

FACULTAD DE ODONTOLOGIA
UNAM

120
rej.



PRESENCIA DE BACTERIAS
EN GRANULOMAS
PERIAPICALES HUMANOS

T E S I S

CIRUJANO DENTISTA

Leonardo Gutiérrez Jiménez
Julio Díaz Díaz

1992.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	1
OBJETIVO DEL ESTUDIO	19
MATERIAL Y METODOS	19
RESULTADOS	23
DISCUSION	34
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA	39

INDICE DE TABLAS

TABLA 1	
RELACION DE CASOS POR SEXO	23
TABLA 2	
RELACION DE CASOS POR EDAD	23
TABLA 3	
FACTOR ETIOLOGICO DE LOS 100 CASOS EN ESTUDIO	24
TABLA 4	
DIENTES INVOLUCRADOS CON LA PRESENCIA DE GRANULOMAS	25
TABLA 5	
PRESENCIA DE BACTERIAS EN GRANULOMAS PERIAPICALES	32
TABLA 6	
CORRELACION ENTRE LA PRESENCIA Y LA LOCALIZACION DE LAS BACTERIAS CON SU POSIBLE AGENTE CAUSAL	33

INDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1

**PRODUCCION DE ENFERMEDAD PULPAR
SELTZER Y COLS. 1987 2**

ESQUEMA 2

**PRODUCCION DE ENFERMEDAD PERIAPICAL
SELTZER Y COLS. 1987 3**

ESQUEMA 3

**MECANISMO DE FORMACION DE GRANULOMAS Y/O QUISTES PERIAPICALES
PORTILLA Y COLS. 1987 6**

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1

IMAGEN RADIOGRAFICA DE UN GRANULOMA 11

FIGURA 2

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE HEMATOXILINA-EOSINA VISTO AL MICROSCOPIO CON UN AUMENTO DE 40X 26

FIGURA 3

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE BROWN-BRENN A 40X (NO SE ENCONTRARON BACTERIAS) 27

FIGURA 3a

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE BROWN-BRENN A 100X (NO SE ENCONTRARON BACTERIAS) 28

FIGURA 4

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE BROWN-BRENN A 40X (SI SE ENCONTRARON BACTERIAS EN EL CENTRO DE LA LESION) 29

FIGURA 4a

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE BROWN-BRENN A 100X (SI SE ENCONTRARON BACTERIAS EN EL CENTRO DE LA LESION) 29

FIGURA 5

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCION DE BROWN-BRENN A 40X (NO SE ENCONTRARON BACTERIAS) 30

FIGURA 5a

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCIÓN DE BROWN-BRENN A 100X (NO SE ENCONTRARON BACTERIAS) 30

FIGURA 6

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCIÓN DE BROWN-BRENN A 40X (SI SE OBSERVARON BACTERIAS PERO EN LA PERIFERIA DE LA LESION) 31

FIGURA 6a

GRANULOMA PERIAPICAL CON TINCIÓN DE BROWN-BRENN A 100X (SI SE OBSERVARON BACTERIAS PERO EN LA PERIFERIA DE LA LESION) 31

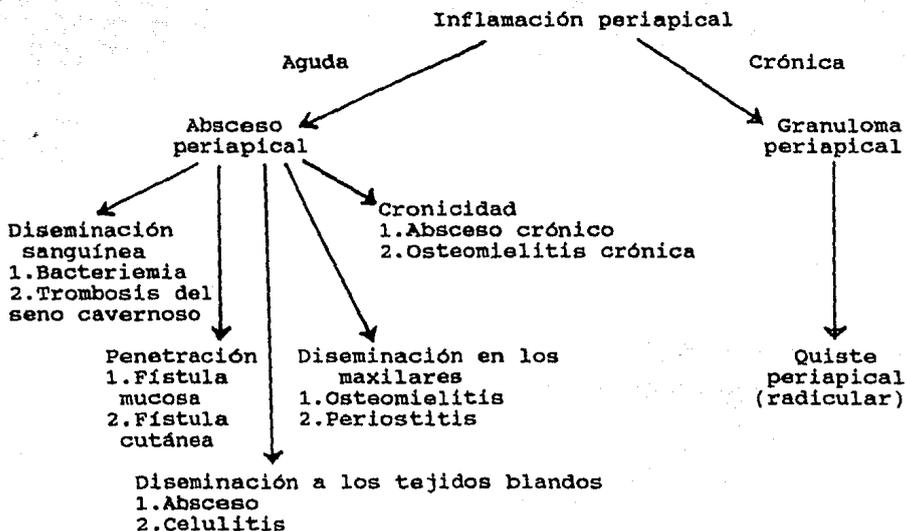
ANTECEDENTES

El conocimiento de los diferentes factores que pueden ocasionar lesión pulpar y periapical, así como el mecanismo de producción y desarrollo de ellas, son conceptos básicos para establecer el diagnóstico y el tratamiento de una enfermedad.

Trowbridge (1), describe que la causa básica de la inflamación crónica, es la persistencia de factores etiológicos que son difíciles de eliminar por el organismo y describe los siguientes agentes causantes: Agentes infecciosos, componentes bacterianos, remanentes de microorganismos muertos, cuerpos extraños, productos del metabolismo, reacciones inmunes y causas desconocidas.

Los agentes físicos, químicos y biológicos, teniendo entre estos últimos las bacterias, son los factores que se señalan con mayor frecuencia como causantes del daño pulpar con la consecuente reacción periapical; los productos tóxicos de descomposición celular del tejido pulpar como la putrescina y la cadaverina, el gas sulfhídrico, sustancias grasas, los microorganismos y sus toxinas ejercen una acción lesiva constante sobre los tejidos periapicales (2).

El tipo de reacción periapical, principalmente si es de etiología microbiana, está en relación directa con la severidad del factor causal, la virulencia del microorganismo, así como la capacidad defensiva del tejido huésped. Las lesiones periapicales crónicas de origen pulpar, son áreas de inflamación como respuesta al contenido del canal radicular (3, 4). Los agentes nocivos



Esquema 2.- Producción de enfermedad periapical. Seltzer y cols. 1987.

Leonardo y cols (8), mencionan que los productos tóxicos de descomposición pulpar asociados a microorganismos de baja virulencia, ejercen una irritación directa y persistente en los tejidos periapicales; encontrando suficientes mecanismos de defensa por parte del huésped para detener el daño, de no ser así, nos encontramos con un proceso inflamatorio periapical de tipo agudo denominado absceso periapical, que consiste en un infiltra-

do básicamente de polimorfonucleares, que puede evolucionar hacia la cronicidad formando tejido de granulación cuya finalidad es crear una barrera de protección que "neutraliza los productos tóxicos y antigénicos arrojados más allá del foramen apical". Este equilibrio se podrá mantener durante años; a ésta forma de reacción se le llama granuloma (8).

Un granuloma periapical es una variedad de inflamación crónica (granulomatosa) que puede definirse como una acumulación focal de células inflamatorias y elementos reactivos; se inicia en el ligamento periodontal y crece a expensas del hueso de soporte del diente. El conducto infectado es la fuente continua del material antigénico, cuando los linfocitos han tenido contacto previo con estos antígenos y se encuentran sensibilizados, inician la producción de citocinas, las que son capaces de inducir la acumulación local de células inflamatorias, activan a los macrófagos y los retienen en la lesión. Diversos estudios de lesiones periapicales en humanos (9), han demostrado que las células que predominan son los linfocitos T y los macrófagos; cuando el granuloma crece, da como resultado reabsorción ósea, al mismo tiempo ocurre aposición ósea dentro de la misma lesión, sugiriendo que tanto los osteoblastos como los osteoclastos se activan desde el principio (1). El granuloma es una estructura rica en vasos sanguíneos con una intensa población fibroblástica que junto con las fibras colágenas forman una cápsula fibrosa que sirve de límite al granuloma (8,10).

Stern y cols (9), hicieron el análisis cuantitativo celular diferencial de 33 granulomas periapicales humanos, repor-

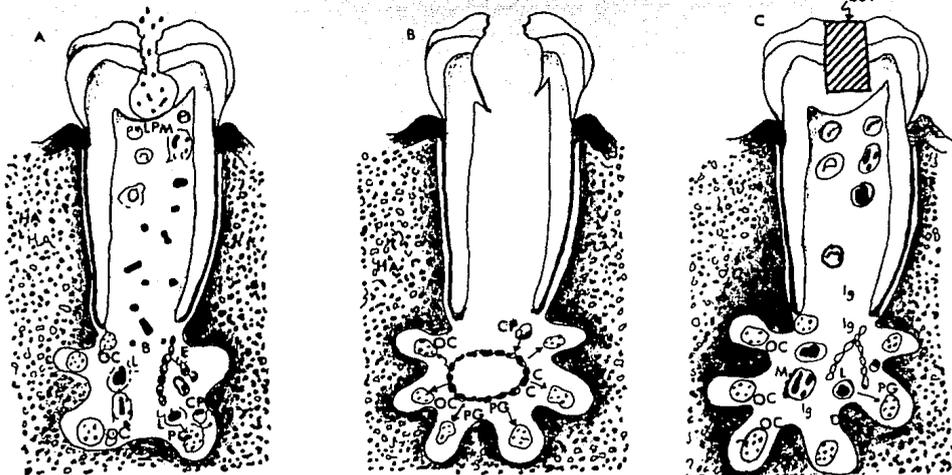
taron un 47% de macrófagos, 32% de linfocitos 13% de células plasmáticas y 8 % de neutrófilos. Torabinejad y cols.(11) en 13 lesiones periápicales de humanos utilizando la técnica de inmunoperoxidasa indirecta detectaron la presencia de linfocitos T y B demostrando que el número mayor de células era de linfocitos T y una pequeña proporción de linfocitos B.

La condición esencial para la formación de esta entidad patológica es la existencia de una irritación constante, generalmente de baja intensidad, proveniente del conducto radicular asociado a la resistencia orgánica disminuída (8).

Según Regezi(12), el granuloma periapical representa un foco discreto de tejido de granulación inflamado de manera crónica y localizado en el hueso circundante al ápice de un diente, que se produce como respuesta a la necrosis del tejido pulpar; la presencia de epitelio es un hallazgo frecuente en los granulomas que presumiblemente se desarrolla de los restos epiteliales de Malassez, los cuales tienen una capacidad latente de activarse y proliferar. Esta proliferación epitelial formará la cubierta que constituirá al quiste, denominándolos granulomas de transformación quística (8). Esquema 3.

GRANULOMA PERIAPICAL

QUISTE PERIAPICAL



- A) Formación de granulomas mediante el paso de toxinas a través de los túbulos dentinarios, sin existir comunicación pulpar directa.
- B) Mecanismos de formación de quiste periapical por la estimulación de restos epiteliales en pulpas expuestas.
- C) Formación de granulomas sin presencia de elementos bacterianos, donde el estímulo agresivo (EST) puede alterar proteínas o iniciar reacciones que desencadenan una respuesta de hipersensibilidad y/o autoinmunidad, de tal modo que la acumulación de complejos antígeno-anticuerpo dan lugar a la formación de granulomas.

L.P.M.: polimorfonuclear; M: macrófago; CP.: células plasmáticas; O.C.: osteoclasto; L: linfocito; E: epitelio; PG: prostaglandinas; IG: inmunoglobulina; C: cápsula fibrosa; H.A: Hueso alveolar; B: bacterias.

Esquema 3.- Mecanismo de formación de granulomas y/o quistes periapicales. Portilla y cols. 1987.

En la génesis de las lesiones pulpares y periapicales, juegan una papel importante las bacterias presentes (4,5,13,14) por lo tanto, la persistencia de una respuesta inflamatoria aguda, crónica ó granulomatosa en los tejidos periapicales, está en relación directa con la presencia de bacterias en el canal radicular y en el área periapical (4,10,15). Langeland (14), reporta el hecho de que las bacterias aparecen únicamente en regiones necróticas de la pulpa ó en tejidos periapicales. Por otra parte, aunque la presencia de bacterias en granulomas periapicales ya está comprobada (13), diversos estudios demuestran que estos pueden ser estériles (7,10,16).

Aún cuando los mecanismos básicos específicos que se presentan en el granuloma periapical no son comprendidos totalmente, se atribuye a las bacterias un importante papel en su génesis, Como ya se mencionó anteriormente y según Winkler y cols.(17), existe una relación directa entre la presencia de bacterias en el canal radicular y la resolución clínica y radiográfica de las lesiones periapicales.

Noite (18), menciona que los microorganismos invaden el tejido pulpar necrótico a través de túbulos dentinarios; esta afirmación ha sido comprobada en estudios realizados in vitro con cultivos de *Serratia marcescens* y estreptococos hemolíticos bucales, también se apoya clínicamente por el hecho de que dientes con cultivos bacterianos negativos antes del sellado de la cámara pulpar y los conductos radiculares, tienen mejor resultado, que aquellos con cultivos positivos.

Tagger y Massler (15), sugieren que los irritantes de

los tejidos periapicales tienen su origen en el tejido pulpar necrótico y en la difusión de productos en descomposición. Estos autores observaron que los ápices radiculares estériles obturados e implantados en conejos eran bien tolerados. En cambio, los ápices estériles pero no obturados implantados de la misma manera producían irritación en los tejidos. Así, los productos metabólicos acumulados y los componentes celulares de los elementos microbianos junto con los elementos autolíticos y restos celulares de los tejidos pulpares son los que proporcionan el irritante; pero en última instancia, la naturaleza de la reacción dependerá de muchos factores relacionados con el huésped. La evolución del proceso infeccioso está determinado por múltiples factores, entre los que cabe señalar los aspectos anatómicos como diámetro del conducto pulpar, daño al orificio apical, presencia de conductos accesorios y factores relacionados con la fagocitosis, mecanismos bacteriostáticos y bactericidas del exudado, así como el ambiente químico cambiante a nivel del sitio de reacción.

En muchos casos, el papel relativamente exagerado que parecen desempeñar los microorganismos en el desarrollo de las lesiones apicales, depende en gran parte del grado en el cuál los procedimientos endodóncicos perturban el equilibrio entre el huésped y el parásito.

La posible participación bacteriana en el granuloma periapical también ha sido abordado experimentalmente. A la fecha se han desarrollado modelos experimentales en animales habiéndose logrado producir granulomas periapicales mediante la exposición de tejido pulpar al medio ambiente pulpar (19,29).

Lasala y Winkler (17,20), menciona que los microorganismos pueden alcanzar el tejido pulpar, por tres vías distintas:

1.- A través de la dentina, ya sea por la dentina infectada en caries profunda o radicular; por medio de la delgada capa de dentina prepulpar en fracturas coronarias o una herida pulpar (pulpa expuesta) en fracturas penetrantes.

2.- A través de fisuras o defectos de formación en órganos dentarios, como en el dens invaginatus.

3.- A través de conductos accesorios pulpares, por conductos laterales o por vía linfática periodontal; ó por medio del delta y forámen apical asociándose a parodontopatías muy avanzadas con bolsas y abscesos periodontales profundos.

4.- Por otras vías como la hematógena, aunque se admite teóricamente que es excepcional la infección pulpar por esta vía con la pulpa sana y bien nutrida sin previa lesión del esmalte y dentina.

5.- Por el fenómeno de anacoresis, o sea, por la invasión y colonización de gérmenes en la zonas de menor resistencia y en pulpas que después de recibir agresión (por caries avanzada, traumatismos diversos, extensa preparación de cavidades o acciones citocásticas por diversos fármacos o materiales de obturación) han iniciado procesos degenerativos, regresivos y de defensa tardía o atípica, no pudiendo oponer resistencia alguna a los microorganismos invasores debido a su precaria nutrición y labilidad defensiva.

Originalmente el término Granuloma (1) fue usado para

describir una entidad que presentaba cuerpos granulares, que se observó en los tejidos de pacientes con tuberculosis.

Desde el punto de vista histológico un granuloma es una lesión inflamatoria circunscrita, que consiste usualmente en acumulación de macrófagos y linfocitos y que pueden presentar un número variable de células plasmáticas, neutrófilos, células gigantes, eosinófilos y células cebadas; algunas de las células inflamatorias en los granulomas, están comprometidas con la fagocitosis, mientras que otras juegan un papel inmunológico. Todo esto dentro de un estroma de tejido conjuntivo.

Existen diferentes tipos de granulomas los cuales tienen características únicas, por ejemplo, el granuloma central de células gigantes, el granuloma eosinófilo, el granuloma piógeno, el granuloma tuberculoso y el granuloma periapical (1).

Una de las características clínicas del granuloma periapical es que los dientes afectados no responden a las pruebas de vitalidad pulpar eléctrica ó térmica. Generalmente son asintomáticos (10), pero eventualmente, los dientes portadores de granulomas, pueden presentar algunos síntomas como ligero dolor a la percusión y sensibilidad a la palpación a nivel del ápice radicular. Generalmente, éstos elementos aparecen en los casos en los que el proceso inflamatorio crónico sufre un episodio de agudización (8), y por lo general, el pronóstico es siempre favorable al diente, dado que existen condiciones para el tratamiento del conducto radicular. (8).

El principal elemento para el diagnóstico es el examen radiográfico a través del cuál se observará una rarefacción ósea

circunscrita. Pucci, agrega que esta imagen además del contorno nítido y del fondo radiolúcido, presenta una forma irregular, con tendencia al contorno oval, y su inserción está envolviendo la raíz en dirección al tercio medio. Muchas veces existe también una tenue línea radio-opaca que contornea la imagen de los granulomas. Fig 1.



Figura 1.- Imágen radiográfica de un granuloma.

Cuando se elimina el factor irritante se llevan a cabo fenómenos de reparación y cicatrización. Como el proceso inflamatorio crónico en este caso es la respuesta del tejido periapical a un daño de baja intensidad y de larga duración, se producirá reabsorción ósea por activación de los osteoclastos que a su vez

son estimulados por las linfocinas liberadas por los linfocitos activados; según Leonardo y cols.(8), tiene dimensiones que varían desde el tamaño de la cabeza de un alfiler hasta ocho o diez milímetros y a veces más, dependiendo del tipo, tiempo de aplicación e intensidad del agente irritante (8).

Una vez efectuado el tratamiento biomecánico y la obturación de los conductos pulpares, teóricamente, no existirán los agentes que desencadenaron la reacción inflamatoria defensiva en los tejidos periapicales. De este modo, se iniciará el proceso de reparación de éstos tejidos, que se llevará a cabo por un período de 2 años o más. (8).

Portilla y cols. (21), mencionan que numerosas sustancias potencialmente irritantes se producen durante el metabolismo microbiano: enzimas, aminos, ácidos, productos de degradación de proteínas y fragmentos de pared celular; De tal forma, que los productos de la inflamación pueden participar en la inducción, mantenimiento o agravamiento de la misma reacción inflamatoria en el ápice dental. Aunque la colágena natural no es agente causal de la reacción inflamatoria, los residuos de colágena alterada enzimáticamente, como pudiese suceder durante los procesos cariosos pueden ser iniciadores de la respuesta inmune. A su vez Robertson y cols (16), mencionan que las respuestas inmunológicas modifican la reacción tisular local ya que los complejos antígeno-anticuerpo activan el complemento aumentando la respuesta inflamatoria local y el daño vascular. De esta manera es posible suponer que la inflamación granulomatosa destructiva, asociada a muerte pulpar dental, podría ser una reac-

ción inmunológica al daño pulpar.

Teóricamente, los microorganismos son una precondition para el desarrollo de lesiones periapicales; sin embargo el número de bacterias aisladas de los conductos radiculares es limitado. Melville y col.(22), reportaron que en conductos radiculares infectados están presentes las mismas bacterias que habitan la cavidad oral y que dichos microorganismos son antígenos poderosos capaces de desencadenar el desarrollo de inmunidad celular y humoral. Aunque éstos microorganismos no invaden directamente el tejido periapical Grossman (3), actúan como antígenos para aquellos sujetos que se sensibilizan, de manera que el canal radicular con su ápice de apertura restringida, puede actuar como un depósito que repetidamente libera irritantes locales a la región periapical provocando inflamación crónica no específica, ó bien reacciones inmunes desarrolladas en respuesta a los antígenos emanados del canal radicular.

Melville y col. (22), en un estudio realizado sobre flora microbiana del canal radicular y del área periapical, comentan:

Que es necesario realizar cultivos de anaerobios y aerobios del área periapical.

Que el área periapical puede ser estéril, aún cuando las bacterias estén presentes en el conducto radicular.

Que la flora periapical, cuando existe, es usualmente idéntica o forma parte de la flora del conducto radicular.

Generalmente, las bacterias encontradas dentro de la pulpa y tejidos periapicales, son más abundantes los cocos que

las formas espirales y los bacilos.

Así, los microorganismos aislados con mayor frecuencia de los conductos radiculares son los estreptococos que representan las tres o cuatro divisiones principales en las especies aerobias y anaerobias activas del género *Streptococcus*, aunque también se aislaron anaerobios obligados del género *Peptostreptococcus*.(28). Los estreptococos predominantes son alfa o viridans, seguidos por los estreptococos beta o gama hemolíticos, o estreptococos indiferentes, incluyendo a los enterococos; además hay un porcentaje pequeño de estreptococos hemolíticos (sobre todo los miembros del grupo H, K y estreptococos anaerobios). La especie aislada con más frecuencia de conductos radiculares son los estreptococos faecalis.(28).

Los microorganismos que tienden a persistir en los conductos pulpares después de varios tratamientos, constituyen la amenaza principal como patógenos reales o potenciales.

Así, los anaerobios forman parte de casi las dos terceras partes de todos los microorganismos aislados ya que la presencia del tejido necrótico, disminuye el potencial de oxidación, lo cual favorece al crecimiento anaerobio.

No está bien establecido qué cepas de microorganismos son importantes en la inducción de granulomas periapicales sin embargo, se han reportado diferentes cepas de bacterias en conductos radiculares con lesiones periapicales y se ha visto que estas bacterias tienen una relación estrecha con las enfermedades infecciosas periapicales (28).

Sundqvist y cols (4), mencionan que una cepa de Strep-

tococcus mutans cariogénico puede producir destrucción severa periapical en ratas; sin embargo, los canales radiculares en dientes humanos raras veces están mono infectados y los estreptococos mutans no son predominantes, como lo mencionan Winkler y cols.(23); Por otra parte, se ha comprobado que las reacciones inflamatorias causadas por mono infección, son mucho menos severas que las infecciones mixtas. Estos datos sugieren que la combinación o combinaciones de microorganismos está relacionada con la patogénesis de los granulomas periapicales, existiendo una correlación positiva entre la severidad de reacciones periapicales y la presencia de bacterias anaerobias dentro del canal radicular en pulpas necróticas que pueden actuar como antígenos y así estimular al sistema inmune aumentando las inmunoglobulinas y las células plasmáticas, pudiendo ocurrir así una producción de anticuerpos locales. (9,23,24).

En 1990 Iwu y cols (25), reportaron un estudio llevado a cabo en 16 pacientes, todos los dientes investigados tenían antecedentes de terapia endodóncica y es posible que las bacterias fueran introducidas al canal radicular durante el tratamiento, se confirmó lesión periapical por medios histopatológicos, se llevaron a cabo cultivos en laboratorio y se obtuvieron cultivos positivos en 11 casos (69%), en dos casos (13%) las muestras fueron positivas, encontrándose concentraciones de bacterias de 20 a 200 UFC, el 55 % de los microorganismos fueron anaerobios facultativos y el 21% anaerobios estrictos; los microorganismos mas frecuentemente aislados fueron: Veillonella (15%) Streptococcus milleri (11%), streptococcus sanguis (11%), Actinomyces

naeslundii (11%), Propionibacterium acnes (11%) y especies de bacteroides (10%); por otra parte estreptococos anaerobios y especies de bacteroides fueron comúnmente aislados de pulpas necróticas y del exudado purulento, mencionan que los microorganismos viables del tejido pulpar necrótico, penetran y colonizan parte del tejido periapical provocando una respuesta inflamatoria crónica, debido a que en los casos estudiados algunos pacientes habían recibido previamente terapia endodóncica, es posible que las bacterias hayan sido introducidas dentro de los tejidos periapicales durante el tratamiento.

El recuento total de bacterias viables en la pulpa infectada de un molar inferior, arrojó cifras superiores a un millón de microorganismos, siendo estos en su mayoría anaerobios (26). Por otra parte, las endotoxinas que se encuentran en la pared celular de bacterias Gram-negativas tienen acción tóxica y pirogénica; cuando se inyectan in vivo, dá como resultado una degranulación rápida de células cebadas, que contienen grandes cantidades de histamina y heparina. Simultaneamente, se ha demostrado que las endotoxinas bacterianas pueden activar la vía alterna del sistema del complemento y pueden estimular la reabsorción ósea e inhibir el crecimiento del hueso en cultivo de tejidos (5).

Winkler y cols. (23), obtuvieron de 4000 cultivos de conductos radiculares, que el 61% de microorganismos aislados fueron estreptococos; dentro de este grupo fueron principalmente hemolíticos y estreptococos anaerobios no diferenciados dentro del grupo serológico F, G y C, los cuáles son posiblemente pató-

genos en potencia.

Nolte (18), recopiló los resultados obtenidos por investigadores del área, señalando las cifras obtenidas por ellos: Engström y Frostell encontraron presencia de bacterias en 58% de 36 casos estudiados; Chrinside, en 54% de 28 casos; Mc Donald y cols. en 83% de 46 casos, en el 92% de dientes intactos sin pulpa encontraron bacterias dentro del granuloma; Kantz y Henry, así como Chris y cols. encontraron 88% de bacterias en los granulomas reportando más que Burket, que refiere un 49%; Grosman (15%) y 35% encontrado por Melville y Birch.

El mismo Nolte (18), dentro de su recopilación bibliográfica, menciona a Yanagisawa, quien llevó a cabo un estudio comparativo en donde los granulomas aparecieron con la misma frecuencia en ambos sexos, en pacientes de 12 a 57 años, edad promedio de 28.9 años. Encontró que son más frecuentes en los maxilares que en la mandíbula en proporción de 2:1. Los dientes anteriores superiores son los más afectados; y el diente afectado con más frecuencia fué el canino de ambos maxilares.

Muchos más casos, ocurrieron como resultado de caries dental, seguidos por trauma físico o por irritantes (agentes químicos) y restauraciones dentales, reportando todos los casos de células inflamatorias: tales como linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, células cebadas y fibroblastos.

Langeland (14), realizó un estudio histopatológico y bacteriológico en 35 especímenes biopsiados durante terapia quirúrgico-endodóncica, observándose que de los 35, sólo en 5 se

encontraron bacterias en canales radiculares, sólo en un caso se encontraron bacterias en el área periapical, además se encontraron células inflamatorias agudas y crónicas, en 21 casos se observó epitelio, pero sólo existieron 9 quistes; sugieren que la causa y la persistencia de la inflamación periapical puede deberse a diferentes factores como son: daño no específico con ataque directo al tejido huésped, productos bacterianos alterados, respuesta inmunológica específica a antígenos bacterianos o tejidos alterados propios del huésped. Sin embargo menciona que no es constante la presencia de bacterias, pero que es suficiente la presencia de componentes bacterianos como la pared celular u otros, ya que contienen antígenos de superficie que no pudieron observarse con la técnica utilizada por él, también menciona que la ausencia de bacterias en su material es motivo para que se continúen investigaciones para detectar la presencia de bacterias utilizando diferentes técnicas.

Keudell y cols (24), determinaron que las bacterias anaerobias aisladas de infecciones pulpo-periapicales desencadenaban una respuesta inmune humoral en el huésped y demostraron que los pacientes con enfermedad pulpar y periapical no presentaban niveles significativos de IgG e IgM en el suero; sin embargo, sí encontraron títulos séricos elevados de precipitinas contra bacterias anaerobias.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar la presencia de bacterias en granulomas periapicales humanos y en base a los datos clínicos relacionarlos con su posible factor etiológico.

MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo el estudio se consultó el archivo del Servicio de Diagnóstico en Patología Bucal de la División de Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM; se revisaron las solicitudes de estudio histopatológico y los cortes histológicos de los tejidos biopsiados de 100 casos de pacientes con diagnóstico histopatológico de granulomas periapicales, remitidos por las Clínicas Periféricas, Clínicas de Posgrado, Clínicas del Edificio Central de nuestra facultad, Hospital 20 de Noviembre, Hospital Juárez, Hospital Militar, Hospital Gustavo Baz y algunos casos canalizados de la consulta privada durante los años comprendidos entre 1985 y 1990. Se seleccionaron aquellos que fueron diagnosticados histopatológicamente como granulomas periapicales. Los datos obtenidos en la solicitud de estudio histopatológico fueron:

1. Número de expediente
2. Año en que fué remitido

3. Sexo
4. Edad
5. Localización de la lesión
6. Causa de la lesión

Una vez que se obtuvieron los datos de cada uno de los casos, se seleccionaron los bloques de parafina y se hicieron cortes histológicos con microtomo convencional a 5 micra de espesor. Se colocaron en portaobjetos, se introdujeron en una estufa para desparafinar a una temperatura entre 50 a 60 grados centígrados durante 24 horas.

Desparafinados los especímenes se procedió a teñirlos, mediante dos técnicas de acuerdo al Manual de Técnicas Histológicas de la A.F.I.P.:

Tinción con Hematoxilina-Eosina (H/E).

Tinción de Brown-Brenn.

1.- Tinción con H/E: cuyo procedimiento consiste en:

a) Desparafinar el tejido para su conservación dejando las laminillas dentro del xilol por 20 minutos.

b) Hidratación del tejido sumergiéndolo en alcoholes en concentraciones decrecientes del 100% a alcohol de 96% 3 minutos en cada uno.

c) Se lava con agua corriente durante 5 minutos.

d) Se sumerge en hematoxilina de 4 a 5 minutos.

e) Se enjuaga con agua corriente durante 5 minutos.

f) Se vira con solución de Scott.

g) Se sumerge en eosina por un minuto.

h) Se comienza el proceso de deshidratación pasando los especímenes por alcoholes en concentraciones crecientes de alcohol de 96% a alcohol al 100%, 3 minutos en cada uno.

i) Finalmente se sumerge en xilol.

j) Se realiza el montaje de las laminillas, para su posterior observación.

El objetivo de esta tinción es la diferenciación morfológica de los patrones celulares del tejido de granulación y del tejido adyacente, ya sea óseo, epitelial o conjuntivo, encontrando:

- Linfocitos.
- Macrófagos.
- Células Plasmáticas.
- Células espumosas o esponja (macrófagos que fagocitaron lípidos).

- Elementos fibrovasculares.

2.- Tinción de Brown-Brenn. La cuál consiste en:

a) Eliminar los restos de parafina, sumergiendo el tejido en xilol durante 20 minutos.

b) Proceso de hidratación del tejido, pasando los especímenes por alcoholes en concentraciones decrecientes del 100% a alcohol del 96%.

c) Se colocan las laminillas en un recipiente con agua bidestilada por no más de 24 horas.

d) Se sumergen las laminillas en solución de cristal violeta durante un minuto.

e) Se lava con agua corriente.

f) Se baña en solución de lugol (yodine) durante un minuto.
g) Se lava con agua corriente y se seca ligeramente con papel filtro.

h) Se decolora con eter-etil-acetona goteando la laminilla hasta que la solución salga ligeramente violácea.

i) Se sumerge en solución de fuscina básica por un minuto.

j) Se lava con agua corriente y se seca suavemente con papel filtro.

k) Se sumerge en acetona.

l) Se diferencia inmediatamente con solución de ácido pírico-acetona, hasta que el tejido esté de color amarillo-rosado.

m) Se lava rápidamente en acetona y enseguida con xilol.

n) Se realiza el montaje de las laminillas.

El objetivo de esta tinción es el detectar la presencia de bacterias dentro del tejido granulomatoso, así como observar su tipo (Gram positivo si se tiñen de color morado oscuro y Gram negativo si su coloración es rojo), sus características morfológicas (formas cocoides, bacilares y espirilares) y su distribución especificando si las bacterias están en el centro del tejido entremezclado con este o si se encuentran en la periferia.

Una vez teñidas las laminillas con los dos tipos de tinciones, se realizó revisión doble ciego al microscopio usando el objetivo de 100x. Los datos obtenidos de la observación al microscopio se anotaron en hojas de tabulación para su posterior análisis.

RESULTADOS

De los 100 casos de nuestro estudio, en los cuales estuvieron involucrados 123 organos dentarios econtramos que 61%, correspondieron a pacientes del sexo femenino y 39% eran pacientes del sexo masculino, como se observa en la tabla N° 1 .

TABLA 1

RELACION DE CASOS POR SEXO

SEXO	NO. DE CASOS	PORCENTAJE
Masculino	39	39%
femenino	61	61%
Total	100	100%

El rango de edad fue de 8 a 67 años , con una mediana de 29.5 y una media de 37.5, en 10 de los casos que presentamos, no estaba el dato de la edad. Tabla N°. 2

TABLA 2

RELACION DE CASOS POR EDAD

MEDIDA	EDAD (AÑOS)
RANGO	8-67
MEDIANA	29.5
MEDIA	37.5

* En 10 casos, el historial no registró edad.

De los 100 casos, encontramos que según los datos clínicos aportados por los diferentes profesionales, fueron la causa principal de la formación de granulomas: Necrosis pulpar con caries activa 38 casos, fracaso endodóncico 25 casos, traumatismo 4 casos y en 33 casos no se reporta el posible origen de la lesión como podemos observar en la Tabla N° 3.

TABLA 3

FACTOR ETIOLOGICO DE LOS 100 CASOS EN ESTUDIO.

CAUSA	# DE CASOS	%
Necrosis pulpar con caries activa.	38	38%
Sin datos clínicos	33	33%
Fracaso endodóncico	25	25%
Traumatismo	4	4%
Total	100	100%

Los dientes afectados con la presencia de lesión periapical clínicamente reportados por el médico solicitante de acuerdo a la frecuencia fueron, en primer lugar los incisivos laterales superiores (34.1%) con un total de 42 dientes, los incisivos centrales superiores (22.8 %) con 22 dientes involucrados; los caninos, premolares y molares superiores, tuvieron cifras iguales, 9 dientes afectados (7.3%) para cada uno; los centrales inferiores fueron 9 (7.3%), 7 premolares inferiores afectados (5.7%); 6 molares inferiores (4.9%), 4 laterales inferiores afectados (3.3%) y no encontramos un solo caso donde estuvieran

afectados los caninos inferiores.

De acuerdo a nuestra revisión el maxilar superior presenta una frecuencia mayor de lesiones periapicales (granulomas) que el maxilar inferior, teniendo un total de 97 dientes involucrados (78.9%) para el maxilar superior y 26 dientes (21.1%) para el maxilar inferior. De tal manera que la zona mas frecuentemente involucrada fue: La zona de incisivos superiores con 70 dientes afectados que corresponde al 56.9% de los granulomas en estudio y la zona menos afectada por la presencia de granulomas fue la que involucra a los laterales y caninos inferiores con 4 dientes afectados únicamente, como podemos observar en la tabla N°. 4

TABLA 4

DIENTES INVOLUCRADOS CON LA PRESENCIA DE GRANULOMAS

DIENTE AFECTADO	NO. DE DIENTE	%
Laterales superiores	42	34.1%
Centrales superiores	28	22.8%
Caninos superiores	9	7.3%
Premolares superiores	9	7.3%
Molares superiores	9	7.3%
Centrales inferiores	9	7.3%
Premolares inferiores	7	5.7%
Molares inferiores	6	4.9%
Laterales inferiores	4	3.3%
Caninos inferiores	0	0.0%

Obtenidas las laminillas de los tejidos procesados de manera convencional y teñidos con Hematoxilina y Eosina, se observaron con microscopio de campo claro para confirmar el Diagnóstico Histopatológico ya emitido anteriormente por medio del reconocimiento del patrón celular que en todos los casos consistió en un infiltrado inflamatorio crónico, con presencia de linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, fibras colágenas y vasos sanguíneos en cantidad variable, el tamaño de las muestras varió en todos los casos ya que pudimos observar, lesiones pequeñas y lesiones grandes; asimismo el patrón celular inflamatorio varió de leve a moderado. Unicamente fue una observación confirmatoria ya que al hacer el exámen de los especímenes no procedimos al conteo de las células ni a su descripción. (Fig. 2)

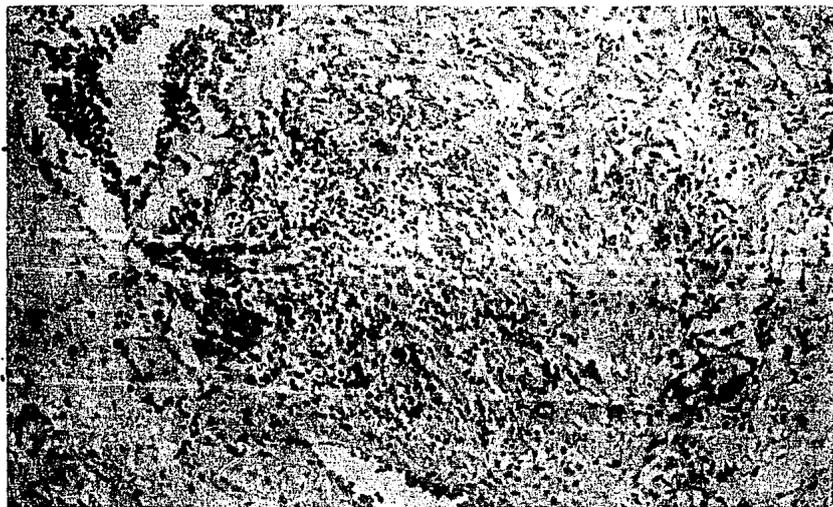


Figura 2.- Tinción de H/E de un granuloma visto al microscopio con un aumento de 20x, en la cual se pueden observar: L: linfocitos; CP: células plasmáticas; M: macrófagos; FC: haces de fibras de colágena y vasos sanguíneos con células sanguíneas.

De los 100 casos en estudio, encontramos bacterias en 19 especímenes (19%); de los 19 especímenes positivos correspondientes a un 100%, encontramos que 17 de ellos (17%) presentaban cocos Gram + los cuales se encontraron aislados y en cúmulos en el centro del tejido (Fig.3 y 3a); y el 2% restante de especímenes positivos tenían bacilos y cocos Gram + en el centro del tejido.

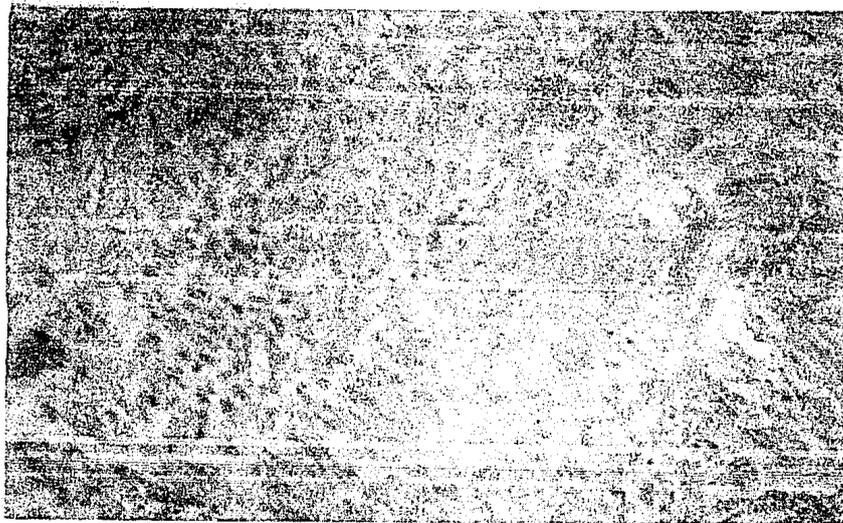


Figura 3.- Granuloma periapical con tinción de Brown y Brenn, utilizando un aumento de 40x y se observan en ella, Ca: cocos gram + aislados en el centro del tejido y Cc: cocos gram + en cúmulos en el centro del tejido.



Figura 3a.- El mismo tejido de la figura 3 visto al microscopio con un aumento de 100x.

En 81 especímenes no se observaron bacterias (Fig. 4 y 4a). En 4 de éstos especímenes se observaron bacterias (cocos +), pero en la periferia del tejido (Fig. 5 y 5a) y en zonas hemorrágicas (Fig. 6 y 6a), considerándose como falsos positivos y por consecuencia negativos. Tabla N°. 5.



Figura 4.- Granuloma periapical con tinción de Brown-Bren visto al microscópio con un aumento de 40x, donde no se observan bacterias.



Figura 4a.- El mismo tejido que la figura 5 visto al microscópio con un aumento de 100x.



Figura 5.- Granuloma periapical con tinción de Brown-Brenn visto al microscópio con un aumento de 40x en el cual se observan cocos gram + en la periferia del tejido.

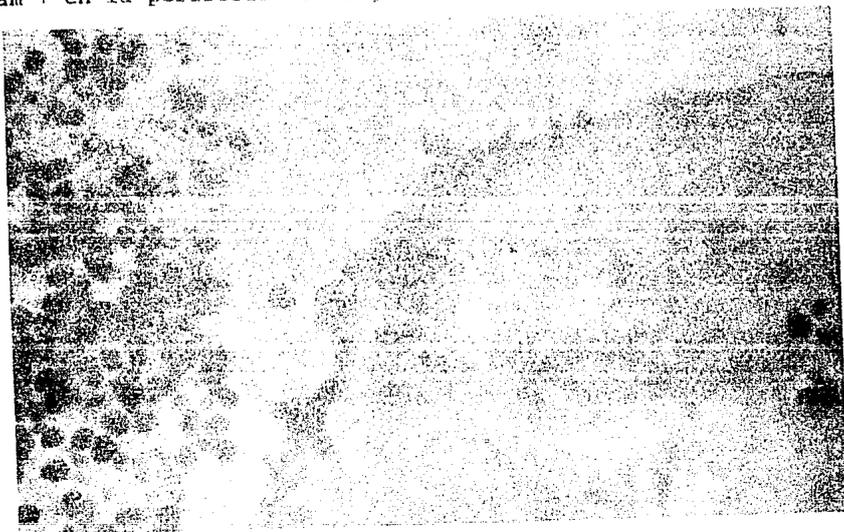


Figura 5a.- Se observa el mismo tejido que en la figura 5 con un aumento de 100x.



Figura 6.- Granuloma periapical con tinción Brown-Brenn, visto al microscopio con un aumento de 40x en el cual se observan B. bacilos gram + y C. cocos gram+ en una zona hemorrágica en la periferia de la lesión.

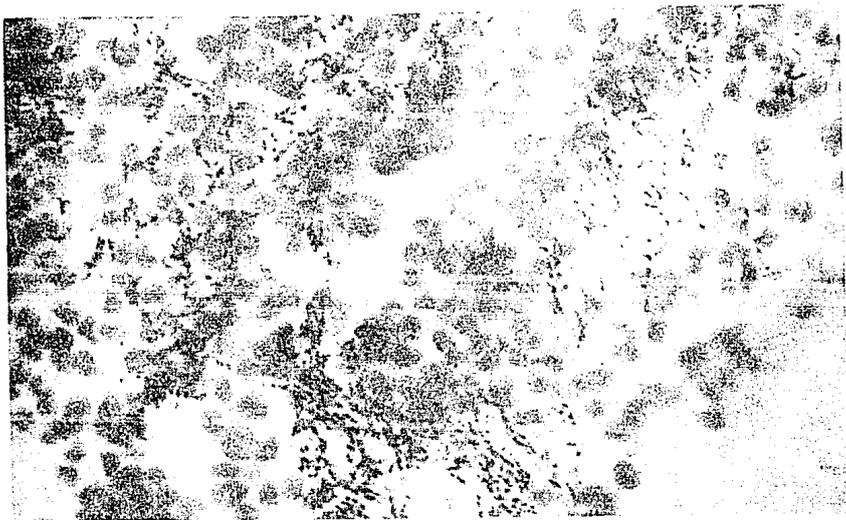


Figura 6a.- Mismo tejido que la figura 6, vista al microscopio con aumento de 100x.

TABLA 5

TIPOS DE BACTERIAS PRESENTES EN LOS GRANULOMAS PERIAPICALES

NUMERO	PORCENTAJE	COCOS (G+)	BACILOS (G+)
17	17%	+	-
2	2%	+	+
77	77%	-	-
4	4%	*	*
TOTAL 100	100%		

* Falsos positivos.

Una vez determinada la presencia y localización de las bacterias se trato de correlacionarlas con el posible agente causal del granuloma, obteniendo que en los 38 casos de necrosis pulpar con caries activa, 7 de los especímenes fueron positivos a la presencia de bacterias y 31 fueron negativos; de los 25 casos de lesión periapical asociada a fracaso endodóncico, 6 de los especímenes fueron positivos y 19 negativos; los casos reportados como de posible origen traumático, los 4 fueron negativos; de los 33 especímenes que no tuvieron apoyo con datos clínicos, encontramos 6 casos positivos y 27 negativos. Tabla 6.

TABLA 6

CORRELACION ENTRE LA PRESENCIA Y LA LOCALIZACION DE LAS BACTERIAS
CON SU POSIBLE AGENTE CAUSAL.

CAUSA Y TOTAL DE CASOS	POSITIVOS A BACTERIAS	NEGATIVOS
NECROSIS PULPAR (38)	07	31
FRACASO ENDODONCICO (25)	06	19
TRAUMATISMO (04)	0	04
SIN DATOS CLINICOS (33)	06	27
TOTAL (100)	19	81

DISCUSSION.

En nuestro estudio encontramos mayor cantidad de bacterias en aquellos granulomas asociados a caries activa con necrosis pulpar en comparación con aquellos asociados a fracaso endodóncico y traumatismo; sin embargo, Langeland (12) describe que independientemente de que el conducto radicular este infectado en dientes con granulomas periapicales, los granulomas no presentan bacterias en su interior y estudia la presencia de bacterias en granulomas de dientes tratados endodóncicamente. Winkler y cols. (17) encontraron que las bacterias se hallaban dispersas en el granuloma y que no pudieron encontrar bacterias utilizando técnicas similares; ya que solo un caso de los 35 especímenes de su estudio fue positivo. Utilizando las técnicas reportadas por Langeland (12), encontramos que de los 100 especímenes biopsiados 19 fueron positivos y 81 negativos a bacterias. Happonen y cols (23), opinan que es posible que algunas colonias bacterianas se encuentren dentro de lesiones inflamatorias periapicales, pero no es posible dar un diagnóstico específico de estas colonias por medio de técnicas convencionales y por lo que deberán usar, técnicas inmunohistoquímicas en biopsias de rutina.

El criterio establecido por nosotros para determinar si el tejido era positivo o fué contaminado durante el acto quirúrgico fue discutido en forma personal con el Dr. Barnet Levy y concluimos que el parámetro que pudimos utilizar era que la presencia de bacterias en la parte central del granuloma se considerarían positivas, mientras que si encontramos las bacte-

rias dispersas en la periferia de la lesión, se consideraría contaminación y por tanto negativos; de hecho encontramos 4 casos con presencia de bacterias en la periferia que tratamos como negativos.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio sugieren que las bacterias y sus productos tóxicos tienen mayor probabilidad de penetrar en el tejido pulpar necrótico y en el área periapical de dientes con un proceso carioso avanzado ya que éste propició un hábitat adecuado para el establecimiento de las bacterias anaerobias, y concordamos con Langeland(12), en que es indispensable considerar que el manejo quirúrgico de una lesión desde el momento de la cirugía hasta su procesamiento histopatológico puede tener un alto índice de contaminación de microorganismos. Contrario a nuestros resultados pero importante de mencionar, es el estudio de Iwu (24), que utilizando el cultivo de tejido homogeneizado, estudiaron el crecimiento y el número de colonias microbianas, encontrando que las bacterias estuvieron presentes en el 88% de los granulomas de su estudio, de tal manera, que los resultados de diferentes investigadores y con diferentes técnicas, arrojan resultados contradictorios.

En nuestro estudio, aunque la técnica no fue la ideal, esperábamos encontrar un menor número de especímenes con presencia de microorganismos. Los resultados nos dan idea del potencial que tiene nuestra Facultad de casos que podrían ser investigados mas a profundidad por académicos y alumnos de las diferentes especialidades, en este momento y después de haber revisado la literatura nos atrevemos a mencionar que aún a pesar de la gran

cantidad de investigaciones en el campo, no se ha podido dilucidar la biología de esta entidad.

La frecuencia de las lesiones periapicales de nuestro estudio, tuvo un índice mayor en la zona de laterales y centrales superiores con un 59%, en la zona de premolares y molares inferiores con un 14.6%; y nuestra casuística con respecto a la localizaciones es similar a la que reporta Yanagisawa quien menciona que la localización de los granulomas es mas frecuente en el maxilar que en la mandíbula en una proporción de 2:1 encontramos que de 123 dientes involucrados, 97 se localizaban en los maxilares y 26 granulomas en la mandíbula , de tal manera que tenemos una relación de 3:1; este fenómeno lo podríamos explicar si consideramos que el mayor numero de dientes afectados por el proceso carioso son los dientes superiores, ya que el flujo constante de saliva en la zona de inferiores inhibe hasta cierto grado la proliferación microbiana y por lo tanto el proceso carioso. El hecho de que los molares superiores no presentan una alta frecuencia en nuestro estudio, es quizá porque es el organo dentario que se extrae con más frecuencia y a temprana edad.

Con respecto a la edad y el rango en nuestro estudio es de 8 a 67 años, fenómeno similar al observado por Iwu que reporta un rango entre 18 y 61 años y Yanagisawa que reporta un rango de 12 a 57 años.

CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos podemos concluir que:

1.- Con éstas restricciones, es posible determinar la presencia de bacterias en los granulomas periapicales por métodos histológicos.

2.- Si reconsideramos que es posible que las bacterias sean arrojadas desde el conducto hacia los tejidos periapicales, también consideramos que es necesario utilizar técnicas más específicas para detectar la presencia de bacterias, ya que con la técnica utilizada por nosotros es difícil poder diferenciar morfológicamente las bacterias, de estructuras como partículas de pigmentos y de selladores, creando confusión en la interpretación.

3.- Existe mayor cantidad de bacterias dentro de los granulomas asociados a dientes con necrosis pulpar y caries activa en comparación con aquellos que se asocian a fracaso endodóncico y traumatismo.

4.- Nuestros resultados sugieren que en virtud de que el paciente más joven tenía 8 años; el proceso carioso en la población estudiada, se inicia a más temprana edad, en comparación con otras poblaciones.

5.- En los órganos dentarios maxilares, existe mayor cantidad de granulomas periapicales en comparación con los mandibulares.

6.- Los órganos dentarios anteriores, desarrollan granulomas periapicales con mayor frecuencia que los posteriores (67.5 vs

31.7%).

7.- Los microorganismos que se introducen con mayor frecuencia a los granulomas periapicales son las bacterias.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Trowbridge HO. Immunological Aspects of Chronic Inflammation and Repair. *J Endo* 1990;16:54-61.
- (2) Leonardo MR, Mauricio L. J, Lauand F. Alteraciones Periapicales. *Semiología, Diagnóstico y Tratamiento*. México: Interamericana, 1987;3,4:52-80.
- (3) Grossman LI. Bacteriologic status of periapical tissues in 150 cases of infected pulpless teeth. *J Dent Res* 1959;38:101-4.
- (4) Sundvquist G, Eckerbom MI, Larsson AP y Sjögren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infect Immun* 1979;25:685-93.
- (5) Torabinejab M, Leif K B . Immunopathogenesis of Chronic Periapical Lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978;46:685-699.
- (6) Seltzer S. eds. *La Pulpa Dental*. México D.F.: El Manual Moderno. 1987;7-10,12,13:143-221,236-263.
- (7) Portilla RJ, Cacho P, Leyva HE, Gonzalez JJ. Pulp Damage Induced by the Use of Vitalometers. *J Dent Res* 1986;65:603.
- (8) Leonardo MR y cols. *Endodoncia*. México. Interamericana, 1987.
- (9) Stern MH, Dreizen S, Mackley BF, Levy BM. Isolation and Characterization of Inflammatory Cells from the Human Periapical Granuloma. *J Dent Res* 1982;61:1408-11.
- (10) Portilla RJ y cols. A Study Model for Periapical Lesion. *J Dent Res* 1980;59:321-25.
- (11) Torabinejab M, Kettering JD. Identification and Relative

Concentration of B and T Lymphocytes in Human Chronic Periapical Lesion. J End 1985;11:122-5.

(12) Regezi JA, James JS. Patología Bucal. México: Interamericana, 1991;315-6,408-12.

(13) Schonfeld SE y cols. Endotoxic Activity in Periapical Lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982;53:82-7.

(14) Langeland K y cols. A Histopathologic and Histobacteriologic Study of 35 Periapical Endodontic Surgical Specimens. J Endo 1979;3:8-23.

(15) Tagger M y Massler M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. Oral Med Oral Surg Oral Pathol 1975;39:304-317.

(16) Robertson PB y cols. Pulpal and Periodontal Effects of Electrosurgery Involving Cervical Metallic Restorations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1987;46:702-10.

(17) Winkler TF, Mitchell DF y Healey HJ. A bacterial study of human periapical pathosis employing a modified gram tissue stain. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1972;34:109.

(18) Nolte. W. Microbiología Odontológica. México: Interamericana, 1991;665-90.

(19) Burstone MS, Levy BM. The Production of Experimental Apical Granulomata in the Syrian Hamster. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1950;3:807.

(20) Lasala A. Endodoncia. México: Salvat Ed, 1979;21-35,80-90, 97-103.

(21) Portilla JR. Biología de los Granulomas. Tesis de Doctorado. 1983.

- (22) Melville TH, Birch RH. Root canal and periapical floras of infected teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1967;23:93-8.
- (23) Winkler KC y Amerongen J. Bacteriologic results from 4000 root canal cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1959;12:857-75.
- (24) Keudell K y cols. Humoral Antibodies to Anaerobic Bacteria Isolated from Patients with Pulpal-Periapical Disease. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982;53:194-7.
- (25) Iwv Ch, Mac Farlan WT y cols. The Microbiology of Periapical Granulomas. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990; 69-4:502-05.
- (26) Bergenholtz G. Microorganisms from Necrotic Pulp of Traumatized Teeth. Odont Rev 1974;25:347.
- (27) Fabricius y cols. Influence of Combinations of Oral Bacteria on Periapical Tissues of Monkeys. J Dent Res 1982;90:200-10.
- (28) Yamamoto K, Fukushima H y cols. Antimicrobial Susceptibilities of Eubacterium, Peptostreptococcus and Bacteroides Isolated from Root Canals of Teeth with Periapical Pathosis. J Endo 1989;15:112-16.
- (29) Portilla JR, Leyva EH, Gaytán LC. Papel Inmunológico en la Etiopatogenia de Granulomas Periapicales. Práctica Odontológica 1987;8:12-16.
- (30) Happonen RP y cols. Immunocytochemical Demonstration of Actinomyces Species and Arachnia propionica in Periapical Infections. J Oral Pathol 1985;14:405-13.