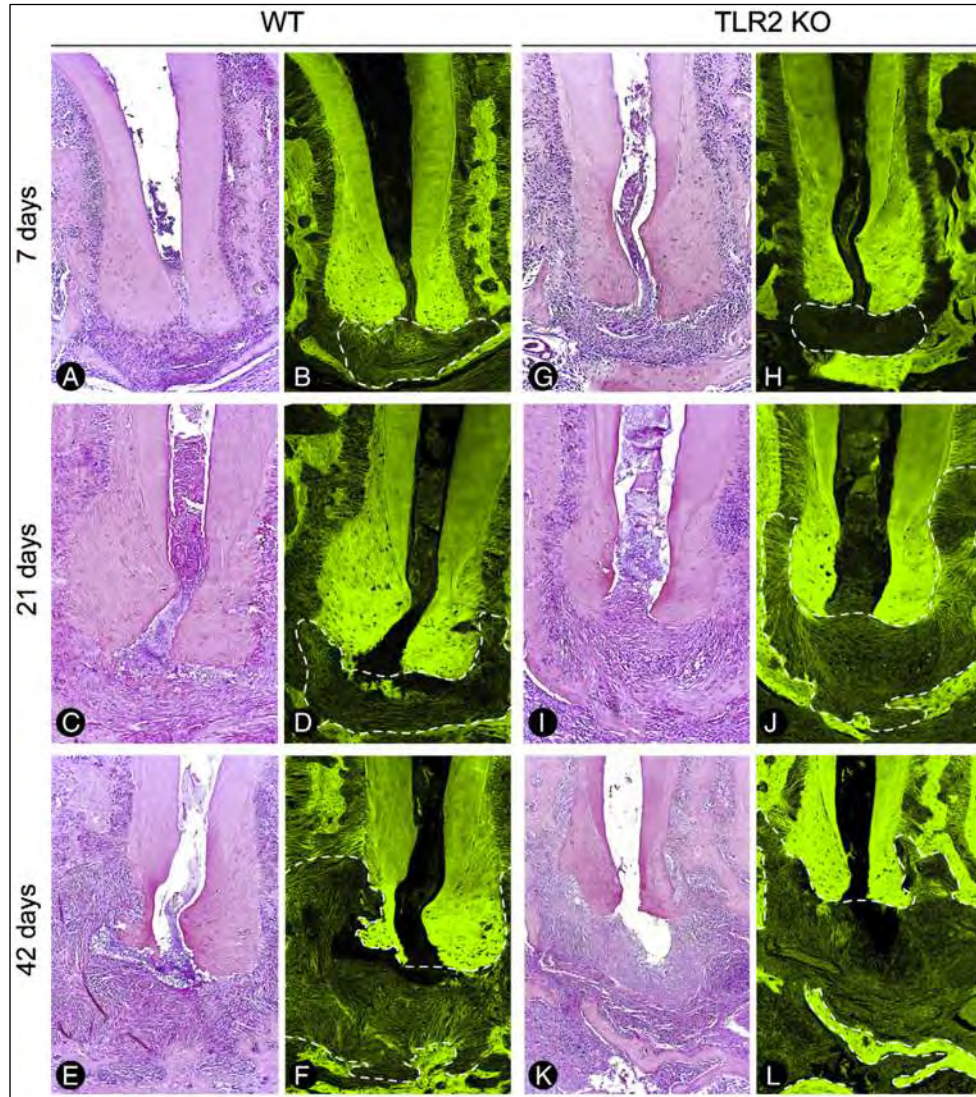


Fig. 6. Fotomicrografía de una representación de tinción HE obtenidas 7, 21 y 42 días después de la inducción experimental de lesiones periapicales con WT y TLR2 KO en animales para (A, C, E, G, I y K) la descripción de características pulpares, apicales y periapicales bajo microscopia de luz y (B, D, F, H, J y L) la determinación del tamaño de las lesiones bajo microscopía fluorescente (magnificación 10x). (Bezerra, 2012)

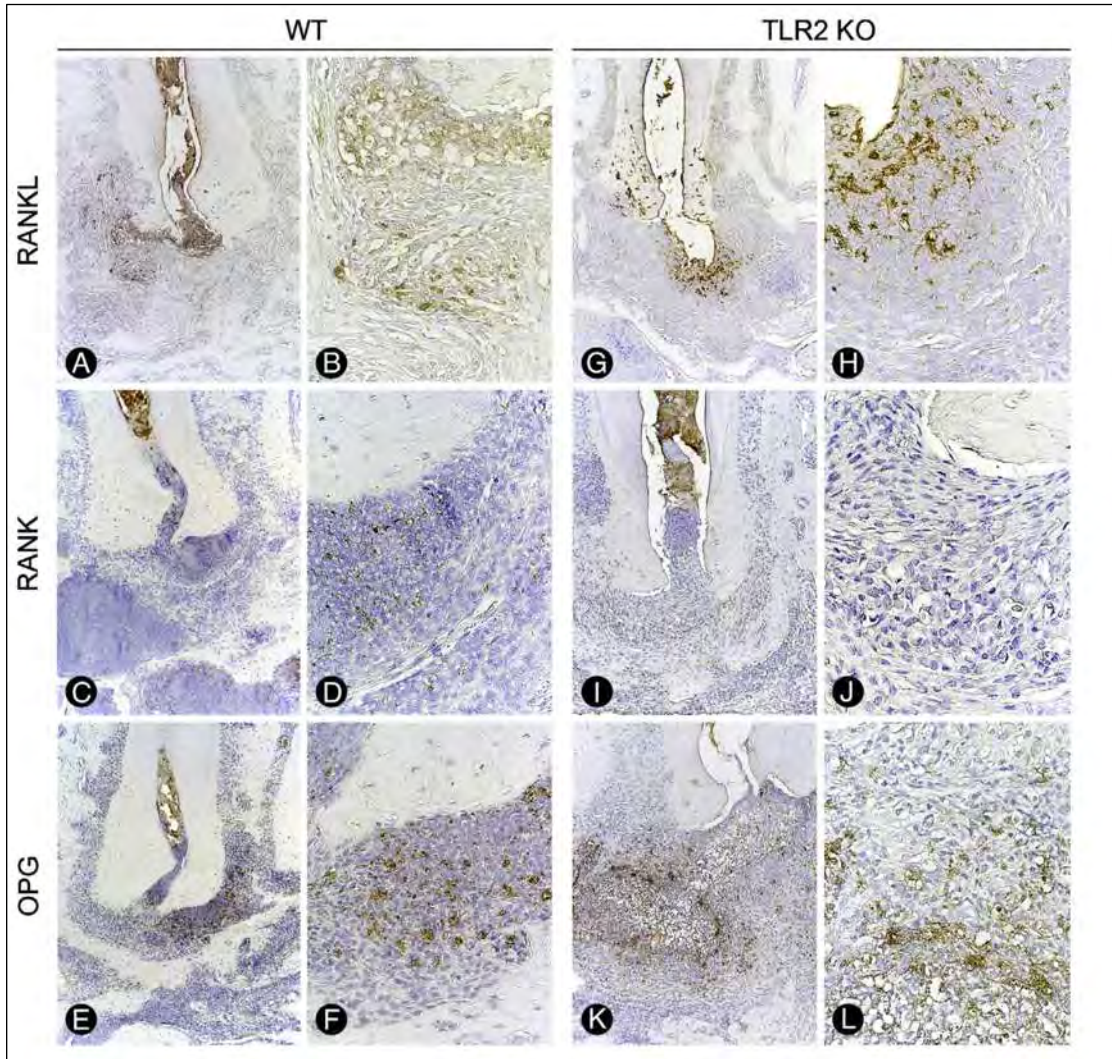


Fig.7. Fotomicrografías representativas obtenidas 7, 21 y 42 días después de la inducción experimental de lesiones periapicales (A-F) en WT y (G-L) TLR2 KO en animales con tinciones para inmunohistoquímica para la identificación de marcadores de osteoclastogénesis (RANK, RANKL y OPG) (magnificaciones 10x y 40x). (Bezerra, 2012)

MEDIADORES SOLUBLES DE LA RESPUESTA INMUNE:

CITOCINAS, QUIMIOCINAS, PROTEÍNAS DE COMPLEMENTO Y ANTICUERPOS

MOLECULAS DE ADHESIÓN

Las moléculas de adhesión son moléculas de superficie de unión involucradas en la interacción célula-célula. Su función principal es facilitar el proceso donde se requiera mayor contacto celular, e.g, dirigir la migración celular, fagocitosis y citotoxicidad celular. La señal de transducción después de la ligadura de la molécula de adhesión, lleva a la activación de la célula, alteración del receptor de expresión, producción de citocinas, quimiocinas o alguna otra molécula proinflamatoria, tales como la activación de productos de complemento y metabolitos microbianos. Algunas moléculas de adhesión son expresadas mayormente en leucocitos, otros en

células endoteliales permitiendo la interacción entre las dos. (Parkin, 2001;The Lancet, 2001)

CITOQUINAS

Las citoquinas son pequeños mensajeros moleculares secretados por una célula para alterar el comportamiento de si misma u otra célula. Las citoquinas mandan señales intercelulares específicas de receptores. Además la mayoría son solubles, otras pueden ser ligadas a membranas, haciendo su diferenciación entre citocina y receptor algo difícil. Son producidas virtualmente por todas las células y tienen una amplia variedad de funciones. El efecto biológico depende de la citoquina y la célula involucrada pero comúnmente estas moléculas afectaran la activación, división, apoptosis o movimiento celular. Actúan como mensajeros autócrinos, parácrinos o endócrinos. Las citoquinas producidas por leucocitos, las cuales tienen efecto principalmente en otras células blancas son llamadas *interleucinas*. Las citoquinas que tienen actividad quimioatrayente son llamadas *quimiocinas*. Aquellas que causan diferenciación y proliferación de las células madre son llamadas *CSF* (factor estimulador de colonias). Aquellas que interfieren con la replicación viral son llamadas *interferones*. (Parkin, 2001,The Lancet, 2001; Cleeland, 2003)

QUIMIOCINAS

Las quimiocinas son miembros muy particulares de la familia de las citoquinas que tienen un papel muy importante en la migración de leucocitos. Tienen funciones quimiotáctica substanciales, fundamentales (inducir la dirección del movimiento de la célula). Existen dos grupos principales que son CXC (quimiocinas α) y CC (quimiocinas β). Las quimiocinas son producidas por la mayoría de las células en la estimulación con citoquinas proinflamatorias o productos bacterianos y los receptores de quimiocinas son encontrados en todos los leucocitos. Los efectos de las quimiocinas son más prolongados que otros quimioatrayentes tales como la activación de productos del sistema de complemento. Las quimiocinas que provocan el reclutamiento de leucocitos se denominan inflamatorias, existen quimiocinas linfoides las cuales regulan la posición de los leucocitos en el bazo y otros tejidos linfoides. (Parkin, 2001;The Lancet, 2001)

INTERFERÓN

Los interferones son el mayor grupo de citoquinas las cuales juegan un papel importante en la inmunidad. Están divididos en dos tipos. Tipo 1- α y tipo 1- β y el tipo 2- γ o interferón inmune. Interferón- γ tiene diferentes funciones, actuando directamente en el sistema inmune para activar macrófagos y neutrófilos, estimular la función de la célula NK, y mejorar la presentación del antígeno aumentando la expresión de MHC clase II en células presentadoras de antígeno. El interferón gama es producido por células del sistema inmune y utiliza un receptor separado diferente al de los tipo I de interferones. (Parkin, 2001;The Lancet, 2001)

SISTEMA DE COMPLEMENTO

El sistema de complemento tiene varias funciones importantes en la inmunidad innata y consiste por lo menos de 20 glicoproteínas (suero) algunas son regulatorias. Estas son activadas en secuencia de cascada con etapas de amplificación. Esto significa que la activación de una sola molécula puede llevar a generar la activación de miles de moléculas. Existen 3 caminos para la activación del complemento que puede llevarse por la presencia

de sustancias extrañas, la reacción clásica antígeno-anticuerpo, la alterna por polisacáridos y por bacterias Gram-negativas. La activación del complemento se enfoca en la superficie de una célula u organismo el cual forma un área protegida donde las proteínas inhibitorias tienen un acceso limitado. Células huésped normales llevan receptores de complemento tipo 1 y deteriora el factor de aceleramiento, el cual inhibe convertasa C3 y previene el progreso de la activación del complemento. Sin embargo, los microbios necesitan estas moléculas y son susceptibles al complemento.

Además de la lisis de microorganismos, el complemento tiene otras funciones anti-infecciosas. Existe la acción opsonina del C3b, la liberación de C3a soluble y C5a, las cuales son toxinas anafilácticas e incrementan la permeabilidad vascular, permitiendo que proteínas tales como anticuerpos, penetren al tejido y la actividad quimiotáctica de C5a para inducir el infiltrado inflamatorio. El complemento también tiene un papel dentro de la respuesta inmune específica; su activación y disposición dentro del complejo inmune ayuda a elegir como blanco y unirlos al receptor del complemento, transportando células presentadoras de antígeno, tales como linfocitos B y células dendríticas foliculares. (Parkin, 2001; The Lancet, 2001)

ANTICUERPOS

Los anticuerpos son producidos por células B activadas los cuales son capaces de neutralizar las toxinas bacterianas o prevenir la adherencia bacteriana. Los anticuerpos también pueden funcionar como opsoninas para la fagocitosis de bacteria extracelular tales como aquellas encontradas en la caries. (Chin-Lo Hahn, 2007).

TOLL LIKE RECEPTOR TLR

La activación de la respuesta del huésped de procesos inflamatorios/infecciosos, tales como la periodontitis apical, es mediada por los receptores de patrones de reconocimiento, tales como nucleótidos de unión a receptores de dominio de oligomerización y receptores toll-like (TLRs), los cuales son expresados en diferentes compartimientos celulares que identifican patógenos-asociados con patrones moleculares (PAMPS). Los TLRs son receptores transmembrana tipo I los cuales son fuertemente expresados en múltiples tipos de células asociadas con infecciones de origen endodóntico, tales como neutrófilos, monocitos/macrófagos, granulocitos, fibroblastos pulpares, precursores de osteoclasto y células mesenquimales, ejerciendo un papel importante en el reconocimiento de los componentes específicos derivados de patógenos. (Hirao, 2009; Hayashi F 2003; Bar-Shavit, 2008; Farges, 2011; Bezerra, 2012)

Uno de los mecanismos por los cuales los sentidos innatos del sistema inmune a la invasión de microorganismos patógenos es a través de los receptores de tipo Toll (TLR), que reconocen patrones moleculares específicos que están presentes en los componentes microbianos. La estimulación de diferentes TLRs induce distintos patrones de expresión de genes, que no sólo conduce a la activación de la inmunidad innata, sino también instruye al desarrollo de antígenos específicos de la inmunidad adquirida. (Kumar, 2009)

El reconocimiento de microorganismos, sus componentes y bio productos mediante TLRs estimula la producción de citoquinas inflamatorias y moléculas coestimuladoras, las cuales son responsables por las

diferentes respuestas obtenidas por la identificación de patógenos asociados a patrones moleculares (PAMPS). Citoquinas proinflamatorias tales como IL-1, TNF α , IL-6, están asociadas con el aumento de la producción del receptor activador del factor nuclear kappa-B ligando (RANKL), una proteína que regula la formación de osteoclastos, osteoclastogénesis, y resorción ósea.

(Hirao K., 2009; Bar-Shavit Z. 2008; Bezerra, 2012)

Los receptores TLR2 reconocen una gran variedad de componentes microbianos, llamados lipoproteínas/lipopéptidos de diferentes patógenos, peptidoglicanos y ácido lipoteicoico de bacterias Gram-positivas e interactúa con TLR1 y TLR6, los cuales están involucrados en la discriminación de una delicada diferencia entre lipopéptidos triacil y diacil respectivamente. TLR2 también participa en las señales de transducción activada por LPS bacterianos de algunos patógenos tales como *Porphyromonas gingivalis* y *Porphyromonas endodontalis*. (Yamagishi, 2011; Tang, 2011; Bezerra, 2012)

Chokechanachaisakul et al. encontró TLR2 regulado y mensajeros TLR4 de expresión de RNA, sugiriendo la participación del mecanismo de inmunidad innata en la patogénesis temprana del proceso inflamatorio en lesiones experimentales de furca de origen endodóntico en molares de ratones. Desai et al. reportaron expresión de TLR2 en diferentes células inflamatorias de quistes y granulomas. (Bezerra, 2012)

Tabla 4. Descripción de TLR. (Kumar, 2009)

TLR	Location of TLR	PAMPs recognized by TLR	Co-receptor (s)	Signaling adaptor	Transcription factor(s)	Effector cytokines induced
TLR1/2	Plasma membrane (cell surface)	Triacyl lipopeptides (Bacteria and Mycobacteria)	Heterodimer of TLR1/2 forms a functional receptor	TIRAP, MyD88	NF κ B	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.)
TLR2	Plasma membrane (cell surface)	Peptidoglycan (Gram-positive bacteria), LAM (Mycobacteria), Hemagglutinin (Measles virus), phospholipomannan (<i>Candida</i>), Glycosylphosphatidylinositol mucin (<i>Trypanosoma</i>)	CD36, RP105	TIRAP, MyD88	NF κ B	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.)
TLR3	Endosome	ssRNA virus (WNV), dsRNA virus (Reovirus), RSV, MCMV		TRIF	NF κ B, IRF3,7	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.), type I IFNs
TLR4	Plasma membrane (cell surface)	LPS (Gram-negative bacteria), Mannan (<i>Candida</i>), Glycoinositolphospholipids (<i>Trypanosoma</i>), Envelope proteins (RSV and MMTV)	MD2, CD14, LBP, RP105	TIRAP, MyD88, TRAM and TRIF	NF κ B, IRF3,7	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.), type I IFNs
TLR5	Plasma membrane (cell surface)	Flagellin (Flagellated bacteria)		MyD88	NF κ B	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.)
TLR6/2	Plasma membrane (cell surface)	Diacyl lipopeptides (Mycoplasma), LTA (Streptococcus), Zymosan (<i>Saccharomyces</i>)	Heterodimer of TLR6/2 or dectin-1 forms a functional receptor	TIRAP, MyD88	NF κ B	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.)
TLR7	Endosome	ssRNA viruses (VSV, Influenza virus)		MyD88	NF κ B, IRF7	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.), type I IFNs
TLR8 [#]	Endosome	ssRNA from RNA virus		MyD88	NF κ B, IRF7	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.), type I IFNs
TLR9	Endosome	dsDNA viruses (HSV, MCMV), CpG motifs from bacteria and viruses, Hemozoin (<i>Plasmodium</i>)		MyD88	NF κ B, IRF7	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.), type I IFNs
TLR11 [*]	Plasma membrane (cell surface)	Uropathogenic bacteria, profilin-like molecule (<i>Toxoplasma gondii</i>)		MyD88	NF κ B	Inflammatory cytokines (TNF- α , IL-6 etc.)

LAM, Lipoarabinomannan; WNV, West Nile virus; RSV, Respiratory syncytial virus; MCMV, Murine cytomegalovirus; MMTV, Mouse mammary tumor virus; LTA, Lipoteichoic acid; VSV, Vesicular stomatitis virus; HSV, Herpes simplex virus and CpG, Cytidine-phosphate-guanosine.

[#] Human TLR8.

^{*} Expressed in mouse.

Los monocitos son potentemente activados para producir citoquinas a través del sistema inmune innato, utilizando receptores de patrones de reconocimiento que reconocen componentes estereotipados de patógenos que no ocurren en las células de mamíferos. Estos receptores, tales como los receptores de lipopolisacáridos (LPS), contribuyen para la habilidad del sistema inmune para distinguir entre patógenos y proteínas no patogénicas a las cuales el sistema inmune pueda quedar expuesto. Las citoquinas predominantes producidas por monocitos incluyen el factor de necrosis tumoral (TNF), varias interleucinas (IL) moléculas conocidas como IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18 y IL-23. IL-8 también clasificada como una quimiocina conocida como CXCL8; esta y otras quimiocinas son secretadas por APCs. (Borish, 2003)

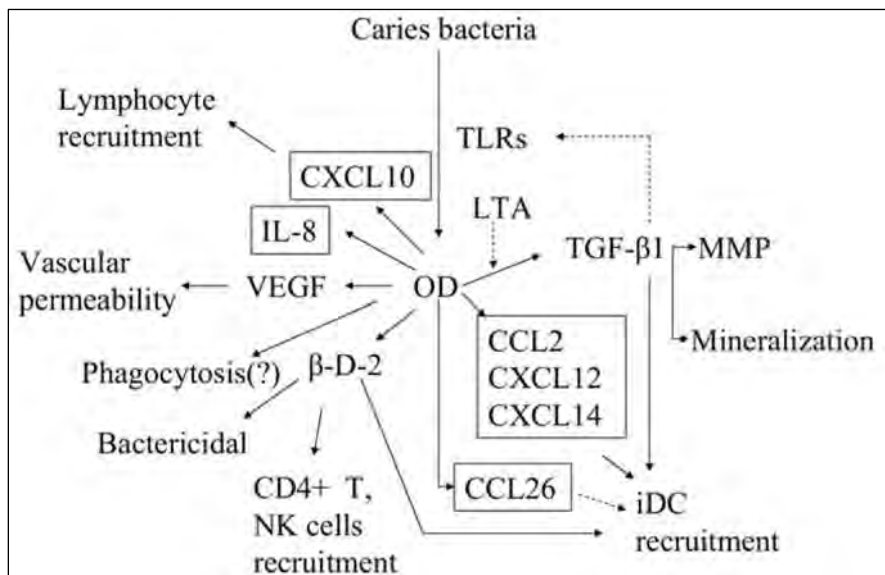


Fig. 8. La defensa inmune innata de los odontoblastos está respondiendo a la invasión de caries. Las quimiocinas secretadas por odontoblastos están representadas en cuadros de texto. Las líneas punteadas representan la regulación negativa. TGF-β suprime el proceso del antígeno TLR, y LTA inhibe la inducción de TGF por odontoblastos. Una función fagocítica de odontoblastos ha sido sugerida pero no confirmada. Abreviaciones: β-D-2, β-defensina-2; iDC células dendríticas inmaduras; LTA ácido lipoteicoico; OD, odontoblastos; MMP, matriz de metaloproteinasas; TGF-β, factor transformador de crecimiento-β; TLR, receptores toll like; VEGF, factor de crecimiento vascular endotelial. (Chi-Lo Hahn, 2007)

Tabla 5. Papel que desempeñan las citoquinas en la patogénesis de las lesiones periapicales. (Garlet)

Cytokine / Chemokine	Cellular Source	Receptor	Function	Levels in		Reference
				Homeostasis	Inflammation	
IL-1 β	Phagocytes (Neutrophils, Macrophages) Epithelial cells Fibroblasts	IL-1R1	Induces inflammatory cell migration	Absent or low	Increased in chronic inflammation	Bloemen et al., 2010
		IL-1R2	Induces bone resorption			
IL-4	Th2 cells	IL-4R	Prototypical Th2 cytokine Anti-inflammatory properties Induces IL-10 production B cell stimulatory factor Humoral immune response Suppressing the polarization of Th1 cells	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Cronstein, 2007 Kawashima et al., 1999 Fukada et al., 2009 Ihn et al., 2002
			Inhibit the transcription of pro-inflammatory cytokines Inhibits production of MMPs and RANKL Induces the upregulation of its respective inhibitors TIMPs and OPG			
IL-6	Phagocytes (Neutrophils, Macrophages) T and B cells Epithelial cells	IL-6R	Osteoclastogenesis processes Promotes bone resorption Pro-inflammatory properties	Absent or low	Increased in chronic inflammation	Pestka et al., 2004 Cronstein, 2007

Cytokine / Chemokine	Cellular Source	Receptor	Function	Levels in		Reference
				Homeostasis	Inflammation	
IL-9	Fibroblasts Osteoblasts	IL-9R	Inflammatory cell migration Humoral immune response Promotes allergic inflammation associated with various Th2 responses Promotes Th17 cells development Increasing the activity of Treg cells	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Hauber et al., 2009 Elyaman et al., 2009, Novak et al., 2009
	Th2 cells		Anti-inflammatory properties			
IL-10	Th2 cells Treg cells	IL-10R1 IL-10R2	Protective role in tissue destruction Stimulates OPG production	Absent or low	Increased	Pestka et al., 2004 Chou et al., 2006 Zhang & Teng, 2006
IL-12	Monocytes/ Macrophages Dendritic cells	IL-12Rβ1 IL-12Rβ2	Mediates alveolar bone resorption via IFN-γ Inhibits osteoclast activation <i>in vitro</i>	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Sasaki et al., 2008 Queiroz-Junior et al., 2010
IL-17	T cells Th17 cells Mast cells	IL-17RA/ IL-17R IL-17RB/ IL-15R IL-17RC IL-17RD/ SEF IL-17RE	Osteoclastogenic properties Upregulates IL-1β and TNF-α Inducer of RANKL production Neutrophil mobilization	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Yago et al., 2009 Kotake et al., 1999 Sato et al., 2006 Yu et al., 2007
IL-22	T cells Dendritic cells	IL-22Ra1	Anti-inflammatory properties Positively correlated to OPG, IL-10 and TGF-β Participates in adaptive response	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Brand et al., 2006 Valencial et al., 2006
TNF-α	Phagocytes (Neutrophils, Macrophages) Epithelial cells Fibroblasts	TNFR1 TNFR2	Upregulates adhesion molecules Upregulates chemokine production Regulates production of IL-1β and IL-6 Induces cell migration Increases of MMPs and RANKL expression	Absent or low	Increased in chronic inflammation	Dinarello, 2000 Kindle et al., 2006 Garlet et al., 2007a Wajant et al., 2003 Graves, 2008 Peschon et al., 1998
TGF-β	Treg cells Monocytes/ Macrophages	TGF-βRI TGF-βRII	Pleiotropic cytokine Regulates cell growth Regulates differentiation and matrix production Potent immunosuppressive factor Downregulates IL-1β, TNF-α, MMPs production	Increased	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	Cardoso et al., 2008 Okada & Murakami, 1998 Steinsvoll et al., 1999 Dutzan,

Cytokine / Chemokine	Cellular Source	Receptor	Function	Levels in		Reference
				Homeostasis	Inflammation	
IFN- γ	Th1 cells NK cells		Protective role against tissue destruction	Absent or low	Low to high, depending on the nature of inflammatory immune response	2009a, Dutzan, 2009b Appay et al., 2008 Murphy & Reiner, 2002 Garlet et al., 2008 Sallusto and Lanzavecchia, 2011, Schroder et al., 2004 Repeke et al., 2010 Ji et al., 2009, Takayanagi et al., 2005
			Induces inflammatory cytokines Induces chemokines Stimulates osteoclast formation Main phagocyte-activating cytokine bone loss described by in vivo inhibit osteoclastogenesis in vitro			
CXCL8 (IL-8)	Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes Monocytes/ Macrophages) Lymphocytes, Mast cells Epithelial cells Fibroblasts Endothelial cells, Osteoclasts. Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes Monocytes/ Macrophages)	CXCR1	Inflammatory chemokine Neutrophil chemotaxis activating factor (Enhances production of Leucotrien B4) Induces osteoclast differentiation and activity	Absent or low	Increased	Yoshimura et al., 1987 Tonetti et al., 1998 Darveau, 2010 Rossi, 2003 Traves & Donnelly, 2005 Bendre et al., 2003
CCL2 (MCP-1)	Lymphocytes, Mast cells Epithelial cells Fibroblasts Endothelial cells, Osteoblasts Osteoclasts. Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes Monocytes/ Macrophages)	CCR2 CCR11	Chemoattracts monocytes Inflammatory bone remodeling Limits infiltration of PMNs Chemoattracts for osteoclast precursors	Absent or low	Increased	Koch et al., 1992 Bonocchi et al., 2009 Garlet et al., 2010
CCL3 (MIP-1 α)	Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes Monocytes/	CCR1 CCR5	Chemotatic for lymphocytes, monocytes / macrophages, basophils, eosinophils, dendritic cells. Stimulates bone resorption Homologus chemokines	Absent or low	Increased	Koch et al., 2005 Gemmel et al., 2001 Alnaeeli et al., 2007

Cytokine / Chemokine	Cellular Source	Receptor	Function	Levels in		Reference
				Homeostasis	Inflammation	
CCL5 (RANTES)	Macrophages)	CCR1 CCR5	CCL4 and CCL5 Chemoattracts for lymphocytes, monocytes Induces CXCL8 and IL-6 production	Absent or low	Increased	Taub, 1996
	Lymphocytes, Mast cells Epithelial cells Fibroblasts Endothelial cells, Osteoclasts. Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes					Repeke et al., 2010 Graves et al., 2011
	Monocytes/ Macrophages) Lymphocytes, Mast cells Epithelial cells Fibroblasts Endothelial cells, Osteoclasts. Phagocytes (Neutrophils/ Polymorphonuclear leukocytes					Koch et al., 2005 Yu et al., 2004 Garlet et al., 2003 Gemmel et al., 2001 Gamonal et al., 2001 Nanki et al., 2001
MMPs	Monocytes/ Macrophages) Lymphocytes Epithelial cells Fibroblasts Endothelial cells	TIMPs ¹	Remodeling of extracelulear matrix	Absent or low	Increased	Garlet, 2010 Garlet et al., 2006 Hannas et al., 2007 Verstappen and Von, 2006 Birkedal-Hansen, 1993
TIMPs		MMPs ¹	Regulates matrix remodeling	Low	Decreased or Increased	Garlet, 2010 Garlet et al., 2006 Hannas et al., 2007 Teitelbaum, 2000
RANKL	Osteoblasts ² Osteocytes ² Leukocytes ³	RANK	Differentiation and activation of osteoclasts	Low	Increased	Katagiri and Takahashi, 2002 Teitelbaum, 2000
OPG	T cells Osteoblasts	RANKL ¹	Inhibits bone resorption by preventing RANK-RANKL engagement	Low	Decreased or Increased	Katagiri and Takahashi, 2002

Notes:
 1 - in the absence of a "receptor", the coupling molecules were listed
 2 - under homeostatic conditions
 3 - under inflammatory conditions

Table 1. Cytokines and chemokines involved in the pathophysiology of periodontal and periapical diseases

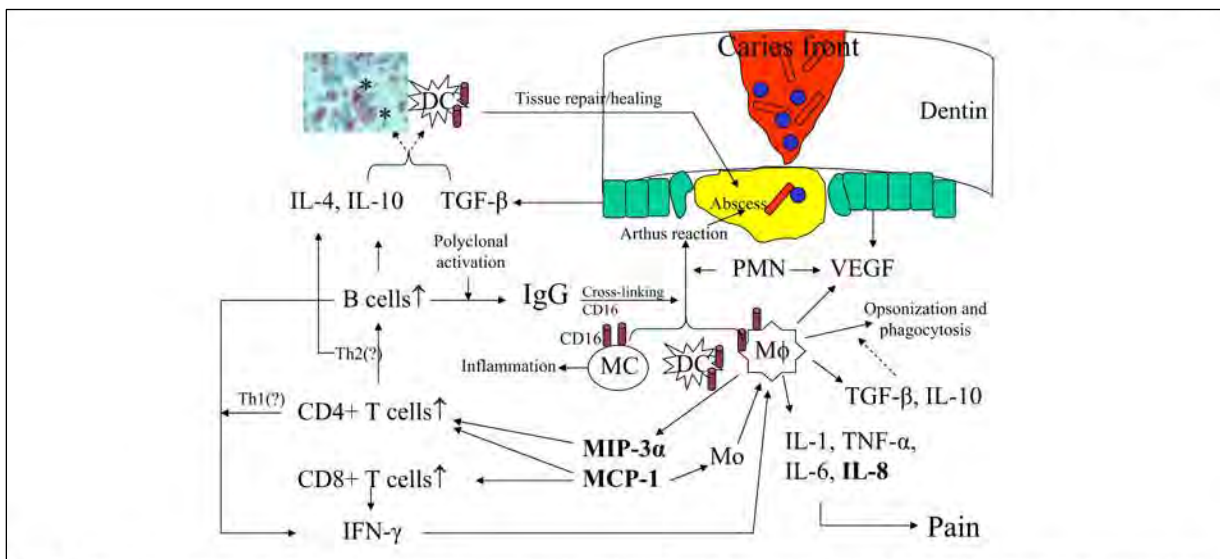


Fig. 9. Citoquinas, células inmunes y mastocitos en la patogénesis de un absceso local debajo de una caries profunda. Retroalimentación negativa de TGF-β e IL-10 es a pesar de una línea discontinua. Las quimiocinas secretadas por macrófagos están indicadas en negrita. La presencia de células Th1 y Th2 en la pulpa inflamada no ha sido determinada y esta indicada con un signo de interrogación (?). Inserción de foto: Macrófagos (asteriscos) en una sección congelada de una muestra de pulpitis irreversible. Células positivas fueron teñidas con un anticuerpo de macrófago anti-humano (DakoCytomation, Carpinteria, CA) seguido de una tinción indirecta de proceso de inmunoperoxidasa (no publicado previamente). Abreviaciones: DC, células dendríticas; Mo, monocito; Mφ, macrófago; PMN, neutrófilos. (Chin-Lo Hahn, 2007)

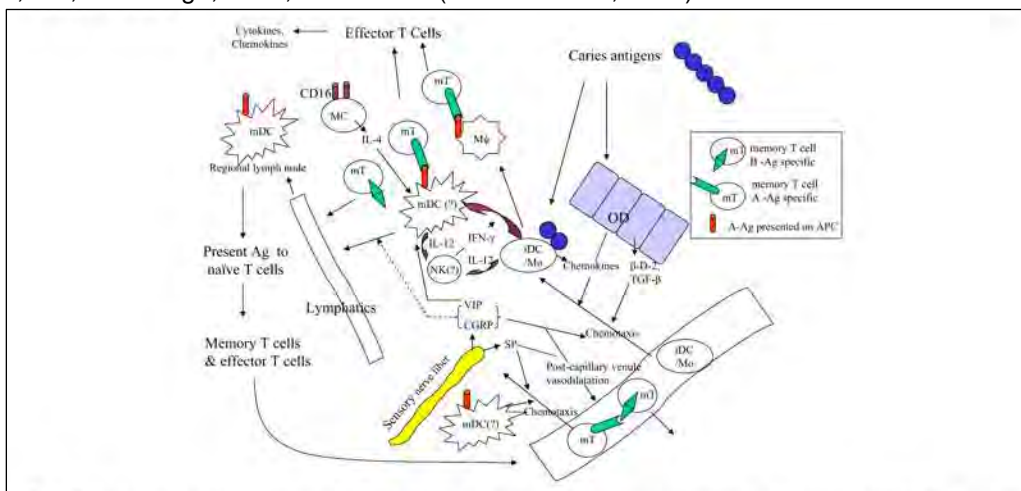


Fig. 10. Mecanismo celular y molecular en tránsito de células T y células dendríticas/monocito. Antígenos de caries pueden estimular directamente odontoblastos y células dendríticas inmaduras para secretar agentes quimiotácticos para atraer DC inmaduras o monocitos. Un antígeno A procesado por DC o macrófagos puede presentarse a las células T de memoria con un receptor antígeno A y así las células T se convierten en células efectoras. La células T con receptor antígeno B van de regreso hacia las venas linfáticas hacia la circulación. Los factores que pueden contribuir a la maduración local de células DC está ilustrado. La presencia de células DC maduras (mDC) y células NK no ha sido confirmado y esta indicado con signo de interrogación (?). Células dendríticas maduras (mDC) también migran a través de los linfáticos para presentar antígenos a células T en nódulos linfáticos locales. La inhibición de migración de CD maduras por VIP y CGRP es a pesar con una línea de trazos. La quimiotaxis de leucocitos es promovida por neuropéptidos (tales como VIP y CGRP), TGF-β y odontoblastos β-D-2, quimiocinas de células DC maduras así como también de odontoblastos. Abreviaciones: CGRP, péptido relacionado con gen de la calcitonina; iDC, DC inmaduras; MC, mastocitos; mDC, DC maduras; Mo monocito; Mφ, macrófago; mT, célula T de memoria; NK, célula NK; VIP, polipéptido vasoactivo intestinal. (Chin-Lo Hahn, 2007)

INMUNORREGULACIÓN PERIAPICAL Y APICAL ANTE FACTORES DE VIRULENCIA PROVENIENTES DE BACTERIA DE CONDUCTOS RADICULARES.

INMUNIDAD INNATA

La respuesta del tejido en una periodontitis apical es generalmente limitada al área apical del ligamento periodontal y el área esponjosa principalmente. Es iniciada por una respuesta de inflamación neurovascular típica, resultando una hiperemia, congestión vascular y edema del ligamento periodontal con una extravasación de neutrófilos. (Graunaite, 2011)

La iniciación de una cascada inflamatoria en lesiones de origen endodóntico, incluyen la interacción de múltiples tipos de células incluyendo la activación de células endoteliales, PMNs, macrófagos, linfocitos y osteoclastos llevando a una destrucción ósea. El complejo de la respuesta del huésped involucra células de ambas respuestas, adaptativa e innata. La destrucción rápida del hueso encontrada en estas lesiones endodónticas es iniciado por múltiples bacterias y sus productos incluyendo lipopolisacáridos (LPSs). Se ha considerado a las bacterias estimuladoras de la resorción a través de la inducción de citoquinas inflamatorias tales como IL-1 β , IL-1 α , receptor activador del factor nuclear Kappa-B ligando (RANKL), o TNF- α . La activación inicial de la respuesta del huésped ocurre a través de la estimulación de los receptores TLRs (receptores toll like) y receptores NOD (dominio de oligomerización de nucleótidos vinculantes). Ambos TLR y NODs son altamente expresados en múltiples tipos de células asociadas con las lesiones endodónticas incluyendo monocitos/macrófagos, granulocitos, fibroblastos pulpaes, precursores de osteoclastos y células mesenquimales. (Graves, 2011)

Microorganismos de los conductos radiculares infectados, predominantemente *anaerobios Gram negativos*, producen una cantidad suficiente de *lipopolisacáridos (LPS)*, también conocidos como endotoxinas, los cuales egresan en altas concentraciones hacia los tejidos del área periapical. Los lipopolisacáridos activan el sistema de complemento a través de la vía alterna que conduce a la generación de péptidos quimiotácticos. Una vez que el factor patogénico invade el área periapical, dos líneas de células de defensa fagocítica son formadas: un área interna cercana al ápice, en donde predominan los Polimorfonucleares PMNs; y alrededor del área en donde macrófagos fagocíticos son observados. (Graunaite, 2011)

Los polimorfonucleares llegan al sitio de infección por medio de la quimiotaxis, inducida principalmente por lipopolisacáridos (LPS), factor de complemento C5a. Mucho tiempo se pensó que los neutrófilos expresaban únicamente receptores quimiotácticos CXCR1 Y CXCR2, los cuales enlazan IL-8 (IL-8)/CXCL8 y (GCP-2)/CXCL6, pero se demostró por Menzies-Gow et. al que este tipo de células también exhibe receptores CC. Las citocinas conocidas por causar la quimiotaxis de los neutrófilos, contribuyen a la migración de PMN y que activan funcionalmente a los leucocitos neutrófilos son: IL-8/CXCL8, IL-1, IL-6, IL-17, G-CSF, M-CSF. (Graunaite, 2011)

Los polimorfonucleares producen una amplia gama de citoquinas: IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8, proteínas inflamatorias de macrófagos MIP-1 α y MIP-1 β , los cuales actúan como quimioatrayentes para otras células inflamatorias o para otros PMNs y contribuir a la resorción ósea. Estas células son consideradas también como fuente de SP. La sustancia P se ha ubicado dentro de los nervios del sistema nervioso periférico y central. Es abundante en las neuronas aferentes sensitivas primarias no mielinizadas y se asocia con la transmisión del dolor. Es considerado un neurotransmisor que se libera por los axones de las neuronas sensitivas a nivel medular (neuronas pseudomonopolares que ocupan los ganglios espinales). Sus axones se bifurcan hacia el hasta posterior de la médula y hacia la periferia. Se liberará esta sustancia P en la piel, pulpa dentaria y en el ojo. (Romera 2000). Fuertes agentes microtácticos de neutrófilos son los neuropéptidos: neuropéptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sustancia P (SP) y leucotrienos LTB₄. (Graunaite 2011). Estos son productores del dolor, son mediadores comunes en la inflamación (presente en la mayoría de los procesos dolorosos). Son potenciadoras del dolor secundario. Sensibilizan los receptores y desarrollan hiperalgesia. (Romera, 2000)

Cuando los macrófagos están presentes en el sitio de la inflamación, tienen funciones centrales en la regulación de la destrucción y reparación del tejido conectivo; inmunidad innata no específica y la aparición, regulación y resultado del antígeno específico, consigue, inmunidad. En respuesta al encuentro de bacterias o a la señal de activación de otra naturaleza producen una variedad de moléculas biológicamente activas las cuales son IL-1, TNF- α , IL-8, IL-6, GM-CSF, IL-12, IL-10, factores de crecimiento, INF- α , INF- β , metabolitos de ácido araquidónico, radicales libres, enzimas de metaloproteinasa, endorfina beta y met-enk (met-encefalina). Los macrófagos pueden también servir como células presentadoras de antígenos (APCs) en los pasos esenciales iniciales de la inducción de inmunidad adquirida. Estos procesan y presentan al antígeno a los clones antígeno-específicos de linfocitos Th por un proceso que involucra el reconocimiento por los linfocitos de MHC II molécula de los macrófagos. La frecuencia de macrófagos dentro del infiltrado celular inflamatorio ha sido reportado entre los rangos del 4% a más del 50%. Esta diferencia ha sido considerada como resultado del uso de diferentes metodologías (métodos inmunohistológicos).

La infiltración de macrófagos a los sitios de inflamación es relativamente lenta comparada con los neutrófilos, pero son capaces de tragarse casi cualquier agente extraño y su infiltración dura un tiempo mayor. Estos muestran expresar receptores de quimiocinas CC: CCR1, CCR2 y CCR5.

Algunos quimioatrayentes y activadores de los macrófagos son:

MCP-3 (Proteína-3 quimioatrayente de monocito)

GM-CSF (Factor estimulador de colonias de granulocitos macrófagos)

MIP-1 α /CCL3 (Proteína inflamatoria de macrófagos)

MIP-1 β /CCL4 (Proteína inflamatoria de macrófagos)

TGF - β (Factor transformador de crecimiento beta)

GPCR (Receptores acoplados a proteínas G)

SP (Sustancia P)

LTB4 (Leucotrieno)

LPS (Lipopolisacáridos)

IFN- γ (Interferón gamma)

TFN α (Factor de Necrosis Tumoral alfa)

La **SP** estimula la liberación de histamina de los mastocitos, lo cual a su vez resulta en un aumento de la producción de bradiquinina, mientras que la bradiquinina, histamina y prostaglandina E2 (PGE2) todas estimulan el aumento de la permeabilidad vascular de la pulpa. La SP además incrementa la fagocitosis y el metabolismo oxidativo.

La producción local de IL-1 eleva la expresión de la molécula de adhesión celular (CAM-1) por células endoteliales en los capilares, esto mejora la conexión local de los PMNs y los monocitos mejorando su migración hacia el área. La IL-1 ha sido identificada como un mediador central de la inflamación pulpar y periapical. Es esta producida por macrófagos, PMNs, osteoclastos, células epiteliales quísticas y su producción y acción es regulada por muchas otras citocinas:

interleucina-12 (IL-12), interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral alfa (TFN- α) e IL-1 por sí mismo como inductores; interleucina-4 (IL-4), IL-6 interleucina-10 (IL-10) e interleucina-13 (IL-13) como supresores. (Graunaite, 2011)

Existen dos tipos diferentes de IL-1: interleucina-1 alfa (IL-1 α) e interleucina-1 beta (IL-1 β). IL-1 β es la forma predominante encontrada en lesiones periapicales humanas. La IL-1 junto con IL-6 y TFN han sido encontradas para la inducción de la fiebre como respuesta en fases agudas. Los efectos locales de IL-1 son la mejora de la adhesión de leucocitos en las paredes endoteliales, estimulación de linfocitos, potencialización de neutrófilos, activación de la producción de prostaglandinas y enzimas proteolíticas, mejora de la resorción ósea y la inhibición de la formación de hueso.

La IL-6 es un mediador integral para la respuesta de fase aguda en la lesión e infección. La mayor fuente de producción de IL-6 son los monocitos y los macrófagos y los linfocitos tipo 2 cooperadores (Th2), células B activadas y células PMNs. Células epiteliales, células del endotelio vascular y fibroblastos también liberan IL-6. Los efectos locales de IL-6 son: estimulación para la diferenciación de linfocitos B maduros a anticuerpos produciendo células plasmáticas, activa las células T, aumenta la actividad citotóxica de los neutrófilos, induce resorción ósea por sí solo o también junto con IL-1 y lipopolisacáridos, regula la producción y contrarresta algunos efectos de la IL-1. Experimentos sobre la deficiencia de IL-6 revelan que posee propiedades proinflamatorias y antiinflamatorias y su efecto final depende de las células diana y la interacción con otras citoquinas.

El GSP-2 (CXCL-6) es una citocina CXC. Similar a la IL-8, posee un potente quimiotáctico y propiedades proangiogénicas. Keschull et al. sugirieron que la expresión de GSP-2 se origina de la microvasculatura del endotelio del tejido gingival inflamado en lesiones periodontales.

Niveles detectables de IL-8/CXCL8 fueron encontrados en aproximadamente el 95% de los exudados periapicales recolectados de conductos radiculares durante la rutina de tratamiento endodóntico de lesiones periapicales de humanos, sugiriendo un papel esencial de IL-8 en la migración de neutrófilos en las fases agudas de enfermedades periapicales. Tinción inmunohistoquímica positiva para IL-8 en la progenie de los restos epiteliales de Malassez se demostró y exhibió un patrón de unión característica a la matriz extracelular de la lesión. Una fuente importante de IL-8 son las células mononucleares de lesiones periapicales que son CD4 + (Th1) y CD11+ (células de monocitos, macrófagos y células dendríticas). (Graunaite, Lodiene, 2011)

Microorganismos endodónticos patogénicos *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* son capaces de inducir la producción de IL-8 por fibroblastos de la pulpa y osteoblastos. Esta producción por células pulpares es regulada por neuropéptidos, tales como sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). (Graunaite, Lodiene, 2011)

La IL-8 quimiotácticamente atrae y activa PMNs, haciéndolos más disponibles y más competentes para atraer y matar a la bacteria, estimular la actividad y reclutamiento de osteoclastos. Además, la correlación positiva entre los niveles de IL-8 y síntomas de dolor fue encontrado en lesiones periodontales. (Graunaite, Lodiene, 2011)

La Interleucina IL-12 es una citoquina reguladora importante que tiene una función esencial en la iniciación y regulación de las respuestas celulares inmunes. Puede regular la diferenciación de células T naives, las cuales son cruciales en la determinación de resistencia y el tipo de respuesta que será obtenida en contra un patógeno particular. IL-12 es principalmente producida por macrófagos, monocitos, células dendríticas y células B en respuesta a los productos bacterianos y parásitos intracelulares. Es también responsable de la producción subsecuente de interferón gamma (INF- γ) y de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) de las células NK y células T cooperadoras. Las secreciones de IL-12 e IFN- γ aumenta la fagocitosis, la producción de óxido nítrico (NO), y una explosión oxidativa, resultando en un aumento de destrucción del patógeno. IL-12 ha sido también bien caracterizada como supresor de citoquinas Th2, tales como IL-4 e IL-10.

La IL-17 es secretada por linfocitos T cooperadores (Th17). Y es capaz de reactivar el proceso inflamatorio incluyendo la inducción de la inflamación caracterizada por la presencia de neutrófilos. Existe además una gran evidencia de que IL-17 puede inducir la producción de el receptor activador del factor nuclear kappa B ligando (RANKL), la activación de osteoclastos con la consiguiente resorción de hueso. (Queiroz, 2010)

El interferón gamma INF- γ es una citoquina, producida por células Th1. La secreción de INF- γ es desencadenado principalmente por IL-12 y regulada por IL-10. Ambas IL-10 e IL-12 son producidas por células dendríticas y activadas por macrófagos. IFN- γ activa los macrófagos, reduce la actividad macrófago-supresiva, e induce IL-1, induce la síntesis de NO (óxido nítrico) y la producción de O₂. Texeira-Salum et al. reportaron una posible asociación entre IFN- γ con síntomas clínicos. Lesiones que presentaron altos niveles de reactividad a IFN- γ e interleucina IL-4 fueron asociadas con dolor a la percusión y a la palpación. Hinchazón fue

asociada con altos niveles de IL-4, TNF-a e INF- γ . Por otro lado, Ataoglu et al. fallaron en mostrar la correlación entre los niveles de TNF-a y los síntomas clínicos.

El TNF-a producida por ambos macrófagos y linfocitos Th1. LPS, liberados de los conductos radiculares infectados, estimulan macrófagos para secretar citoquinas pro inflamatorias, tales como IL-1 y TNF- α . Los efectos biológicos del TNF- α incluyen la activación de los leucocitos tales como los linfocitos (células B y T), macrófagos y células NK; inducción de fiebre; liberación en la fase aguda de proteína; expresión de citoquinas, quimiocinas y la activación de células endoteliales. Esta citoquina es reportada por estimular la resorción ósea. Sin embargo, IL-1 ha sido encontrada por ser 500 veces mas potente que el TNF- α en la mediación de la resorción ósea.

La proteína inflamatoria de macrófagos MIP-1 α /CCL3 y MIP-1 β /CCL4 pertenecen a la familia de quimiocinas CC. El tipo de linfocitos T cooperadores (Th1) puede atraer y activar macrófagos por la producción de citoquinas MIP-1 α y MIP- β .

Los miembros del factor transformador de crecimiento TGF- β son reguladores críticos de la célula de crecimiento, diferenciación y reparación de la inflamación. El TGF- β es una de las citoquinas involucradas en el proceso de reparación de lesiones perirradiculares y pertenece al grupo de citoquinas anti-inflamatorias. La producción del factor transformador de crecimiento TGF- β 1 puede ser estimulado por productos microbianos, por la respuesta del huésped a antígenos y al daño de tejidos por sí sólo. Además la mayor fuente son macrófagos, eosinófilos, linfocitos, fibroblastos, osteoblastos y osteoclastos activados son también capaces de la formación de TFG. En etapas tempranas de la respuesta inflamatoria de TGF- β 1 es un quimioatrayente para monocitos y linfocitos, reclutándolos al sitio del daño. Sin embargo, subsecuentemente ejerce un potente efecto supresivo en la proliferación de linfocitos T y B, inhibe la producción de IL-1, 2, 6, TNF- α y INF- γ , secreción de anticuerpos, bloqueo de producción de oxido nítrico (NO) por macrófagos, acelera la curación por estimulación de la reparación de tejido suave, además inhibe la formación de osteoclastos. Texeira et al. reportaron que los niveles de TGF- β fueron significativamente altos en granulomas comparados a quistes radiculares, sugiriendo que los granulomas periapicales exhiben un patrón regulatorio con altos niveles de TGF- β y niveles bajos de citocinas proinflamatorias.

Factores de estimulación de colonias (CSF) son un grupo de citoquinas que regulan la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas. Su función es activar neutrófilos leucocitos. GM-CSF es secretado por una gran variedad de células, las principales fuentes posiblemente son los macrófagos, células endoteliales, células T activadas y PMN.

La Proteína Quimiotactiva de Monocitos (MCP-3/CCL7) es una de las quimiocinas más pluripotenciales, pero actúa predominantemente en el linaje de los macrófagos. MCP-3 es expresado por células endoteliales, células plasmáticas, linfocitos y fibroblastos inducidos por IL-1 α , TNF- α , INF- γ y LPS. (Graunaite, Lodiene, 2011)

INMUNIDAD ADAPTATIVA

La inmunidad adaptativa es antígeno específica y sirve para mejorar el mecanismo de protección de la inmunidad innata o no específica. Es también conocido como inmunidad adquirida para enfatizar el hecho de que estas repuestas protectoras potentes son adquiridas o enseñadas como consecuencia de experiencia. Las células T, B y sus productos, los cuales incluyen quimocinas inflamatorias, citoquinas y anticuerpos. Las quimocinas inflamatorias dirigen el tráfico de las células inmunes y citoquinas inducidas durante la activación de la células T para regular las respuestas inmunes e inflamatorias. El resultado final de la inmunidad adaptativa es una respuesta inflamatoria exagerada (inflamación inmune) intentando eliminar la infección. (Chin Lo Hahn, 2007)

El desarrollo de una *respuesta de inmunidad adaptativa efectiva* depende en gran medida de un reconocimiento apropiado del antígeno por las células del sistema inmune innato y presentarlo a las células adaptativas inmunes. Las APCs tienen una importante habilidad para reconocer el patógeno y operar en la interface de inmunidad innata y adaptativa. Sin embargo, aun en proporciones considerables de macrófagos en la lesión pueden expresar un mayor complejo de histocompatibilidad (MHC) de moléculas clase II, sugiriendo que puedan actuar como APCs, estudios recientes mostraron que las células dendríticas actúan como APCs (células presentadoras de antígenos) eficientes, comparados con los macrófagos. (Graunaite, 2011; Broere, 2011)

La característica de la inmunidad adaptativa es el uso de receptores antígeno-específico en células T y B para impulsar la respuesta efectora específica en 2 etapas. Primero el antígeno es presentado y reconocido por los antígenos específicos de células T o B dando lugar a una imprimación celular, activación y diferenciación, la cual ocurre usualmente dentro del ambiente especializado de tejido linfoide. Segundo, la respuesta efectora toma lugar, ya sea debido a la activación de células T dejando el tejido linfoide y llegando a la localización de la enfermedad o debido a la liberación de anticuerpos de células B activadas (células plasmáticas) dentro de la sangre y fluidos de tejidos y desde ahí al foco infeccioso. (Parkin, 2001; Broere, 2011)

CÉLULAS Y MEDIADORES QUÍMICOS QUE PARTICIPAN EN LA RESPUESTA ADAPTATIVA DE PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.

Los leucocitos polimorfonucleares tienen una función protectora y destructora en reacciones inflamatorias no específicas. La función protectora es expresada en su habilidad de fagocitar. Estas contienen gránulos lisosomales, en los cuales existen numerosas enzimas hidrolíticas, cuya liberación es la responsable del daño de tejidos. Las enzimas que se encuentran en los lisosomas granulomatosos son colagenasa, fosfatasa alcalina, elastasa, proteasa, lisosomas, los cuales tienen efecto destructivo en los componentes extracelulares de tejido conectivo.

El RANKL es un regulador importante de las interacciones entre células T y células dendríticas durante el proceso de presentación del antígeno. El RANKL es también expresado en la superficie de las células dendríticas y la interacción con su receptor puede inducir un grupo de formación y activación de células T, supervivencia de células dendríticas, regular la función de las células dendríticas y la comunicación entre células T y células dendríticas. (Graunaite 2011). El RANKL es producido por diversas células, incluyendo algunas del sistema inmunitario, células de la pared vascular y osteoblastos/estroma. Este factor pertenece a la familia de TNF. Cuando se fija a su receptor RANK presente en la membrana de precursores osteoclasticos, induce una serie de señales que promueven la diferenciación de estos y la formación de osteoclastos. (Riancho, 2011)

Los osteocitos no tienen conexiones físicas con las células de la medula. Por tanto, si actúan sobre los precursores osteoclasticos debe ser a través de mecanismos humorales. De hecho, se ha demostrado que estas células producen diversos mediadores que pueden influir en la osteoclastogénesis, como óxido nítrico, TGF- β , prostaglandinas, o RANKL. (Riancho, 2011)

Los macrófagos además representan antígenos de las sustancias de linfocitos T y por lo tanto inducir el principio de la reacción inmunológica por su efecto sobre linfocitos B y su transformación a células plasmáticas, las cuales son responsables de la formación de anticuerpos. La acumulación de linfocitos T se confirma en lesiones periapicales crónicas, particularmente aquellas colonizadas por *Streptococcus*. (Staudt, 2001)

La activación de estos receptores lleva a la estimulación de múltiples citoquinas inflamatorias incluyendo IL-1, TNF- α e IL-6, y ha estado asociado con el aumento de la producción de RANKL, osteoclastogénesis y la resorción ósea. Múltiples estudios han reforzado el concepto que el desarrollo de la resorción de hueso en lesiones de origen endodóntico involucra la respuesta inmune adaptativa. El tipo de células predominantes en lesiones endodónticas en un modelo de ratón fueron ser las células T seguidas de células B y monocitos/macrófagos. Múltiples respuestas de células T han sido asociadas con lesiones endodónticas, incluyendo Th1 (IL-2 y INF- γ), Th2 (IL-4 y IL-5), células T reguladoras (Tregs; IL-10- γ TGF- β), Th17 (IL-17- α), linfocitos. De hecho el factor clave de transcripción esencial para Th1, Th2 y diferenciación de Tregs, T- β , GATA-3 y FOXP3, respectivamente, han sido encontradas en lesiones periapicales así como también IL-17 α , la citoquina prototípica producida por células Th17.

La importancia de la respuesta inmune adaptativa en proteger al huésped durante la formación de lesiones endodónticas ha sido demostrado en numerosos estudios. La exposición de la pulpa dental en ratones con inmunodeficiencia severa combinada (SCID) mostraron lesiones periapicales de un tamaño similar a aquellos ratones del grupo control. Sin embargo, aproximadamente un tercio de los ratones inmunodeficientes con lesiones endodónticas desarrollaron abscesos orofaciales. Curiosamente, dos estudios encontraron resultados contrastantes utilizando ratones nu/nu u con una deficiencia en la respuesta de células T. Mientras que un estudio mostraba mayor resorción ósea después de lesiones endodónticas sugiriendo un papel protector crítico, el otro estudio fracasó en la identificación de la diferencia del tamaño de la resorción ósea. Evidencia de papel

protector del $\text{INF-}\gamma$, la citocina Th2 prototípica, fue demostrada a medida que la ausencia del $\text{INF-}\gamma$ resultara en aumento de la resorción ósea comparada con tipos de ratones salvajes. Sin embargo, la citoquina antiinflamatoria IL-10 ha sido demostrada como un factor protector contra la resorción ósea periapical. Lesiones periapicales en ratones con una ablación genética de IL-10 fueron aumentados de tamaño en comparación con los tipos de ratones salvajes, consistente con un papel protector para IL-10. Además, IL-10 mRNA los niveles en granulomas periapicales en humanos han sido correlacionados positivamente con la expresión de proteínas SOCS1 y SOCS3, los cuales actúan como reguladores negativos de la señalización inflamatoria. Curiosamente, Tregs como una potente fuente de IL-10 fueron encontrados en las lesiones periapicales seguidas de infecciones endodónticas consistentes con un papel regulador dentro del desarrollo de la lesión. (Graves, 2011) Lesiones endodónticas han sido asociadas con múltiples citoquinas. Las citoquinas que participan en la formación de lesiones osteolíticas. Interleucinas (IL) particularmente IL-1 α e IL-1 β son producidas en lesiones periapicales por severos tipos de células incluyendo macrófagos, osteoclastos, PMNs y fibroblastos.

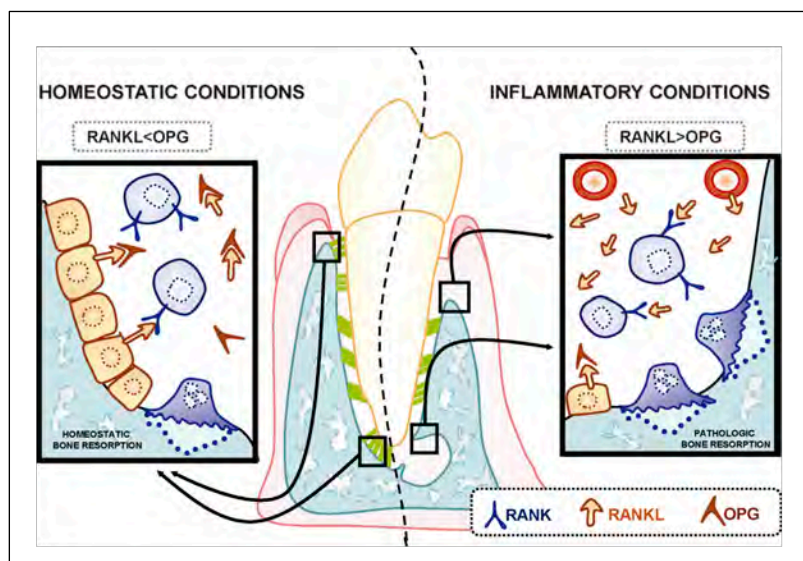


Fig.11. El balance de RANKL/OPG es un factor importante en la regulación de resorción ósea en ambientes periodontales y periapicales. La diferenciación y activación de osteoclastos son manejados por la interacción de RANK (receptor activador del factor nuclear KB) con su ligando, RANKL. Osteoprotegerina, OPG, es un señuelo de RANKL que inhibe el combate RANK-RANKL. En condiciones homeostáticas (lado izquierdo), los niveles de RANKL y OPG están pensados para ser balanceados para que así haya una osteoclastogénesis y resorción ósea limitada. Con los estímulos inflamatorios la proporción RANKL/OPG aumenta en tejidos periodontales y periapicales y lleva a la estimulación de la actividad osteoclástica y una reabsorción ósea. (Graves, 2011)

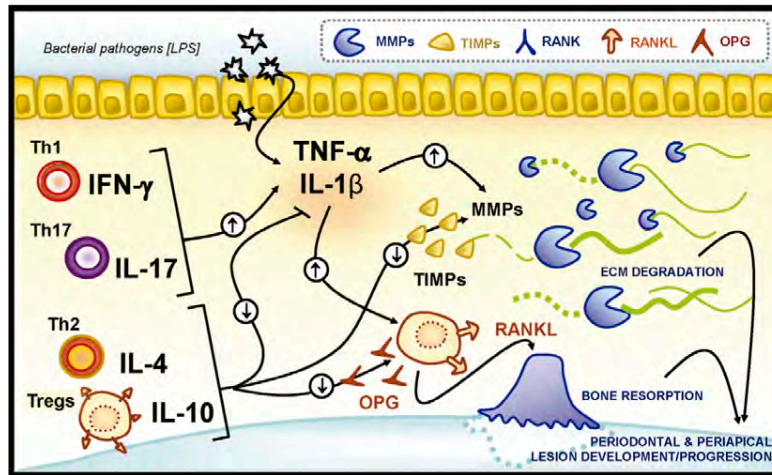


Fig. 12. Regulación de citoquinas en la degradación de matriz y resorción de hueso en el entorno periodontal y periapical. La presencia de patógenos microbianos en el ambiente periodontal y periapical provoca una producción inicial de citoquinas proinflamatorias, tales como TNF- α e IL-1 β , los cuales estimulan la expresión y activación de la matriz de metaloproteinasas (MMPs) que degrada tejido conectivo de la matriz extracelular. Las citoquinas tales como TNF- α pueden estimular la osteoclastogénesis independientemente mientras que otras citoquinas estimulan la expresión de RANKL que lleva a la formación de osteoclastos y a la actividad osteoclástica. La combinación de las respuestas inmunes innata y adaptativa posiblemente llevan a altos niveles de inflamación y resorción ósea. Estas citoquinas proinflamatorias se consideran generadoras y aplicadoras del circuito que contribuye a la progresión de la lesión periodontal y periapical. Conversamente, las citoquinas producidas por células Th2 y Tregs, tales como IL-4 e IL-10 tienen el efecto opuesto, en parte, a través de la estimulación de producción de inhibidores de tejido de la matriz de metaloproteinasas (TIMPs) y OPG así como a la contención de producción de citoquinas inflamatorias. (Graves, 2011)

El papel de IL-1 en la estimulación de la destrucción ósea periapical fue demostrada utilizando un antagonista de receptor IL-1 que mostro una reducción del 60% en el desarrollo de la lesión. Parece que mucha de la actividad osteoclastogénica en lesiones periapicales es específicamente relacionada con la formación de (IL- α) interleucina IL1- α . Sin embargo, cuando el receptor de señalización de IL-1 es completamente eliminado existe un aumento del tamaño de la lesión y una morbilidad sistémica. Además la expresión de TNF- α ha sido identificada en lesiones de origen endodóntico por células como PMNs, monocitos/macrófagos y fibroblastos y puede que contribuyan a la formación de la lesión. La IL-6 ha sido observada en exudados de lesiones periapicales humanas, con osteoblastos, fibroblastos, macrófagos, PMNs y linfocitos T identificados expresando la proteína IL-6.

Los neutrófilos son activados en el desarrollo de la pérdida de hueso asociado con lesiones endodónticas. Esto ha sido demostrado en animales con alguna neutropenia teniendo una disminución en la formación de lesión periapical. El reclutamiento de PMNs con citoquinas ha sido también implicado en la patogénesis de lesiones periapicales. IL-8/CXCL8 expresión de quimiocina es prominente en lesiones periapicales, consistente con una pesada infiltración por PMNs.

El reclutamiento de monocitos es crítico en la defensa antimicrobiana en lesiones de origen endodóntico. Quimiocinas y receptores de quimiocina estimulan la inmunidad innata y adaptativa en el ambiente periapical y en el desarrollo de granulomas asociados con estas lesiones. La supresión genética de MCP-1/CCL2

identificada en monocitos/macrófagos y en células de revestimiento de hueso en lesiones endodónticas, reduce significativamente el infiltrado monocítico mientras aumenta la cantidad de resorción ósea. Similarmente, la ausencia de MCP-1 receptor (monocito quimioatrayente de proteína 1) (CCR2) (quimioatrayente receptor 2) o una ablación genética de quimiocinas receptoras CC con un receptor 5 resulta en un aumento de la cantidad de resorción apical ósea y esta asociada con altos niveles de los factores osteolíticos, tales como RANKL y catepsina K.

Curiosamente, la activación de MCP-1/CCL2-CCR2 parece jugar un papel activo mediando la migración de monocitos/macrófagos mientras limitan la infiltración de PMSs. La expresión del RANKL y la osteoprotegerina (OPG) demuestra un patrón heterogéneo en granulomas periapicales, que se entienden desde un alto radio de RANKL a OPG consecuente con resorción ósea de bajo radio mostrado en sitios con una resorción ósea mínima. Estos hallazgos disparados en niveles de RANKL/ OPG radio pueden ser indicadores de una lesión expansiva con una resorción ósea activa o una lesión estable con una resorción ósea mínima. (Graves, 2011)

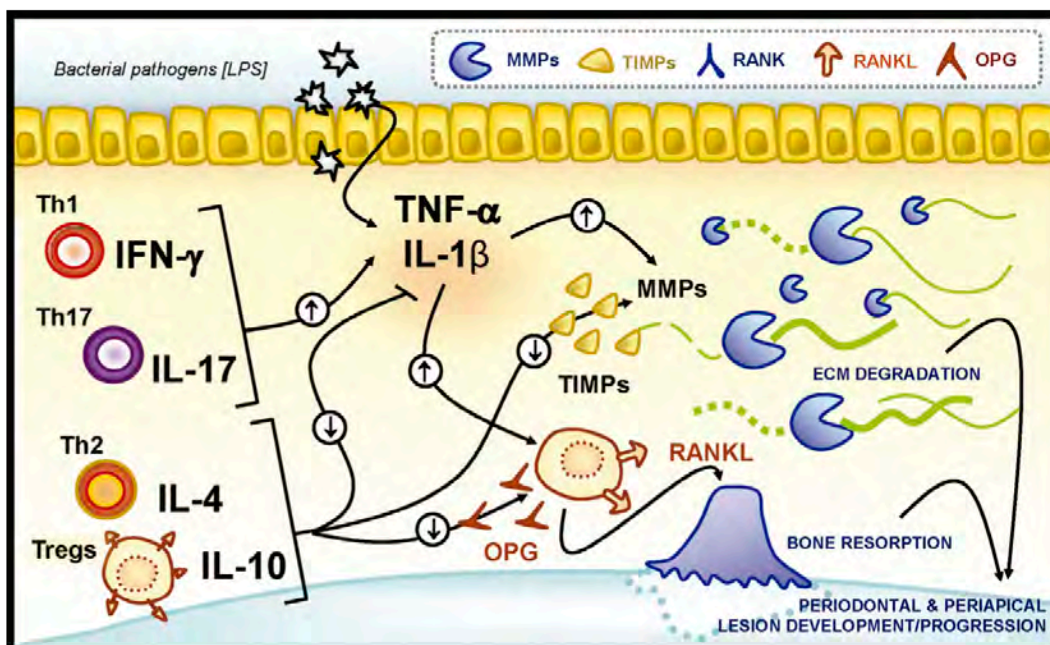


Fig.13. Regulación de citoquinas en la degradación de matriz y resorción de hueso en el entorno periodontal y periapical. La presencia de patógenos microbianos en el ambiente periodontal y periapical provoca una producción inicial de citoquinas proinflamatorias, tales como TNF- α e IL-1 β , los cuales estimulan la expresión y activación de la matriz de metaloproteinasas (MMPs) que degrada tejido conectivo de la matriz extracelular. Las citoquinas tales como TNF- α pueden estimular la osteoclastogénesis independientemente mientras que otras citoquinas estimulan la expresión de RANKL que lleva a la formación de osteoclastos y a la actividad osteoclástica. La combinación de las respuestas inmunes innata y adaptativa posiblemente llevan a altos niveles de inflamación y resorción ósea. Estas citoquinas proinflamatorias se consideran generadoras y aplicadoras del circuito que contribuye a la progresión de la lesión periodontal y periapical. Conversamente, las citoquinas producidas por células Th2 y Tregs, tales como IL-4 e IL-10 tienen el efecto opuesto, en parte, a través de la estimulación de producción de inhibidores de tejido de la matriz de metaloproteinasas (TIMPs) y OPG así como a la contención de producción de citoquinas inflamatorias. (Graves, 2011)

Las funciones de las células dendríticas como centinelas del sistema inmunológico traficando desde la vasculatura hacia los tejidos donde, aunque inmaduro, capturan antígenos. Las APCs poseen receptores especiales en su superficie que reconoce patógenos específicos asociados con un patrón molecular PAMP (patógeno asociado a un patrón molecular) y desencadena una serie de eventos intracelulares para continuar capturando antígenos e inducir más adelante moléculas co-estimuladoras para las células T. En humanos, los receptores Toll like receptors identifican los PAMPs y activan múltiples pasos en la reacción inflamatoria. Una vez activados, los TLR regulan los genes que codifican las citoquinas inflamatorias tales como IL-8, TNF α , IL-6, IL-12 e IL-1 β en células inmunocompetentes. El reconocimiento del ligando apropiado por los TLRs estimula a las señales y vías de transducción e inducción de diferentes genes que funcionan en la defensa del huésped, incluyendo aquellos para citoquinas inflamatorias, quimiocinas, MHC y moléculas co-estimuladoras. En adición la activación de TLR induce múltiples efectores moleculares, inducibles como sintasa de óxido nítrico y péptidos antimicrobianos, los cuales pueden destruir patógenos microbianos. Entonces, a continuación, estímulos inflamatorios, células dendríticas cargadas de antígeno dejan el tejido y se mueven a los órganos de drenaje linfático donde, convertidos en células dendríticas maduras, preparan a las células T. (Graunaitė, 2011)

Infección continua o severa a niveles más allá de la capacidad de la inmunidad innata son mediadas por la inmunidad adaptativa, la cual es mucho más específica hacia antígenos exógenos. La inmunidad adaptativa es llamada también inmunidad específica y posee la habilidad de memorizar y responder vigorosamente a exposiciones repetidas al mismo antígeno. El mayor componente de la inmunidad adaptativa son los linfocitos B y T. (Graunaitė, Lodiene, 2011)

DESTRUCCIÓN DEL TEJIDO ÓSEO PERIAPICAL.

La integridad del tejido óseo depende del mantenimiento de un delicado equilibrio entre resorción ósea por osteoclastos y la deposición ósea de osteoblastos. Los osteoclastos se originan de precursores hematopoyéticos del linaje de monocito-macrófago que reside dentro de la médula ósea, guiado por quimiocinas, emigran de la circulación periférica hacia dentro del hueso. Quimiocinas, conocidas por causar quimiotaxis y diferenciación son :

MCP-1/CCL2, SDF-1 α /CXCL12, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 γ /CCL9, RANTES/CCL5, IL-8/CXCL1, MCP-3/CCL7, Xk γ 8/CCL23, MIG/CXCL9 y IP-10/CXCL10. La activación de osteoclastos es lograda solo por RANKL. Marton et al. reportaron que el reclutamiento de monocitos dentro de lesiones de granulomas pueda deberse a la presencia de MCP-1. MCP-1/CCL2 está asociado con la quimiotaxis de osteoclastos y su diferenciación, probablemente a través de la interacción con receptores CCR2. (Graunaitė, 2011)

ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA DEGRADACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR.

El ligamento periodontal es un tejido conectivo denso, localizado entre el cemento y el hueso alveolar, soportando al diente. Este ligamento está compuesto principalmente de fibras de colágeno y fibras de sistema elástico. La destrucción del ligamento periodontal es iniciada por la degradación de la MEC. Las enzimas involucradas en la degradación de la MEC incluyen matriz de metaloproteinasas (MMPs) y proteasas séricas (incluyendo elastasa neutrofílica y captasina G). La familia de MMPs son capaces de degradar todos los

componentes de la matriz extracelular incluyendo colágeno y proteoglicanos. La MMPs ha jugado un papel importante en las condiciones inflamatorias de tejidos periodontales, pulpares y periapicales, así como la mineralización de dentina. Tjaderhane et al. demostraron que la inhibición de inflamación periapical de MMP aumenta el índice de crecimiento, indicando que la MMP pueda tener propiedades anti-inflamatorias y/o anti-infecciosas. La MMPs ha sido dividida en cuatro subfamilias: colagenasas, gelatinasas, estromelisin y una membrana de tipo MMP, de acuerdo a sus sustratos y estructuras, siendo la colagenasa y gelatinasa las más investigadas en lesiones de periodontitis apical. Subfamilias de colagenasa incluyen: colagenasa intersticial MMP-1, colagenasa de neutrófilos MMP-8 y colagenasa -3 (MMP-13).

La colagenasa MMP-1 ha sido encontrada en la degradación de matriz extracelular no mineralizada y estimula la osteoclastogénesis a través de la generación fragmentos de degradación de colágeno en las superficies óseas. Las células expresadas de MMP-1 son consideradas como macrófagos. Las citoquinas IL-1 α y TNF- α , pro-inflamatorias modulan una subsecuente modulación en la producción de MMP-1 de macrófagos para promover la resorción periapical ósea. Wahgren et al. reporto que las células PMN y macrófagos expresan MMP-8 en periodontitis apical.

Algunos estudios han mostrado que la MMP-2 y -9 participan en la patogénesis de la inflamación pulpar y periapical, Shin et al., Buzoglu et al. entre otros, utilizando muestras de pus intraconducto con absceso apical.

Las proteasa serinas son conocidas también por degradar la MEC en periodontitis apical tales como los neutrófilos de elastasa (NE) y captetina G. Elastasa neutrófila es una de las mayores enzimas de neutrófilos humanos, que en la inflamación se libera dentro de los tejidos periapicales para contribuir al daño de tejido. (Graunaite, 2011)

TABLA 6. Enzimas involucradas en la degradación de la matriz extracelular.

		Expressing cells	Functions	
Matrix metalloproteases (MMPs)	Collagenases	Interstitial collagenase (MMP-1)	Degrades non-mineralized extracellular matrix Stimulates osteoclastogenesis	
		Collagenase of neutrophils (MMP-8)	Polymorphonuclear leukocytes, macrophages	Degrades gelatin, type I, II, III, IV and XI collagens
		Collagenase-3 (MMP-13)	Fibroblasts, epithelial cells, plasma cells	Degrades type I, II, III, IV, IX, X and XIV collagens, gelatin, tenascin-C, fibronectin and proteoglycan core proteins
Matrix metalloproteases (MMPs)	Gelatinases	Gelatinase A (MMP-2)	Degrades gelatin, fibronectin, elastin, laminin, collagen I, III, IV, V, VII, X, XI	
		Gelatinase B (MMP-9)	Polymorphonuclear leukocytes, macrophages, T cells, mast cells, odontoblasts	Degrades gelatin, elastin, type IV, V, VII, X, XI and XI collagens
Serine proteases		Neutrophil elastase (NE)	Degrades elastin, collagen, fibrinogen, hemoglobin, proteoglycans	
		Cathepsin G	Polymorphonuclear leukocytes, monocytes, mast cells	Degrades type III collagen and proteoglycan

PAPEL QUE DESEMPEÑAN LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO.

Especies reactivas de oxígeno (ROS) son altamente reactivas y pueden modificar e inactivar proteínas, lípidos, ADN y RNA e inducir disfunciones celulares. O₂, H₂O₂ y Oxido Nítrico (NO) juegan un papel importante en la defensa del huésped, así como también en las lesiones inflamatorias de tejido inducidas.

El anión superóxido es un radical altamente reactivo involucrado en el daño celular y de tejido en una variedad de desordenes, incluyendo enfermedades inflamatorias. Mientras que la producción de superóxido por neutrófilos y otras células fagocíticas es esencial para matar ciertos microorganismos, causa daños a tejidos en el sitio de inflamación. Una alteración entre el balance de la producción de radicales de oxígeno por células fagocíticas en lesiones periapicales y su eliminación fue sugerida como contribuyente para el daño periapical y la pérdida ósea en la periodontitis apical crónica. El anión superóxido también ha demostrado ser producido por osteoclastos y están involucrados en la resorción ósea. Además, anión de superóxido puede reaccionar con un precursor en plasma para generar un factor quimiotáctico para neutrófilos. Además de la producción por células huésped las bacterias pueden también producir anión de superóxido. (*Streptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*). (Graunaite, 2011)

OSTEOCLASTOGÉNESIS Y ENFERMEDADES ÓSEAS.

Los osteoclastos son células especializadas cuya actividad biológica es, conjuntamente con la de los osteoblastos, la homeóstasis del tejido óseo. En el proceso de inducción y de maduración de los osteoclastos u osteoclastogénesis, el factor estimulante de colonias de macrófagos (CSF-1), el receptor asociado a la activación del factor nuclear kappa-beta (RANK) y su ligando (RANKL), y la osteoprotegerina (OPG), desempeñan un papel importante a partir de células provenientes de la línea granulocito macrófago. La osteoclastogénesis involucra por lo menos 24 genes a través del eje RANK/RANKL/OPG, cuya expresión diferencial regula la resorción y la densidad ósea. (Mikan, 2007)

PATRONES DIFERENCIALES DE EXPRESIÓN RANKL/OPG EN GRANULOMAS PERIAPICALES HUMANOS: POSIBLE ASOCIACIÓN CON UNA LESIÓN PROGRESIVA O DE NATURALEZA ESTABLE.

Las respuestas periapicales inflamatorias más comunes tomadas de la forma de granulomas o quistes reactivos, con una resorción concomitante de hueso que rodea las raíces de los dientes afectados. La resorción ósea es un proceso multipasos en los cuales el receptor activador nuclear factor kappa B ligando RANKL y osteoprotegerina OPG juegan un papel importante. La unión de RANKL al receptor RANK presentado en la superficie de preosteoclastos lleva su maduración y activación, mientras OPG, el inhibidor natural de RANKL, es un receptor que proclama que previene la unión RANK/RANKL. (Menezes, 2008)

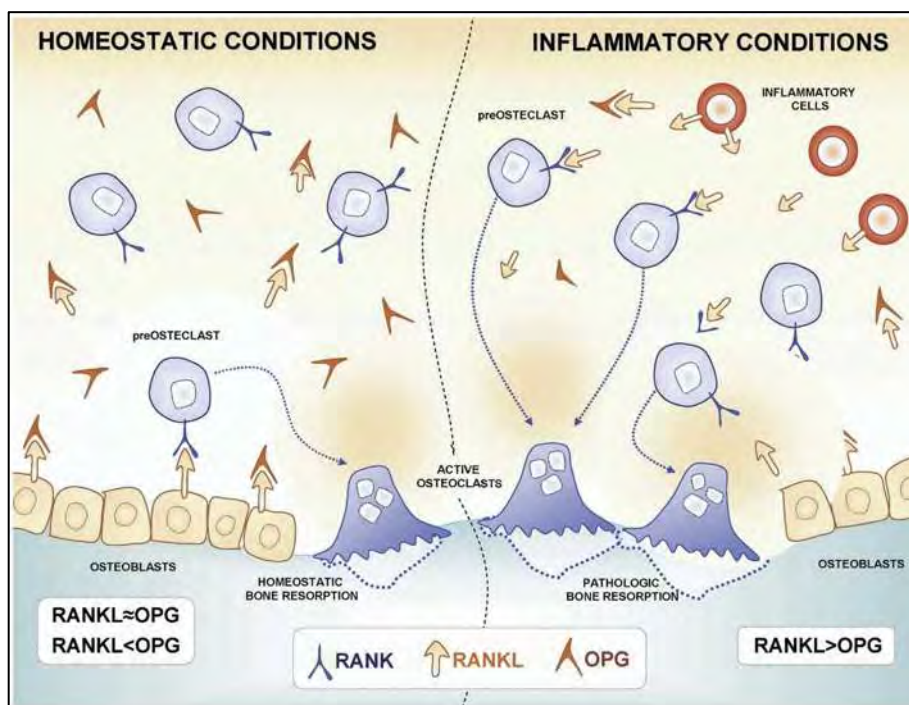


Fig.13. Papel de RANK, RANKL y OPG en la osteoclastogénesis en condiciones homeostáticas e inflamatorias. Una representación esquemática de las redes de RANK/RANKL/OPG en condiciones homeostáticas e inflamatorias. La diferenciación y activación osteoclástica son manejadas por la interacción de RANK con su ligando RANKL, eventualmente regulada por OPG, un señuelo de receptor RANKL, que inhibe la acción RANK-RANKL. En condiciones homeostáticas (lado izquierdo), los niveles de RANKL y OPG están pensados para ser un balance dinámico, el cual aloja una generación controlada de osteoclastos responsables de la homeostasis de resorción ósea. Por el contrario, la sobreexpresión de RANKL en condiciones inflamatorias (lado derecho), mayormente como resultado de la presencia de células inflamatorias, resultando un desequilibrio de niveles de RANKL/OPG, llevando así a una actividad osteoclástica excesiva y consecuentemente a una resorción ósea patológica. (Menezes, 2008)

RANKL y OPG son expresados en periodontitis apical, sugiriendo un papel para estas moléculas durante el desarrollo de la lesión. Sin embargo la detección de moléculas RANKL y OPG no caracteriza el estatus actual de las lesiones, y estos estudios previos no intentaron correlacionar la expresión RANKL/OPG con la actividad de resorción ósea actual. En conjunto, el balance entre la expresión RANKL y OPG es esencial para determinar la respuesta biológica en las enfermedades periodontales, movimiento dental ortodóntico y algunas lesiones osteolíticas en el esqueleto facial. Sin embargo el perfil de expresión de RANKL/OPG en lesiones periapicales se desconoce. (Menezes, 2008)

PROTEÍNA C REACTIVA: MARCADOR SISTÉMICO DE INFLAMACIÓN.

La proteína c reactiva es una proteína de suero de fase aguda, la cual se induce rápidamente como parte de la respuesta inmune hacia los tejidos dañados e infección. Su nombre deriva de su capacidad para precipitar al polisacárido somático C del *Streptococcus pneumoniae*. La respuesta de fase aguda es un fenómeno fisiopatológico de “emergencia” que aparece al desequilibrarse ciertos mecanismos homeostáticos (destinados a mantener en equilibrio las condiciones fisiológicas) que mantienen funcional al organismo ante diversos retos. La PCR forma parte de la inmunidad innata y su síntesis es inducida como respuesta al daño tisular,

infecciones, procesos inflamatorios y neoplasias. Producida principalmente por los hepatocitos y su expresión esta regulada por citoquinas producidas por las distintas poblaciones celulares del sistema inmune, como las pro-inflamatorias interleucina 1 (IL-1) e IL-6 y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α). Existen diferencias entre las PCR por ejemplo estructurales –derivadas por ejemplo de su glucosilación diferencial –y funcionales, como la capacidad del organismo de regular la síntesis basal y de fase aguda de proteína o de esta de activar al complemento. En individuos sanos, la concentración media de PCR es de 0.8 mg/L mientras que durante un estímulo de fase aguda, estos niveles pueden incrementar hasta mas de 10,000 veces su valor normal. Su índice de producción es lo único que determina los niveles circulantes de PCR, por lo tanto éstos reflejan directamente la intensidad de los procesos patológicos que estimulan su síntesis. Una vez que el estímulo que promovió su producción cesa por completo, la concentración en circulación de la PCR disminuye rápidamente hasta alcanzar sus niveles basales. Se ha observado que los niveles séricos de PCR tienden a incrementar con la edad y en mujeres se presentan niveles más elevados en circulación. (Hutchinson et al, 2000)

Durante décadas se ha considerado como un marcador sistémico de inflamación y recientemente, también como un predictor de riesgo cardiovascular. Actualmente los niveles séricos mayores a 10 mg/L se consideran como marcador que indica la presencia de una respuesta inflamatoria aguda. Niveles por debajo de 1mg/L se encuentran en individuos sanos, y la presencia de PCR en cantidades de entre 1 y 10 mg/L se consideran como relacionadas con un riesgo incrementado de padecer, a plazos indefinidos, enfermedades coronarias.

Los efectos pro-inflamatorios y pro-aterogénicos de la PCR que han sido documentados hasta ahora sobre las células endoteliales incluyen: disminución en la producción de óxido nítrico (NO) y prostaciclina, incremento en la secreción de IL-6, aumento en la expresión de moléculas de adhesión (imprescindibles para el reclutamiento de monocitos y linfocitos T a los tejidos) y aumento en la secreción de quimiocinas (citoquinas de bajo peso molecular con capacidad quimiotáctica (capacidad de atraer químicamente a diversos tipos de células), que son esenciales para la migración de leucocitos hacia la íntima de las arterias además de que induce la producción de factor tisular (iniciador de la cascada de coagulación) por los macrófagos.

Como si no fuera suficientemente complicado, se ha sugerido también un efecto antiinflamatorio de la PCR por su habilidad para prevenir la adhesión de neutrófilos al endotelio mediante la disminución de la expresión de L-selectina (otra molécula de adhesión), de inhibir la generación de superóxido por neutrófilos y de estimular la síntesis del antagonista del receptor de IL-1 que contrarresta los efectos pro-inflamatorios de esta interleucina producida por células mononucleares.

Un papel fisiológico fundamental de la PCR es su participación en la eliminación de materiales autólogos incluyendo a los fosfolípidos oxidados y a las células apoptóticas. La mayoría de las células de la respuesta inmune tienen una vida media muy corta, y millones de células apoptóticas requieren ser eliminadas diariamente. El conjunto de las proteínas séricas conocidas como pentraxinas ha sido implicado en la remoción de dichas células durante procesos inflamatorios. En particular, se ha observado que un aumento en los niveles séricos de PCR tiene importantes efectos en la fagocitosis de las células apoptóticas. Por ultimo opsoniza, es

decir recubre, junto con el componente C3 del complemento, las superficies de las células apoptóticas, lo que favorece su fagocitosis por los macrófagos activados. (Springall, 2006)

3. JUSTIFICACIÓN.

Las lesiones periapicales de origen endodóntico y periodontal son patologías muy similares en las cuales la inmunoregulación celular es compleja. La periodontitis apical es una enfermedad inflamatoria que afecta la porción apical de una raíz, la cual se puede manifestar clínicamente de distintas formas, además la microbiota que se presenta en esta zona puede ser variada en cuanto a especies bacterianas y sus factores de virulencia. Las bacterias son las principales responsables de la patogénesis de la periodontitis apical debido a la presencia de estas infecciones bacterianas el sistema inmunológico se activa produciendo una respuesta celular en donde se inicia una liberación de citoquinas, quimiocinas, leucotrienos y prostaglandinas dentro del área por parte de los leucocitos, iniciando así la respuesta inmune innata a nivel periapical. Estos mediadores inflamatorios refuerzan el reclutamiento de leucocitos, creando una división entre actividad y consecuencias en cuanto a los papeles de protección o destrucción de los mediadores los cuales son producidos por ciertas células del sistema inmune. Por estos motivos, en el presente trabajo de investigación clínica se realizó una biometría hemática completa de un paciente con lesión periapical, con la finalidad de conocer el comportamiento de las células del sistema inmune y sobre todo que el especialista en endodoncia logre interpretar datos que provienen de esta citometría que permitan complementar el diagnóstico de las enfermedades pulpares.

Los principales patógenos bacterianos que se encuentran infectando la zona apical son: *Treponema denticola*, *Tannerella foxythia*, *Porfiromonas endodontalis*, *Porfiromonas gingivalis*, *Streptococos anginosus* entre otros, llegando a los túbulos dentinarios, ejerciendo su patogenicidad y destrucción de tejido en el huésped lo cual detona la cascada inflamatoria en lesiones de origen endodóntico, por estos motivos es importante para el área de Endodoncia reducir la carga bacteriana para evitar la inducción o el mantenimiento de la enfermedad, realizando un tratamiento endodóntico “quirúrgico-terapéutico-medicamentoso-molecular”. Por estos motivos, es importante el aislamiento e identificación de especies bacterianas que inducen este tipo de lesiones perirradiculares, existen en la actualidad diversos métodos para la detección de microorganismos como la microscopía, ensayos inmunológicos, cultivos bacterianos, la detección microbiana por DNA o RNA a través de ensayos moleculares como la cadena de reacción de Polimerasa (PCR), Los cuales son un complemento importante para la práctica endodóntica y así lograr entender de mejor manera la etiología, diagnóstico y tratamiento de la patogénesis bacteriana. En el presente estudio se obtuvo una muestra a partir de un absceso apical agudo originado en la pieza 21 de un paciente con diagnóstico de necrosis pulpar con periodontitis apical con la finalidad de aislar e identificar cuales especies bacterianas estaban induciendo la infección, además éste análisis permitirá observar si los laboratorios clínicos tienen una estandarización de pruebas microbiológicas cuando la muestra que van a procesar proviene de lesiones periapicales.

4. OBJETIVOS.

4.1 OBJETIVO GENERAL.

Valorar la respuesta inmunológica y microbiológica en muestras biológicas provenientes de un paciente con diagnóstico de periodontitis apical.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Aislar e identificar especies bacterianas de una muestra biológica proveniente de la pieza dental 21 con necrosis pulpar y periodontitis apical aguda.

Analizar la respuesta inmune celular a partir de una muestra biológica de sangre periférica de la pieza dental 21 con necrosis pulpar y periodontitis apical aguda, utilizando un analizador hematológico marca: Beckman Coulter.

Valorar la expresión de la proteína C reactiva a partir de una muestra biológica de suero proveniente de un paciente con necrosis pulpar y periodontitis apical.

5. PRESENTACIÓN DEL CASO CLÍNICO.

CASO CLÍNICO

PACIENTE: Paciente masculino acude al consultorio particular voluntariamente el día 18 de Abril del presente año, remitido por dentista general. Dando consentimiento para la participación en ésta investigación.

PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Se inicio la historia clínica con la obtención de los siguientes datos:

DATOS PERSONALES

Nombre: Paulo Cesar Castaños Ávila.

Edad: 35 años.

Lugar de residencia: Morelia Michoacán.

Motivo de la consulta: restauración de toda la boca.

Grado de escolaridad: Preparatoria.

Lugar de nacimiento: México Distrito Federal.

Higiene Bucal: mala

Estado general de encías: inflamación con sangrado al cepillarse

Paciente no fumador

Sensibilidad: no

Despierta con dolor de los músculos de la masticación.

HISTORIA MÉDICA: sin datos patológicos importantes.

HALLAZGOS CLÍNICOS: Gingivitis, abrasión dental excesiva generalizada y mala higiene bucal. Claramente se localiza el lugar de la lesión. Posteriormente se corrobora con radiografía de diagnóstico inicial. Figura. 14.



Fig. 14.

SÍNTOMAS: Es generalmente asintomático, detectado durante radiografías de rutina o por presencia de una fístula.

SIGNOS DE DIAGNÓSTICO: Indoloro o ligero dolor, molestia a la masticación, movilidad y dolor moderado a la percusión, no hay respuesta a las pruebas eléctricas y térmicas. La mucosa gingival supraducente está enrojecida y edematosa, producción de fistula en fondo de saco de la pieza 21.

HALLAZGOS RADIOGRÁFICOS, TOMA DE RADIOGRAFIA INICIAL: Fig. 15.



Fig. 15.

ASPECTOS RADIOGRÁFICOS: Generalmente se presenta una zona radiolúcida difusa involucrando la zona periapical de la pieza 21 con un ligero ensanchamiento del ligamento periodontal, sin tratamiento endodóntico previo, descartando fracturas verticales u horizontales o algún tipo de tratamiento en la pieza . Ligamento periodontal ligeramente ensanchado. Fig. 15.

DIAGNÓSTICO:

Pulpa: Necrosis pulpar

Periodonto: Absceso Apical Crónico.

PLAN DE TRATAMIENTO:

Toma De Muestra Y Análisis En Laboratorio.

Tratamiento Endodóntico En La Pieza 21 (No Vital).

PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO:

El procedimiento de toma de muestra y análisis de laboratorio se dio lugar en el Laboratorio de Análisis en la ciudad de Morelia, Michoacán con teléfono: 01 443 313 2453 el día 12 de abril del 2014 el cual fue la primera fase del tratamiento a realizar antes de proceder al tratamiento endodóntico. Fig. 16 y 17.



Fig. 16 y 17.

TOMA DE MUESTRA:

El paciente debía presentarse el día de la toma de muestra sin cepillarse la boca para la toma de la muestra. La cual se tomó con isopo estéril llevado dentro de un tubo para su análisis el cual se levo a cabo por personal especializado del laboratorio de análisis. Fig. 18, 19, y 20.



Fig. 18, 19 y 20.

PRUEBAS DE LABORATORIO:

La prueba de laboratorio se realizó una técnica de venopunción, teniendo en cuenta una buena iluminación y una posición cómoda del paciente, se localizó la vena recta o rectificable, ligando lo más cerca posible al lugar de la venopunción con realización de maniobras para localizar la vena, con llenado de abajo hacia arriba. Con una previa antisepsia de la zona. Fig. 21, 22 y 23.



Figs. 21, 22 y 23.

Las muestras obtenidas fueron analizadas en el laboratorio en donde los resultados obtenidos se entregaron 3 días después de la obtención de las muestras. Fig. 24.



Fig. 24.

Los aparatos que se utilizaron para estos análisis fueron los siguientes:

Análisis de la muestra:

Analizador Hematológico Marca: Beckman Coulter. Fig. 25.



Fig. 25.

Analizador Hematológico Marca: Beckman Coulter permite efectuar hemogramas completos, en otras palabras, análisis cualitativos y cuantitativos de eritrocitos, leucocitos y trombocitos. Utilizada para el diagnóstico de trastornos relacionados con las constantes sanguíneas, como anemias, leucemias o trombosis.

Análisis de sangre:

Centrifuga KitLab CK-24 Fig. 26.



Fig. 26.

Utilizada generalmente en procesos como la separación por sedimentación de los componentes sólidos de los líquidos biológicos y, en particular, en la separación de los componentes de la sangre: glóbulos rojos, glóbulos blancos, plasma y plaquetas, entre otros, y para la realización de múltiples pruebas y tratamientos.

TRATAMIENTO DE ENDODONCIA

METODOLOGÍA

PLAN DE TRATAMIENTO

1. Se realizó la anestesia tópica del fondo de saco de la pieza 21, posterior a ello una anestesia infiltrativa. La anestesia se practicó a través del agujero infraorbitario, que se sitúa a 7-10 mm. por debajo del reborde orbitario inferior, en una línea vertical que, partiendo de la pupila, coincide con el eje del 2° premolar superior. Su anestesia bloquea el grupo incisivo-canino homolateral y las estructuras vestibulares. Igualmente, se anestesia el n. dentario medio, consiguiéndose, la anestesia de premolares, raíz mesial del primer molar y las ramas terminales. No se anestesió con bloque del nervio palatino posterior. El anestésico utilizado en el tratamiento fue Lidocaína 2% HCl, Epinefrina solución inyectable 1:100,000 de 1.8 ml marca Zeyco.
2. Aislamiento total de la pieza 21 con dique de hule marca Blossom mediano 5"x5" y grapa endodóntica marca Ivory No. 00 (Kulzer Heraeus North America). Fig. 27 y 28.



Fig. 27 y 28.

3. Apertura de la cámara con fresa redonda de diamante con una pieza de mano de alta velocidad en donde el conducto principal fue localizado posterior a eso se realizó permeabilización/patentización de los conductos con limas K (Dentstply Maillefer). Fig. 29.



Fig. 29

4. Conductometría de las raíces y establecimiento de la longitud de trabajo mediante localizador de ápice ROOT ZX MORITA ZX y radiografía de conductometría. dando como longitud de trabajo 18.5 mm. Fig. 30.

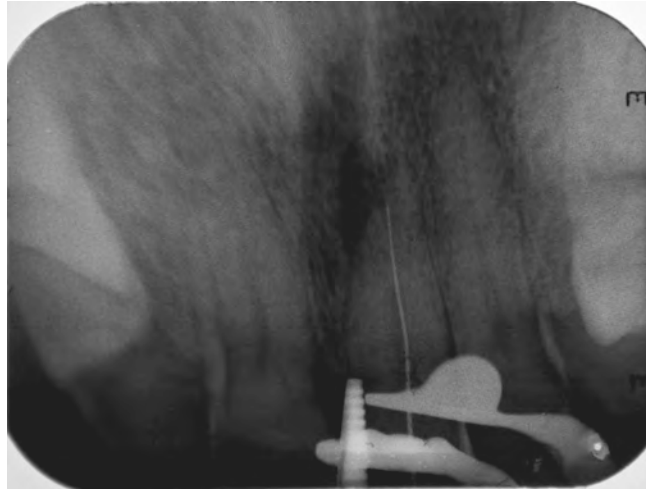


Fig. 30.

5. Instrumentación y preparación biomecánica escalonada corono-apical iniciando con acceso radicular con fresa Gates Glidden #5 (GG) (Sybron Endo Corp, Orange CA EUA). Fig. 31, 32 y 33.



Fig. 31, 32 y 33.

6. Irrigación quimiomecánica con NaOCl al 5.25%, 17%EDTA y CHL. con aspiración utilizando puntas Capillary Tips (Ultradent Products, Inc., UTAH, EUA) y cavitación ultrasónica con aparato Varios NSK a una intensidad de 4 y una lima 25 durante 1 min. El volúmen del irrigante fue de 3 ml cada vez que el conducto fue irrigado. La frecuencia de irrigación aumentó a medida que la preparación se acercó a la constricción apical. Las agujas utilizadas fueron de un calibre 27. Se lavo con solución fisiológica estéril y se dejo EDTA dentro del conducto por 1 min. Fig. 34, 35 y 36.



Fig. 34, 35 y 36.

7. Instrumentación con limas Pro Taper (Denstply Maillefer, Ballaigues Switzerland) con motor de velocidad entre 150 a 350 rpm. Fig. 37.



Fig. 37.

8. Una vez que se ha finalizado la conformación y limpieza el conducto radicular se lavó con solución fisiológica estéril, se colocó EDTA dentro del conducto por 1 min. Se volvió a lavar y por último se secó con puntas de papel. Se colocó una mezcla de Hidróxido de Calcio Ca(OH)_2 en combinación como vehículo de anestésico local, el cual actuará como medicación intraconducto, y será retirado en el momento de una nueva cita. Fig. 38, 39 y 40.



Fig. 38, 39 y 40.

9. Conometría para corroborar longitud de la punta de gutapercha, selección del cono principal de gutapercha para coincidir lo mas próximo posible a la forma y longitud del conducto radicular principal. Fig. 41.



Fig. 41.

10. Al finalizar se lavo con solución fisiológica estéril, se colocó EDTA dentro del conducto por 1 min. Se volvió a lavar y por ultimo se seco con puntas de papel. Obturación del conducto con gutapercha utilizando técnica de condensación lateral modificada, punta principal se lleva al cemento y después hacia el conducto radicular previamente seco, se realiza una presión lateral repetidas veces con condensador digital, una serie de puntas de gutapercha finas son colocadas hasta obtener una obturación densa, obturación con técnica de condensación lateral modificada con cementos no solventes. Figs. 43, 44 y 45.



Fig. 43, 44 y 45.

11. Radiografía de penacho y posterior ya una vez corroborada la obturación se hace la remoción de los excedentes que pudieran quedar de gutapercha en el tercio coronario de la pieza, utilizando un glick del No. 8. y soplete para el calentamiento de éste. Fig. 46.

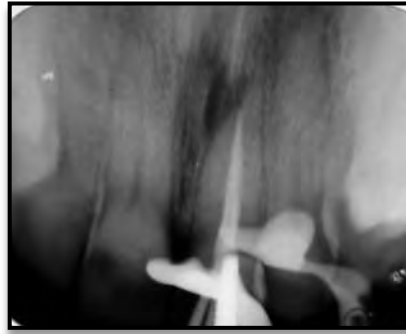


Fig. 46.

12. Radiografía final. Figura 47.

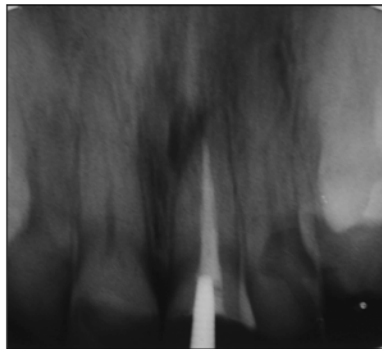


Fig. 47.

13. Instrucciones específicas posoperativas y se indica terapia antibiótica y antiinflamatoria. Recetando al paciente Clindamicina (300 mg) con una toma cada 8hrs durante siete días.

14. Examen de control radiográfico un mes después, resultados radiográficos. Fig. 48.



Fig. 50. Radiografía inicial.



Fig. 48.

6. RESULTADOS.

6.1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Los resultados microbiológicos de la muestra proveniente de la pieza dental 21 con necrosis pulpar y periodontitis apical aguda indicaron lo siguiente:

- 1) En el estudio bacterioscópico se reportaron la presencia de bacterias cocos Gram + en cantidad moderada.
- 2) En el aislamiento e identificación bacteriana se reporto el crecimiento de *Streptococos viridans*.

Nota: El laboratorio de análisis clínico reporto estos resultados como Biota habitual en cavidad bucal (anexo 10.3).

6.2 CITOMETRÍA HEMÁTICA.

TABLA 7.

DETERMINACION	RESULTADOS	UNIDADES	VALORES NORMALES
WBC Glóbulos blancos (leucocitos)	6.07*	10 ³ / μL	4.80 - 10.80
RBC Glóbulos Rojos (eritrocitos)	5.64	10 ⁶ /μL	4.00 - 6.00
HGB Hemoglobina	16.56	g/dL	14.00 - 18.00
HTC Hematocrito	47.76	%	42.00 - 54.00
MCV Volumen Corpuscular Medio	84.69	fL	80.00 - 100.00
MCH Hemoglobina corpuscular media	29.37	Pg. (Picogramos)	27.00 - 31.00
MCHC Concentración de hemoglobina corpuscular media	34.68	g/dL	33.00 – 37.00
RDW Amplitud de la distribución leucocitaria	10.54 L	%	11.60 – 13.70

TABLA 8.

DETERMINACION	RESULTADO	UNIDAD	VALOR NORMAL
NE Neutrófilos	51.80	%	45.00 – 65.00
LY Linfocitos	34.60	%	24.00 – 38.00
MO Monocitos	9.70* H	%	4.00 – 8.00
EO Eosinófilos	1.30	%	1.00 – 4.00
BA Basófilos	2.60*HH	%	0.00 – 1.00

6.3 DETERMINACIÓN SEMI-CUANTITATIVA DE LA PROTEINA “C” REACTIVA EN SUERO.

Los resultados de laboratorio clínico reportaron como **“NEGATIVA”** la prueba de proteína “C” reactiva. (anexo 10.4)

7. DISCUSIÓN.

En México el diagnóstico microbiológico de las infecciones de la cavidad bucal, no se realiza con la frecuencia que debería hacerse y más aún de las enfermedades pulpares. No obstante, conviene tener presente que este tipo de análisis es una herramienta importante para el Odontólogo, ya que permite conocer la etiología microbiana de la enfermedad, seleccionar el antimicrobiano adecuado, así como determinar la eficacia del tratamiento realizado. En el presente estudio de investigación de caso clínico se llevo a cabo un estudio microbiológico de una muestra que provino del órgano dental 21, con un diagnóstico de necrosis pulpar y periodontitis apical, la cual requería tratamiento endodóntico. En los resultados del estudio bacterioscópico se reporto la presencia de bacterias cocos Gram + en cantidad moderada y en los ensayos microbiológicos de aislamiento e identificación se reportó el crecimiento de *Streptococcus viridans*, lo cual no concuerda con la literatura, esto indica la falta de métodos microbiológicos estandarizados por parte de los laboratorios cuando las muestras biológicas provienen de cavidad oral, ya que la mayoría de microorganismos patógenos que inducen enfermedad pulpar y periodontal son bacterias anaeróbicas facultativas. Observamos que los procedimientos para la toma y transporte de muestras, son determinantes en la calidad del análisis, en los resultados obtenidos y, por consiguiente, en el éxito de la terapia a instaurar. Por estas razones, sugerimos que cada vez que se desee tomar una muestra biológica en cavidad bucal para un diagnóstico microbiológico, debe informarse previamente al químico de laboratorio clínico, de manera que exista una coordinación con el especialista en endodoncia para emplear el uso de medios de transporte especiales que permitan la viabilidad de los microorganismos hasta ser sembrados en los medios de cultivo selectivos. Guilarte C. (2002) menciona que en laboratorios de microbiología especializados, la identificación de microorganismos de la cavidad bucal, también se realiza por pruebas de cromatografía gas-líquido, inmunofluorescencia directa, ELISA y sondas de ADN. Estas pruebas han sido utilizadas para detectar especies de *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Candida*, entre otros microorganismos.

Guilarte C. Importancia del Diagnóstico Microbiológico en Odontología. Acta Odontológica Venezolana. 2002; 40 (1).

La biometría hemática es uno de los elementos diagnósticos básicos para la valoración de las células hematológicas, el cual nos sirve como medio de diagnostico para la valoracion de enfermedades endodonticas, aunque con poco uso este elemento, los especialistas en el area de la salud orofacial debemos darle a la importancia a esta herramienta que no solo es de uso en el area medica, lo cual hace una inmensa diferencia entre el dentista general y el especialista ya que con el conocimiento de estos valores no unicamente se detectan enfermedades en pacientes con quimioterapia o radioterapia, enfermedades con sindrome anemico, febril o purpúrico sino que tambien es util en cuanto a enfermedades de origen endodontico y periodontal. Lo que hara una diferencia en cuanto al conocimiento del endodoncista el cual complementara su conocimiento. Los principales resultados obtenidos en este estudio fueron los siguientes: células, linfocitos, neutrófilos, etc., el cual por sus valores nos Indica un proceso de infección, sistémico. Por otra parte, se realizo un análisis de cuantitativo de proteína C reactiva, como un indicador sistémico de la inflamacion, el cual es un fenómeno fisiopatológico de “emergencia” que aparece al desequilibrarse ciertos mecanismos homeostáticos, forma parte

de la inmunidad innata y su síntesis es inducida como respuesta al daño tisular, infecciones, procesos inflamatorios y neoplasias además de ser un predictor de riesgo cardiovascular. Sin embargo en evarios estudios nos indican que sus valores no son determinantes en su totalidad. Sin embargo es en algunos pacientes un indicador de gran utilidad sobre todoo aquellos con enfermedades cardiovasculares.

Se deben realizar tratamientos endodónticos tomando en cuenta todos estos mecanismos, haciendo de nuestra practica un procedimiento “ quirúrgico-terapéutico-medicamentoso-molecular” y no solo un tratamiento endodóntico para prevenir, anular y combatir la infección contenida en los conductos principales, en los latero-apicales y en los conductos dentinarios; estimular la curación de los tejidos periapicales y recuperar el sistema de inserción.

En relación al ensayo de PCR los resultados obtenidos en este caso clínico fueron negativos. Se sabe que en individuos sanos, la concentración media de PCR es de 0.8 mg/L mientras que durante un estímulo de fase aguda, estos niveles pueden incrementar hasta mas de 10,000 veces su valor normal. Al no haber detección de esta proteína en suero del paciente con diagnóstico de necrosis pulpar, nos podría indicar que esta no se activa como parte de la inmunidad innata ante este tipo de lesión. Cabe destacar que la determinación de PCR fue a nivel sistémico.

8. CONCLUSIONES.

1. El análisis de la citometría permitió valorar el incremento de ciertas células del sistema inmune que se expresan cuando existe una infección pulpar.
2. El análisis microbiológico realizado en este estudio demostró la falta de ensayos estandarizados para el aislamiento y reconocimiento de bacterias de origen periapical.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTIST (2013)
2. GRAVES Dana T.; OATES Thomas; GARLET Gustavo P. (2011) «Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions». *Journal of Oral Microbiology*, 3:, 1-15.
3. STAUDT Greta S.; GALIĆ Nada; KATUNARIĆ Marina; CIGLAR Ivana, DAVOR Katanec. (2001) «Inmunopatogenesis of Chronic Periapical Lesions». *Acta Stomat Croat*, 35, 127-131.
4. SIQUEIRA J. F. JR.; RÔÇAS I. N. (2005) «Exploiting Molecular Methods to Explore Endodontic Infections: Part 2-Redefining the Endodontic Microbiota» *JOE* 31, 7, 488-498.
5. SIQUEIRA J.F. Jr.; RÔÇAS I. N. (2009) «Diversity of Endodontic Microbiota Revisited». *J Dent Res* 88 (11): 969-981.
6. LI X.; ZHU X.; ZHANG C.; CATHRO P.; CJ SENEVIRATNE; SHEN S.; (2013) «Endodontic bacteria from primary and persistent endodontic lesion in Chinese patients as identified by cloning and 16S ribosomal DNA gene sequencing» *Chin Med J* 126 (4): 634-639
7. TORRIJOS E. A.; HERNÁNDEZ S. A. (2006) «Protocolo diagnóstico de las lesiones osteoblásticas y osteolíticas» *Protocolos de Práctica Asistencial Medicina* 9(60):3922-3926
8. CRAIG B. J. (2004) «Microbiological and molecular analysis of endodontic infections» *Endodontic Topics* 7, 35-51.
9. NAIR P.N.R. (2004) «Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures» *Crit Rev Oral Bio Med* 15(6): 348-381.
10. SUNDQVIST G.; FIGDOR D.; (2003) «Life as an endodontic pathogen» *Endodontic Topics Blackwell Munksgaard* 6, 3-28.
11. GOMES B. P.F.A.; ENDO M.; MARTINHO C. F. (2012) «Comparison of Endotoxin Levels Found in Primary and Secondary Endodontic Infections» *JOE*, 38, 8, 1082-1086.
12. SIQUEIRA J.F. Jr.; RÔÇAS I. N. (2007) «Bacterial Pathogenesis and Mediators in Apical Periodontitis» *Braz Dent J* 18(4) 267-280.
13. PEČIULIENE V.; MANELIENE R.; BALCIKONYTE E.; DRUKTEINIS S.; RUTKUNAS V. (2008) «Microorganisms in root canal infections: a review» *Stomatologia, Baltic and Maxillofacial Journal*,10:4-9.
14. SIQUEIRA J.F. Jr.; RÔÇAS I. N. (2008) «Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures» *JOE* 34, 11, 1291-1301.
15. YASHUIRO I.; TAKUIHI S.; KEIKO Y.; GEN M.; KAZUIRO H.; HIDETOSHI S.; NOBUHIRO T.; (2012) «Microflora Profiling of infected root canal before and after treatment using culture-independent methods» *The Journal of Microbiology, Society of Korea*. 50, 58-62.
16. LOVE R. M.; JENKINSON H. F.; (2002) «Invasion of dentinal tubules by oral bacteria» *Crit Rev Oral Biol Med* 13(2): 171-183.
17. CLEELAND C. S.; BENNET G. J.; DANTZER R.; DOUGHERTY P. M.; DUNN A. J.; MEYERS C. A.; MILLER A. H.; PAYNE R.; REUBEN J. M.; WANG X. S.; LEE B. N. (2003) *American Cancer Society* 97, 11, 2919-2925.
18. SCHOLAR; PRATT. (2000) «Antibiotics»
19. PARKIN J.; COHEN B. (2001) «An overview of the immune system» *The Lancet* 357, 1777-1789.
20. LEDESMA M. C.; GARCÉS O. M; ROSALES G. G.; HERNANDEZ G. J. C. (2004) «Importance of mast cells in human periapical inflammatory lesions» *Journal Of Endodontics* 30, 12, 855-859.
21. OLIVEIRA R. C.; CARVALHO B. A.; SOARES L. V.(2004) «Comparative immunohistochemical study of the presence of mast cells in apical granulomas and periapical cysts: Possible role of mast cells in the course of human periapical lesions» *Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod* 97: 59-63.
22. LO-HAN C.; LIEWEHR F. R. (2007) « Update on the Adaptative Inmune Response of the Dental Pulp» *JOE* 33, 7, 773-781.
23. BRANDAN N. (2007) «Cátedra de Bioquímica» *Fac. de Medicina UNNE*. 1-17.
24. RIANCHO J. A.; DELGADO C. J. (2011) «Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto» *Reumatol Clin*. 7(S2):S1-S4.
25. BEZERRA DA SILVA R. A.; FERNANDES F. P. A.; ROSSI A.; NELSON FILHO P.; BEZERRA SILVE L. A. (2012) «Toll-Ike Receptor 2 Knockout Mice Showed Increased Periapical Lesion Size and Osteoclast Number» *JOE*, 38, 6, 803-813.
26. HAYASHI F.; MEANS T.; LUSTER A. D. (2003) «Toll-like Receptors stimulate human neutrophil function» *Blood* 102:2660-2669.

27. HIRAO K.; YUMOTO H.; TAKAHASHI K.; MUKAI K.; NAKANISHI T.; MATSUO T. (2009) «Roles of TLR2, TLR4, NOD2, and NOD1 in pulp fibroblast.» *J Dent Res Pub Med* 88(8):762-7.
28. KUMAR H.; KAWAI T.; AKIRA S. (2009) «Toll-like Receptors and innate immunity» *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1-5.
29. BORISH C.L.; STEINKE D.W. (2003) «Cytokines and chemokines» University of Virginia Health System. S460-S475.
30. GARLET G. P. «The Role of Chemokines and Cytokines in the Pathogenesis of Periodontal and Perioapical Lesions: Current Concepts» *Department of Biological Sciences, School of Dentistry of Bauru, Universidade de São Paulo Brazil* 219-236.
31. GRAUNAITE I.; LODIENE G.; MACIULSKIENE V. (2011) «Pathogenesis of Apical Periodontitis: a Literature Review» *J Oral Maxillofac Res* 2, 4, 1-15.
32. ROMERA E.; PERENA M. J.; PERENA M. F.; RODRIGO M. D. (2000) «Neurofisiología del dolor» *Rev. Soc. Esp. Dolor* 7: II, 11-17.
33. QUEIROZ-JUNIOR C. M.; BARBOSA S. M. J.; DIAS C. J.; FERNANDES M. M. M.; POMPERMAIER G. T.; POMPERMAIER G. G.; QUEIROZ C. F.; MARTINS T. M.; DA SILVA T. A. (2010) «A Controversial Role for IL-12 in Immune Response and Bone Resorption at Apical Periodontal Sites» *Clinical and Developmental Immunology Article ID 327417*, 1-8.
34. BROERE F.; APASOV S. G.; SITKIVSKY M. V.; EDEN W. (2011) «T cell subsets and T cell-mediated immunity» *Principles of Immunology: 3rd revised and extended edition. Springer* 15-27.
35. MIKAN J. F. (2007) «Osteoclastogénesis y enfermedades óseas» *Revista Med de la Facultad de Medicina* Vol. 15, No. 2, 261-270.
36. MENEZES R.; POMPERMAIER G. T.; LETRA A.; MONTEIRO B. C.; CAMPANELLI A. P.; FIGUEIRA R.; SOGAYAR M. C.; GRANJEIRO J. M.; POMPERMAIER G. G. (2008) « Differential Patterns of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Expression in Human Periapical Granulomas: Possible Association with Progressive or Stable Nature of the Lesions» *JOE* 34,932-938.
37. SPRINGAL V. M. R.; BOJALIL P. R (2006) «Proteína C reactiva: más que un marcador sistémico de inflamación» *Departamento de Inmunología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"* 37-41.

10. ANEXOS.

10.1. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TRATAMIENTO ENDODÓNTICO DRA. SANDY NEGRETE MARES

Fecha: 11 DE ABRIL 2014.

Nombre del Paciente: **PAULO CÉSAR CASTAÑAS ALVA**

INFORMACIÓN GENERAL

- Informar al odontólogo sus antecedentes médicos y cualquier cambio en su estado de salud general.
- Asistir cumplidamente a sus citas de revisión.
- En caso de haberle aplicado anestesia, evitar morderse el labio o carrillo anestesiado.
- Solicitar cita de control cada año para mayores de 20 años y cada 6 meses hasta los 19 años. (opcional).
- Informar siempre al odontólogo, si es alérgico(a) a algún medicamento o ha tenido antecedentes de alergia a la anestesia local.

ENDODONCIA: Actividad que busca tratar la patología pulpar generalmente con eliminación del nervio afectado en el diente y la posterior preparación y selle del conducto **COMPLICACIONES Y/O RIESGOS.**


- Perforaciones dentales.
- Aumento o aparición de lesión en el hueso, que puede llegar a requerir cirugía apical.
- Dolor post-operatorio, aparición de absceso o fístula, inflamación o edema.
- Material de obturación sobrepasado al hueso, no puede ser removido durante el procedimiento, puede llegar a necesitar cirugía apical.
- Debilidad del diente con mayor riesgo de fracturas que un diente vital.
- Infección y dolor en caso de interrumpir el tratamiento antes de finalizada la endodoncia.
- Recidiva de reabsorción interna o externa.
- Fracturas de instrumentos dentro del conducto.
- Cambio de color en el diente.
- Ingestión de materiales o instrumental durante el procedimiento.
- Subextensión de material de selle.
- Sangrado, laceraciones o quemaduras en el tejido producidas por instrumental o químicos utilizados durante el procedimiento.
- Lipotimia (desmayo)

RECOMENDACIONES QUE LE APLICAN

- Daño óseo por paso de líquidos desinfectantes a través del ápice.
- Durante el tratamiento de la endodoncia si se desaloja el cemento temporal que aísla el conducto, se debe consultar inmediatamente con el odontólogo.
- Pedir cita par la restauración definitiva del diente tratado con endodoncia a más tardar un mes después de terminado el tratamiento.
- En tratamientos de endodoncia, no interrumpir el tratamiento y asistir cumplidamente a todas las citas hasta finalizar el tratamiento.
- Solicitar control clínico o radiográfico según indicaciones del odontólogo o acudir cumplidamente a la cita de control asignada.
- Tomar todos los medicamentos ordenados por el odontólogo en forma que está en la prescripción, si ocurren reacciones desagradables (rasquiña, dolor estomacal, brote, etc.), debe suspender el medicamento y comunicarse con el odontólogo.

- Acudir al odontólogo si presenta edema, absceso y/o dolor a nivel del área intervenida. Evitar citas con otros odontólogos ya que el odontólogo responsable debe solucionar el problema sin alguna otra intervención ajena sin su consentimiento o fuera de su consultorio.
- Si el diente a tratar lleva colocada una corona de porcelana o alguna restauración será necesario retirarla o atravesarla para poder llevar a cabo dicha endodoncia, existiendo un riesgo de rotura que deberá asumir.
- Ocasionalmente el diente puede requerir tratamientos adicionales, como procedimientos de cirugía bucal, que significan un costo y riesgo anexos, sin embargo siempre tendré la oportunidad de decidir la continuidad del tratamiento.

Otorgo mi consentimiento libre a la Dra. Sandy Negrete Mares (Endodoncista) Para que directamente y con el concurso de sus asistentes o demás profesionales que se requieran me practique el procedimiento de acuerdo al diagnóstico y plan de tratamiento. Además de todos los procesos que se tengan que realizar para esta investigación en la cual doy consentimiento para participar en dicha investigación. He sido informado(a) suficientemente a cerca de las instrucciones pre y post procedimiento con claridad, me han sido advertido los riesgos y secuelas eventuales y posibles dentro del margen racional y conocimiento odontológico.



FIRMA DEL PACIENTE

10.3. RESULTADOS DE LA BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA.

LABORATORIO DE ANÁLISIS
Monarca

García Obeso No. 289
Centro
Tel/fax. 01(443) 313 2453
Morelia, Mich.

Doctor: SANDY NEGRETE MARES

Date : 2014-04-12
Time : 10:48:47
UserID: ALEJANDRA

IDMuestra 1204140006 Sexo M Edad 35 años 10 Meses 30 Días
IDPaciente6 Nombre de Paciente PAULO CESAR CASTAÑAS ALVA

WBC 6.07 * $10^3/\mu\text{L}$ 4.80 - 10.80
RBC 5.64 $10^6/\mu\text{L}$ 4.00 - 6.00
HGB 16.56 g/dL 14.00 - 18.00
HCT 47.76 % 42.00 - 54.00
MCV 84.69 fL 80.00 - 100.00
MCH 29.37 pg 27.00 - 31.00
MCHC 34.68 g/dL 33.00 - 37.00
RDW 10.54 L % 11.60 - 13.70

NE 51.80 * %
LY 34.60 * %
MO 9.70 * H %
EO 1.30 * %
BA 2.60 * HH %
ALT 5.43 * HH %
IMM 1.44 * H %

45.00 - 65.00
24.00 - 38.00
4.00 - 8.00
1.00 - 4.00
0.00 - 1.00
0.00 - 1.00

WBC: IMM ATL
SL SL1
RBC:
PLT:
No Interpretation

PTL 145.00 $10^3/\mu\text{L}$ 130.00 - 400.00
VPM 10.11 fL 7.00 - 11.00
PCT 0.15 L % 0.19 - 0.36
PDW 19.50 HH % 15.50 - 17.10

Vol

Abs

ERI

PTL

LEU\BASO

VSG: --- mm/hr

	TOTAL	POR CIENTO	VALORES DE REFERENCIA
SEGMENTADOS	3 540	59	45 - 65 %
BANDAS	0	0	0 - 5 %
LINFOCITOS	2 160	36	24 - 38 %
MONOCITOSIS	300	5	4 - 8 %
EOSINOFILOS	0	0	1 - 4 %
BASOFILOS	0	0	0 - 1 %

OBSERVACIONES : SIN ANORMALIDADES

QUIMICO SUPERVISOR

10.3. RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.

LABORATORIO DE ANÁLISIS
Monarca 

García Obeso No. 289
Centro
Tel/fax. 01(443) 313 2453
Morelia, Mich.

DR. SANDY NEGRETE MARES
PACIENTE: PAULO CESAR CASTAÑAS ALVA
EDAD: 35 AÑOS
FECHA DE TOMA: 12-04-14
FECHA DE ENTREGA: 16-04-14

CULTIVO DE ABSCESO DE ENCIA

BACTERIOSCOPICO: Se observó moderada cantidad de cocos Gram positivos.

Cultivándose en medios selectivos y habituales.

Se observo escaso desarrollo de: **Streptococcus viridans.**
(Biota habitual en cavidad bucal)

Nota: los estudios de laboratorio son pruebas biológicas por lo tanto están expuestas a variaciones por diversos factores; alimentación, sustancias, horario, ejercicio, medicamentos, etc. Para una adecuada interpretación deben evaluarse junto con la información clínica y con otros parámetros de laboratorio. Debe consultar con su médico


QUIMICO SUPERVISOR

10.4. ANÁLISIS DE PROTEÍNA "C" REACTIVA.

LABORATORIO DE ANÁLISIS
Monarca

García Obeso No. 289
Centro
Tel. 01 (443) 317 8322
Tel/fax. (443) 313 2453
Morelia, Mich.

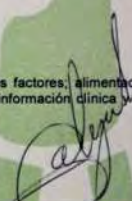
DRA. SANDY NEGRETE MARES
PACIENTE: PAULO CESAR CASTAÑAS ALVA

FECHA: 12-04-14
EDAD: 35 AÑOS

PROTEINA "C" REACTIVA

RESULTADO: **NEGATIVO**

Nota: Los estudios de laboratorio son pruebas biológicas por lo tanto están expuestas a variaciones por diversos factores, alimentación, sustancias, horario, ejercicio, medicamentos, etc. Para una adecuada interpretación deben evaluarse junto con la información clínica y con otros parámetros de laboratorio. Debe consultar con su médico.


QUIMICO SUPERVISOR