



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



## FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD FAGOCÍTICA DE NEUTRÓFILOS EN CAVIDAD  
ORAL DE PACIENTES CON APARATOLOGÍA  
ORTODÓNICA DE LIGADO CONVENCIONAL Y  
AUTOLIGADO.

TESIS

Que para obtener el título de

**CIRUJANO DENTISTA**

P R E S E N T A:

Ana Alcántara Rodríguez

TUTORA: Dra. Eileen Uribe Querol

ASESORA: Esp. Daniela Carmona Ruiz

CDMX

2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mis padres y hermano por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por ser mi inspiración y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A la **Dra. Eileen Uribe Querol**, a una persona que cuida a sus estudiantes como una madre, que me ha guiado con su paciencia y rectitud como docente, que sostiene grandes valores. Gracias por haberme permitido el regalo de ser su estudiante. Principal colaboración durante todo este proceso, quien, con su dirección, conocimiento, enseñanza permitió hacer de esta tesis una realidad.

A la **Dra. Daniela Carmona**, por haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos, por su amistad y apoyo.

Al **Dr. Carlos Rosales**, por ser parte para que este trabajo se realizara con éxito, por la oportunidad de trabajar en su laboratorio y compartir sus conocimientos. También a la **M. C. Nancy Mora Pérez** por su amabilidad y sus siempre atentas y rápidas respuestas a las diferentes inquietudes surgidas durante mi estancia en el laboratorio.

A mis **revisores**, por brindarme su tiempo, consejos y correcciones.

A la **UNAM**, por ser la sede de todo el conocimiento adquirido en estos años.

Mi profundo agradecimiento.

A **mi padre**, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años. Por ser un referente para mí no sólo como persona sino como profesional. Por enseñarme los mejores valores y principios con su ejemplo.

A **mi madre**, por brindarme la fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad, por estar siempre a mi lado. Por brindarme todo el amor y paciencia, por apoyarme en todas mis decisiones y acompañarme en el camino.

A **mi hermano**, el mayor regalo que mis padres me brindaron. Por tener siempre el consejo oportuno en el momento adecuado. Por creer en mí.

A **Ray**, porque me ha motivado a seguir adelante, porque decidió tomar mi mano para acompañarme en momentos importantes de mi vida y sobre todo en las etapas difíciles.

Gracias a ellos he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Son lo mejor de mi vida.

# ÍNDICE

RESUMEN	8
CAPÍTULO 1	10
CAVIDAD ORAL	
1.1 Rinofaringe	11
1.2 Orofaringe	12
1.3 Hipofaringe	12
1.4 Componentes de la Cavidad Oral	13
1.5 El Periodonto	13
1.6 Tejidos del Periodonto	14
1.7 Encía	14
1.8 Encía Marginal	14
1.9 Surco Gingival	14
1.10 Encía Insertada	14
1.11 Encía Interdental	14
1.12 Ligamento Periodontal	14
1.13 Hueso Alveolar	15
1.14 Proceso Alveolar	15
CAPÍTULO 2	17
ODONTOLOGÍA Y ORTODONCIA	
2.1 Ortodoncia Preventiva	18
2.2 Ortodoncia Interceptiva	18
2.3 Ortodoncia Correctiva	19
2.4 Tipos de Maloclusiones	19
2.5 La clase I de Angle	19
2.6 La clase II de Angle	20
2.7 La clase III de Angle	20
2.8 APARATOLOGÍA ORTODÓNICA	20

2.9 Aparatología Funcional	20
2.10 Aparatología Removible	21
2.11 Aparatología Fija	21
2.12 Brackets de Ligado Convencional	22
2.13 Brackets de Autoligado	22
2.14 Módulos Elastoméricos	23
CAPÍTULO 3	25
BIOPELÍCULA DENTAL	
3.1 Formación de la Biopelícula Dental	26
3.2 Adhesión	26
3.3 Colonización y Coagregación	27
3.4 Maduración	28
3.5 Desprendimiento	28
3.6 Biopelícula Dental en Enfermedades Periodontales y en Ortodoncia	28
CAPÍTULO 4	31
SISTEMA INMUNOLÓGICO	
4.1 Sistema Inmunológico Innato	33
4.2 Sistema Inmunológico Adaptativo	33
4.3 Células Asesinas Naturales (Natural Killer)	35
4.4 Macrófagos	35
4.5 Linfocitos T y B	36
CAPÍTULO 5	38
NEUTRÓFILOS	
5.1 Funciones de Neutrófilos	40
5.2 Trampas Extracelulares de Neutrófilos	40
5.3 Estallido Respiratorio	42
CAPÍTULO 6	44
FAGOCITOSIS	
6.1 Fagocitosis en Cavidad Oral	49
7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	51

8. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	52
9. HIPÓTESIS	52
10. HIPÓTESIS ALTERNA	52
11. OBJETIVO GENERAL	53
12. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	53
13. MATERIALES Y MÉTODOS	53
13.1 Tipos de estudio	53
13.2 Donadores	53
13.3 Criterios de inclusión para donadores sin aparatología ortodóncica	54
13.4 Criterios de inclusión para donadores con aparatología ortodóncica	54
13.5 Criterios de exclusión para donadores con aparatología ortodóncica	55
13.6 Materiales	56
13.7 Obtención y purificación de neutrófilos orales	57
13.8 Tinción de neutrófilos por Wright-Giemsa	58
13.9 Cuantificación de neutrófilos	58
13.10 Ensayo de fagocitosis de neutrófilos orales sanguíneos	59
13.11 Métodos de recolección de datos	60
13.12 Análisis estadístico	60
13.13 Control Personal de placa (CPP)	60
14. RESULTADOS	62
14.1 Porcentaje de células fagocíticas	65
14.2 Porcentaje de Fagocitosis	69
14.3 Control Personal de Placa	71
15. DISCUSIÓN	75
16. CONCLUSIONES	78
17. BIBLIOGRAFÍA	79
18. ANEXOS	84



## RESUMEN

Los tejidos orales están expuestos a un daño constante debido a la masticación y a la presencia de microorganismos. En los tejidos orales sanos existe un equilibrio entre el sistema inmunológico y los microorganismos que habitan en la cavidad oral. Sin embargo, cuando este equilibrio se rompe, los tejidos orales se inflaman y las células del sistema inmunológico se reclutan más hacia la cavidad oral. Este desequilibrio es evidente en el caso de enfermedades como la caries dental, gingivitis y periodontitis. Sin embargo, no se ha estudiado si este desequilibrio también se presenta cuando los pacientes se someten a un tratamiento de ortodoncia. La Ortodoncia es la rama de la Odontología que se ocupa del estudio del crecimiento y desarrollo del complejo craneofacial, así como de la oclusión y el tratamiento de las anomalías dentofaciales. En ortodoncia se utilizan diversos aditamentos para poder mover y posicionar los dientes. Entre ellos se encuentran los brackets, que son dispositivos que guían los movimientos de los dientes ayudados por la fuerza que ejercen los alambres sobre ellos. El uso de brackets obstaculiza una higiene correcta de los dientes. En particular, la ortodoncia de ligado convencional donde el bracket va ligado al arco mediante ligas. En las ligas es donde acumula primordialmente la biopelícula dental. Esta acumulación, a su vez, promueve una inflamación de la encía, conocida como gingivitis. Si la gingivitis no es controlada, los pacientes están en riesgo de desarrollar otra enfermedad periodontal más grave, la periodontitis. El sistema inmunológico vigila la cavidad oral y protege de constantes amenazas que pudieran alterar el equilibrio en la cavidad oral. Entre los participantes se encuentran los neutrófilos, que mantienen un equilibrio de la microbiota oral mediante mecanismos como la fagocitosis, el estallido respiratorio y la formación de trampas extracelulares de neutrófilos. A la fecha, no se conoce si la fagocitosis de neutrófilos se ve modificada en la cavidad oral de pacientes con aparatología ortodóncica (brackets). En esta tesis evaluamos y comparamos la función de fagocitosis de neutrófilos derivados de enjuagues orales de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica de

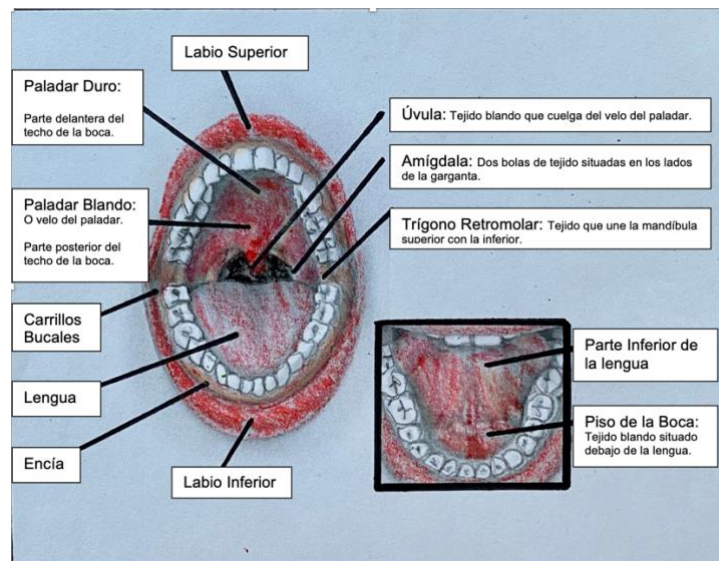
ligado convencional y de aparatología de autoligado. Para ello pedimos a los donadores con alguna de estas condiciones realizar enjuagues de solución salina, de los cuales obtuvimos neutrófilos para medir su capacidad fagocítica. Nuestros resultados muestran que los neutrófilos provenientes de enjuagues de donadores con aparatología ortodóncica de ligado convencional fagocitan más que los neutrófilos provenientes de enjuagues de donadores con aparatología ortodóncica de autoligado.

# CAPÍTULO 1

## CAVIDAD ORAL

La cavidad oral se divide en vestíbulo y boca propiamente dicha. El vestíbulo es el espacio anterolateral delimitado entre la mucosa oral y la superficie externa de la encía y los dientes. La boca propiamente dicha, es en la que se encuentran la lengua, los dientes y la encía y constituye la abertura anterior de la orofaringe<sup>1</sup>.

El techo de la boca está formado por el arco óseo del paladar duro y por el paladar blando fibroso. La úvula pende del borde posterior del paladar blando. El arco conformado por el borde posterior del paladar blando y la úvula, por arriba, el borde libre de ambos pilares anteriores del velo del paladar, a los lados, y la cara superior de la base de la lengua, por abajo, conforman un límite llamado istmo de las fauces, que divide la cavidad oral propiamente dicha de la orofaringe<sup>1</sup> (**Figura 1**).



**Figura 1. Anatomía de la cavidad oral.** Dibujo que muestra las diferentes regiones y estructuras que conforman la cavidad oral.

El piso de la boca está formado por un tejido móvil y laxo que reviste la mandíbula. La lengua está anclada por su base en la porción dorsal de la cavidad oral, y al piso de la boca por el frenillo lingual. La superficie dorsal de la lengua está recubierta por una gruesa membrana mucosa que aloja las papilas filiformes. En la cara ventral de la lengua se hacen visibles las venas raninas, una serie de franjas y una fina membrana mucosa con crestas<sup>2</sup>.

Las glándulas salivales parótidas, submandibulares y sublinguales están alojadas en tejidos circundantes de la cavidad oral. La saliva secretada inicia la digestión y humedece la mucosa. Los conductos de Stenon, son los conductos de drenaje de ambas parótidas que desembocan en la mucosa oral enfrente del segundo molar del maxilar superior de cada lado en el vestíbulo de la cavidad oral. Los conductos de Wharton, drenan la saliva de las dos glándulas submandibulares, se abren a cada lado del frenillo, debajo de la lengua. Las glándulas sublinguales poseen una gran cantidad de conductos que desembocan a lo largo del pliegue sublingual. La encía o gingiva está formada por tejido fibroso recubierto por mucosa, directamente sujeta a la superficie de los alvéolos dentarios<sup>1</sup>.

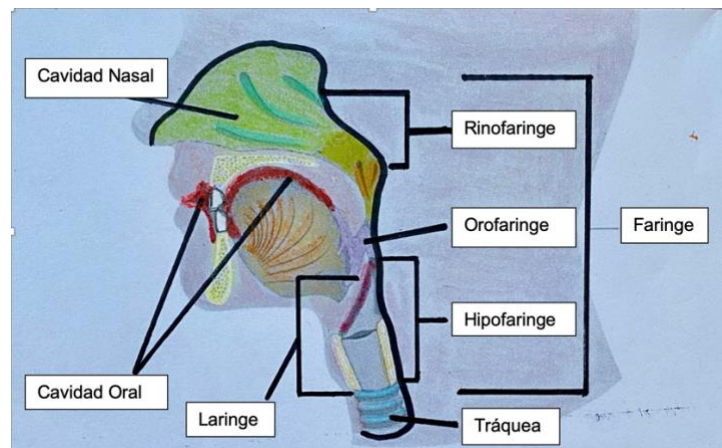
Las raíces de los dientes están ancladas en las crestas alveolares y la encía cubre el cuello y las raíces de todos los dientes. Los adultos, por lo general, poseen 32 dientes permanentes distribuidos en dos arcos dentarios (superior e inferior), cada uno de los cuales tiene 4 incisivos, 2 caninos, 4 premolares y 6 molares (incluidos los terceros molares)<sup>2</sup>.

La faringe por su parte es un conducto, constituido por cuatro paredes que delimitan una luz central en forma de embudo (**Figura 2**). En el adulto la faringe alcanza una longitud de 12 a 13 cm y se divide de forma arbitraria en tres niveles:

- **1.1 Rinofaringe** (cavum, nasofaringe, epifaringe) En su interior y lateralmente se encuentran los orificios faríngeos de las trompas de Eustaquio, los pliegues

tubáricos e inmediatamente detrás de ellos, las fositas de Rosenmüller (recesos faríngeos)<sup>3</sup>.

- **1.2 Orofaringe** (mesofaringe) Lateralmente encontramos las zonas amigdalares. La mitad superior de la pared anterior está constituida por un orificio: el istmo de las fauces. La mitad inferior de la pared anterior de la orofaringe se halla representada por la base de la lengua, las valéculas y la parte suprahioides de la epiglotis<sup>3</sup>.
- **1.3 Hipofaringe** (laringofaringe) Es la porción más inferior de la faringe y termina abriéndose en la boca del esófago que corresponde a la entidad fisiológica del esfínter superior del esófago. Por delante, su parte superior corresponde al orificio superior de la laringe. La parte lateral estará formada por los senos piriformes, mientras que la parte media se le denomina zona retrocricóidea<sup>3</sup>.



**Figura 2. Anatomía de la faringe.** La faringe es una estructura tubular con tres capas concéntricas que incluyen una capa externa muscular, una capa intermedia fibrosa o aponeurosis faríngea y una interna o mucosa faríngea completando así la anatomía de la faringe.

## 1.4 COMPONENTES DE LA CAVIDAD ORAL

La mucosa oral debe ser de color rojo rosado, suave y húmeda. Por lo general, los dientes tienen un color marfil, pero pueden presentar una coloración amarillenta por el tabaco o marrón por el café o el té. Una encía normal presenta aspecto rosado y ligeramente punteado, con bordes claramente definidos y perfectamente ajustados sobre cada diente. La superficie de la encía de debajo de las dentaduras artificiales no debe presentar inflamación o hemorragias<sup>2</sup>.

## 1.5 El Periodonto

El periodonto está conformado por los siguientes tejidos: La encía, el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar. El hueso alveolar consiste en dos componentes: El hueso alveolar propiamente dicho y el proceso alveolar. Tres de los tejidos del periodonto: el cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar propiamente dicho, están formados por células contenidas en el folículo dental del diente en desarrollo. El cuarto componente tisular del periodonto que es la encía que no deriva del folículo dental. No obstante, la encía es una estructura relacionada con el diente que crece en altura juntamente con la pieza en erupción<sup>4</sup> (**Figura 3**).

Lindhe señala que la principal función del periodonto es unir al diente con el tejido óseo de los maxilares y mantener la integridad de la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. El periodonto, también conocido como “aparato de inserción” o “tejido de sostén de los dientes”, constituye una unidad de desarrollo biológica y funcional que sufre ciertas modificaciones con la edad y que además está sujeta a alteraciones morfológicas y funcionales y a cambios relacionados con las alteraciones del medio oral<sup>4</sup>.

## **1.6 Tejidos del Periodonto**

**1.7 Encía:** Es la parte de la mucosa bucal que reviste las apófisis alveolares de los maxilares y rodea el cuello de los dientes. La encía adquiere su forma y textura finales con la erupción de los dientes. En sentido coronario, la encía de color rosa coral termina en el margen gingival libre, que tiene un contorno festoneado. En sentido apical, la encía se continúa con la mucosa alveolar, laxa y de color rojo oscuro, de la cual está separada por un límite fácil de reconocer, llamado límite mucogingival o línea mucogingival<sup>5</sup>.

**1.8 Encía Marginal:** Es el margen terminal o borde de la encía que rodea los dientes a modo de collar. También llamada encía libre, es de color rosa coral, tiene una superficie opaca y consistencia firme. El surco gingival libre suele ser más acentuado en bucal de los dientes<sup>6</sup>.

**1.9 Surco Gingival:** Es el surco poco profundo o espacio circundante del diente que está formado por la superficie dental de un lado y el revestimiento epitelial del margen libre de la encía por el otro<sup>6</sup>.

**1.10 Encía Insertada:** Es la encía firme, la cual está fija al periostio subyacente del hueso alveolar. También llamada encía adherida, es de color rosa coral y suele mostrar un punteado delicado que le da aspecto de cáscara de naranja<sup>6</sup>.

**1.11 Encía Interdental:** Ocupa el nicho gingival, que es el espacio interproximal por debajo del área de contacto dental. Está determinada por las relaciones de contacto entre los dientes, la anchura de las superficies dentarias proximales y el curso de la unión cementoamélica<sup>6</sup>.

**1.12 Ligamento Periodontal:** Es el tejido conectivo blando, muy vascularizado y celular que rodea la raíz del diente y une al cemento radicular con la lámina dura o hueso alveolar propio. El hueso alveolar rodea la raíz desde un nivel

aproximadamente de 1 mm. apical al límite cementoamélido hasta el ápice. El borde coronal del hueso se denomina cresta alveolar<sup>7</sup>.

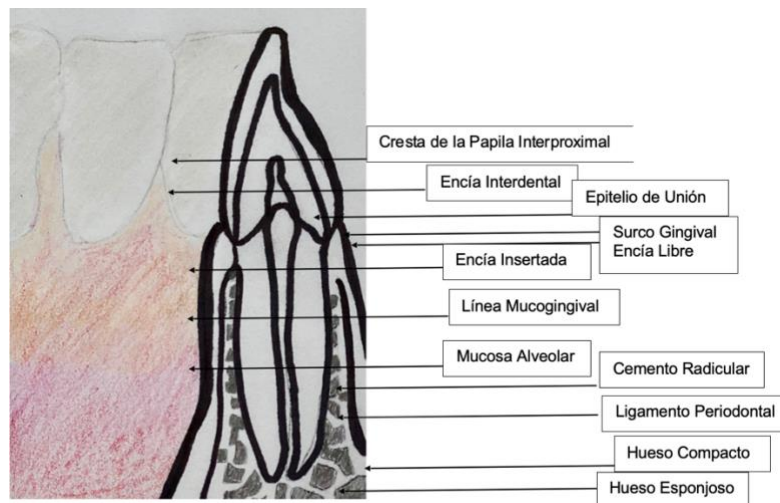
**1.13 Hueso alveolar:** Existen dos tipos de hueso alveolar.

1. La porción de hueso alveolar vecina al alveolo, también llamada hueso cortical, a veces denominado lámina dura.

2. La porción de la apófisis alveolar que se denomina hueso esponjoso. La anchura del ligamento periodontal es aproximadamente 0.25mm. La presencia del ligamento periodontal posibilita la distribución y absorción de las fuerzas generadas durante la función masticatoria y en otros contactos dentarios, hacia la apófisis alveolar por la vía del hueso alveolar propio.

El diente está unido al hueso por haces de fibras de colágena que forman el ligamento periodontal, que se dividen en los siguientes grupos principales: Fibras de la cresta alveolar, fibras horizontales, fibras oblicuas y fibras apicales<sup>8</sup>.

**1.14 Proceso Alveolar:** Es la porción del maxilar y la mandíbula que forma el alveolo dental y sostiene a los dientes<sup>7</sup>.



**Figura 3. Esquema del diente y el periodonto.** El periodonto comprende los siguientes tejidos: la encía, el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar. El hueso alveolar



consiste en dos componentes: el hueso alveolar propiamente dicho y el proceso alveolar. El hueso alveolar propiamente dicho se continúa con el proceso alveolar y forma la delgada placa ósea situada inmediatamente por fuera del ligamento periodontal. (Modificado de Carranza B. F. Periodontología clínica. 8a Edición 1998. Editorial Interamericana).

## **CAPÍTULO 2**

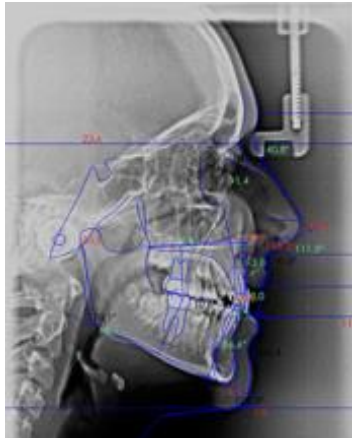
### **ODONTOLOGÍA Y ORTODONCIA**

La Odontología es una de las ciencias de la salud que se encarga del diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades del aparato estomatognático. Este aparato incluye: los dientes, la encía, el tejido periodontal, la maxila, la mandíbula y la articulación temporomandibular. Entre las enfermedades y condiciones que se tratan en Odontología destacan la caries dental, la maloclusión y la enfermedad periodontal<sup>9</sup>.

La Ortodoncia es la rama de la Odontología que se especializa en maloclusiones. La Ortodoncia comprende el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las malposiciones dentales, maxilares y faciales. La práctica de la ortodoncia brinda a los tejidos blandos faciales una apropiada armonía, funcionalidad y logra un balance y estética facial<sup>10</sup>. Para determinar un correcto diagnóstico ortodóncico se debe tener en cuenta una metodología de trabajo completa conformada por la historia clínica, los modelos de estudio, las fotografías, radiografías y los estudios cefalométricos.

Sobre la radiografía lateral de cráneo se realiza una cefalometría. La cefalometría consiste en medir la posición de los dientes, maxila y mandíbula con respecto al perfil de la cara del paciente y su base craneal. Estas medidas sirven para calcular las proporciones estéticas correctas y realizar un plan de tratamiento individualizado, para alcanzar la armonía y funcionalidad dental y facial deseada<sup>11</sup> **(Figura 4)**.

Existen diferentes tipos de ortodoncia asociados con la edad y el desarrollo de las estructuras dentales y son: la ortodoncia preventiva, la interceptiva y la correctiva.



**Figura 4. Radiografía lateral de cráneo con trazados cefalométricos de Jarabak.**  
(fuente directa).

## **2.1 Ortodoncia Preventiva**

La ortodoncia preventiva es aquella destinada a preservar la integridad de una oclusión normal y a evitar que ocurran las malposiciones dentarias y alteraciones esqueléticas. Esto se logra mediante la prevención de caries, el tratamiento correcto de caries, la conservación de espacios por pérdidas prematuras de dientes primarios y por medio del uso de mantenedores de espacio, y el manejo adecuado y oportuno de hábitos parafuncionales<sup>12</sup>. Además de estas medidas, es importante mantener una comunicación y proporcionar información a los padres o familiares sobre salud oral del menor, enfocadas a la prevención de maloclusiones, durante las visitas al consultorio dental. Estas medidas e información, también se comunican, cuando los odontólogos visitan escuelas o lugares de atención comunitaria<sup>13</sup>.

## **2.2 Ortodoncia Interceptiva**

En la ortodoncia interceptiva se detectan y tratan posibles eventos que potencialmente causen una maloclusión en el paciente (erupción de pieza dental

mal posicionada). El éxito de la ortodoncia interceptiva depende de cuan temprano se detecte la alteración y se proceda al tratamiento adecuado del problema. Este tipo de ortodoncia se dirige a niños de edades entre 5 y 12 años aproximadamente, en donde la etapa del desarrollo de la dentición será el factor primordial para decidir el tratamiento más adecuado. Los odontopediatras y ortodontistas son los encargados de este tipo de ortodoncia, por la naturaleza compleja de muchas de las alteraciones que se deben tratar en estas etapas de desarrollo<sup>14</sup>.

### **2.3 Ortodoncia Correctiva**

En la ortodoncia correctiva se diagnostica y corrige una maloclusión ya instaurada en un paciente. Alteraciones en los sistemas faciales óseo, muscular, dental, o nervioso generan malocclusiones que afectan la función masticatoria y la estética facial. La ortodoncia correctiva se establece cuando el paciente presenta dentición permanente y sirve para corregir las alteraciones antes mencionadas, por medio de la colocación de aparatos fijos<sup>15</sup>. Al igual que cualquier tipo de ortodoncia, este procedimiento se realiza por un ortodontista que realiza el diagnóstico y presenta el plan de tratamiento más adecuado al paciente.

### **2.4 Tipos de maloclusiones**

La maloclusión es la condición patológica caracterizada por no darse la relación normal entre las piezas dentarias, con los demás dientes en el mismo arco y con las del arco antagonista<sup>16</sup>.

**2.5 La clase I de Angle** es considerada como la oclusión ideal, consiste en que la cúspide mesiovestibular del primer molar superior permanente ocluye en el surco bucal de los primeros molares inferiores permanentes.

**2.6 La clase II de Angle** se presenta cuando la cúspide mesiovestibular del primer molar superior permanente ocluye por delante del surco bucal de los primeros molares inferiores.

**2.7 La clase III de Angle** es cuando la cúspide mesiovestibular del primer molar superior ocluye por detrás del surco bucal del molar inferior<sup>17</sup>.

## **2.8 APARATOLOGÍA ORTODÓNCICA**

El objetivo de la ortodoncia es mover los dientes buscando su normalización oclusal (la superficie de masticación), o el desplazamiento de todo conjunto dentario (arco dentario). La oclusión se basa en las relaciones de contacto que existen entre los dientes superiores y los inferiores<sup>18</sup>. El tratamiento de ortodoncia requiere de aparatología que puede ser funcional, fija o removible.

## **2.9 Aparatología Funcional**

Los aparatos funcionales son aparatos que tienen una acción principal sobre los músculos y los huesos y secundariamente sobre las piezas dentarias. Los aparatos funcionales pueden actuar sobre la musculatura, activándola o inhibiéndola y sobre los huesos, estimulando el crecimiento óseo o redirigiéndolo y con ello podemos conseguir una nivelación de las bases óseas. Podemos modificar maloclusiones de clase II y clase III, transformándolas en clases I.

Estos aparatos no tienen elementos activos como la aparatología removible, las fuerzas son intermitentes y las fuerzas musculares son capaces de hacer mover a las piezas dentarias y de modificar los huesos basales.

Al presentarse el desequilibrio entre las fuerzas musculares externas (labios y mejillas) y la fuerza muscular interna (lengua), ocasiona que los maxilares no tengan

un crecimiento homogéneo y surgen discrepancias entre maxilar y mandíbula y por consiguiente la instauración de diferentes malocclusiones<sup>18</sup>.

## **2.10 Aparatología Removible**

La aparatología removible es el tratamiento ortodóncico empleado en la dentición temporal y mixta utilizado para provocar cambios histológicos en los tejidos del órgano masticatorio a través de estímulos mecánicos sobre dientes y periodonto. De este modo, determinados estados patológicos diagnosticados en la dentición temporal, se corrigen con el empleo de esta aparatología<sup>19</sup>.

## **2.11 Aparatología Fija**

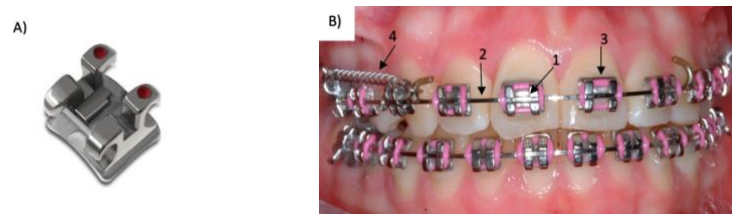
La aparatología fija consiste en una serie de aparatos que se adhieren directamente a los dientes, tal es el caso de los brackets y las bandas. Ambos se encuentran anclados firmemente a los alambres. Los alambres pueden ser de distintas aleaciones y se anclan a los brackets o bandas mediante ligas de distintos materiales según la necesidad de paciente<sup>20</sup>. Existen elementos activos y pasivos. Los elementos activos son las ligaduras y los resortes y los pasivos son los brackets.

Los brackets son componentes pasivos que consisten en pequeñas piezas cuadrangulares que se colocan en los dientes de forma fija mediante un proceso de adhesión. Los brackets están unidos a los órganos dentarios por medio de alambres y ligas que actúan como componentes activos para transmitir la fuerza de movimiento<sup>10</sup>. En conjunto, estos aparatos van moviendo los dientes hasta los sitios que le permitirán al paciente contar con una mejor función masticatoria, del habla y una mejor estética facial.

Existen dos sistemas de ligado de los brackets: de ligado convencional (alambres y elástico) y de autoligado (clip).

## 2.12 Brackets de Ligado Convencional

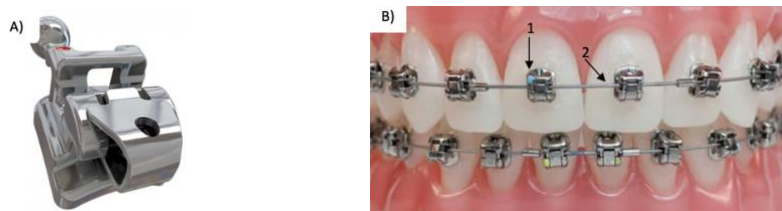
La unión entre los brackets y el arco se realiza mediante el uso de ligaduras. Las ligaduras mantienen el arco en la ranura de cada bracket y van ejerciendo fuerzas ligeras que mueven los dientes (**Figura 5**). Las ligaduras pueden ser metálicas o elásticas<sup>21</sup>.



**Figura 5. Brackets de ligado convencional.** A) Fotografía de un bracket de ligado convencional (ALAIN MEDICAL S.L.U. Madrid, Spain). B) Fotografía de la vista oclusal de un paciente con brackets de ligado convencional. 1) Bracket, 2) Arco metálico, 3) Ligas elásticas y 4) Resorte. (Fuente directa).

## 2.13 Brackets de Autoligado

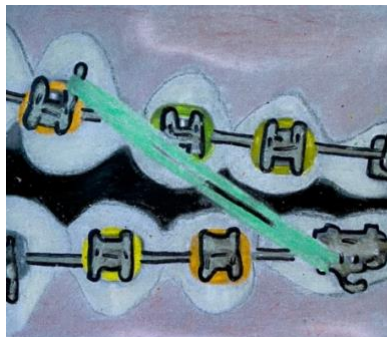
Los brackets de autoligado tienen un diseño diferente a los brackets de ligado convencional. Cada bracket tiene un clip que sujeta el arco o una cubierta que permite el paso del arco sobre la ranura (slot). Este diseño permite que el arco tenga una menor resistencia al deslizamiento <sup>22</sup>(**Figura 6**).



**Figura 6. Brackets de autoligado.** A) Fotografía de un bracket de autoligado (Dentarius). B) Fotografía de la vista oclusal de un paciente con brackets de autoligado 1) Bracket de autoligado 2) Arco metálico. (Fuente Directa).

## 2.14 Módulos Elastoméricos

Los módulos elastoméricos, elásticos o ligas forman parte de los tratamientos dentales en ortodoncia. Las principales aplicaciones clínicas de los materiales elásticos son el cierre de espacios después de una extracción dentaria terapéutica, la distalización de los caninos, las correcciones de rotaciones dentarias, las discrepancias de la línea media, la constricción del arco dental, la tracción ortodóncica de dientes impactados. Los módulos elastoméricos sirven como soportes de fijación del arco a los brackets y como sustituto de las ligaduras metálicas (**Figura 7**)<sup>23</sup>.



**Figura 7. Módulos Elastoméricos.** Ligas elásticas son polímeros de poliuretano. Este material le confieren su característica de elasticidad.

La pérdida de las propiedades físicas de los elastómeros puede verse alterada por diversos factores ambientales tales como: alta temperatura, concentración de oxígeno, cambios de pH, exposición a la luz ultravioleta, absorción de agua, acción de sustancias contenidas en el flujo salival, higiene oral, alimentos con pH ácido, acumulación de biopelícula dental en la aparatología de ortodoncia y efectos de fuerza extremas como la masticación. Por lo tanto, si los elastómeros se alteran, los movimientos dentales que se requieren en el tratamiento ortodóncico serán menos



eficaces y se requerirán de citas más frecuentes que, por lo tanto, prolongarán el tiempo de tratamiento<sup>24</sup>.

A los 30 minutos de ser colocadas en cavidad oral, las ligas presentan una disminución de fuerza, que a las 24 h disminuyen aproximadamente del 70 % al 50 % de la fuerza original. El remanente de fuerza dura las siguientes 4 semanas. Por otra parte, en el mercado existen diferentes marcas comerciales de módulos elastoméricos, los cuales pueden presentar diferente calidad debido a sus variaciones en el proceso de fabricación, aditivos agregados a las cadenas con fines estéticos como los pigmentos que proporcionan color al módulo, lo cual puede representar avances y retrocesos en el tratamiento de ortodoncia<sup>24</sup>.

## **CAPÍTULO 3**

### **BIOPELÍCULA DENTAL**

Los microorganismos orales participan en la salud y la enfermedad de la cavidad oral. Los microorganismos comensales residentes en la cavidad oral contribuyen al desarrollo del sistema inmunológico y evitan la colonización oral por microorganismos transitorios patógenos. Sin embargo, los microorganismos comensales residentes en grandes cantidades, pueden ser potencialmente patogénicos.

Toda cavidad orgánica posee una microbiota propia, es decir una población microbiana más o menos constante que vive en ella, condicionada por los elementos anatómicos protectores, factores nutricionales, humedad y oxigenación propios de esa cavidad. Esta microbiota debe ser controlada por el mismo ecosistema y para ello, esa cavidad produce un líquido que posee suficientes elementos antibacterianos para limitar esa población microbiana, y hasta para evitar infecciones en esa cavidad<sup>25</sup>.

En la cavidad oral, el ecosistema con mayor y más variada población bacteriana, existen dos dominios bien diferenciados el salival y el gingival. En el dominio salival encontramos inmunoglobulina A secretora (IgAs), lisozima, lactoferina, inhibinas, etc. Junto con estas proteínas que son parte del sistema de defensa, la saliva controla la población microbiana de todas las estructuras bucales, excepto el surco gingival. En el dominio gingival, el papel controlador microbiano recae en el líquido crevicular, que básicamente por su contenido de anticuerpos séricos, factores del complemento y las células como los neutrófilos que limitan el contenido bacteriano de el surco gingival<sup>26</sup>.

El surco gingival o crevicular es una cavidad entre la encía libre y el diente que a manera de anillo o collar rodea el cuello dentario, tiene forma de V y determina el

límite cervical de la corona clínica de los dientes. Posee uno o dos milímetros como máximo de profundidad, y está limitado en la parte interna por el esmalte dentario, por la parte externa por la encía libre o marginal, y es llamada pared blanda del surco y en su parte apical, por el epitelio de inserción. El surco gingival constituye un micro ecosistema capaz de albergar múltiples géneros bacterianos. A menudo, su porción oclusal está cerrada por la biopelícula dental, por cálculo o simplemente por saliva y/o restos alimenticios, lo que favorece la baja cantidad de oxígeno en ese espacio. El surco gingival es un sitio que favorece su colonización por diversos géneros de bacterias anaeróbicas estrictas. Cuando la encía se inflama, el surco se expande y se forma una bolsa periodontal que ahora alberga géneros bacterianos anaeróbicos estrictos y facultativos, dado que existe una baja oxigenación y gran cantidad de nutrientes para las bacterias. En el surco gingival se acumula un líquido llamado fluido crevicular, que contiene enzimas, anticuerpos, factores del complemento, interleucinas y células. El líquido crevicular se origina a partir del líquido intersticial y de los vasos sanguíneos, denominado extravasación plasmática<sup>27</sup>.

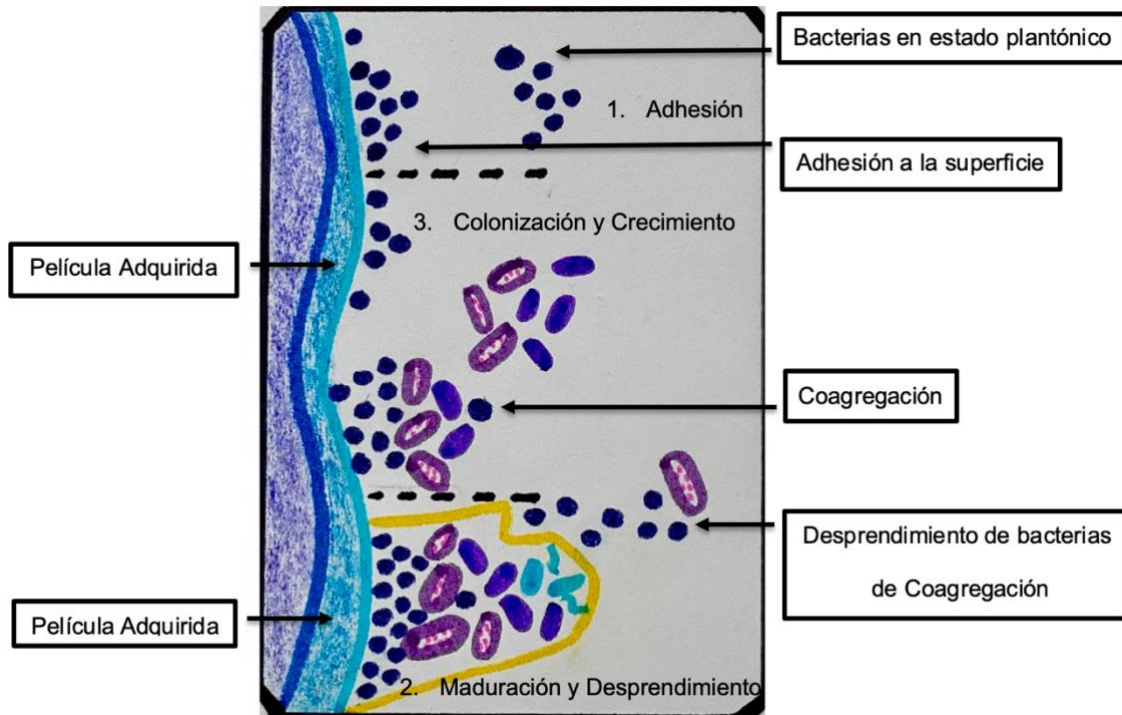
### **3.1 FORMACIÓN DE LA BIOPELÍCULA DENTAL**

La colonización secuencial y la formación de la biopelícula dental son procesos altamente organizados. Después de un cepillado dental, se forma una pequeña capa de moléculas contenidas en la saliva en todas las superficies de la cavidad oral. Esta capa se denomina película adquirida y sobre ella se comienza el proceso de formación de la biopelícula dental<sup>28</sup>.

La formación de la biopelícula dental se puede dividir en etapas: **(Figura 8)**

### **3.2 Adhesión**

La adhesión es la primera etapa de la formación de la biopelícula dental. Las bacterias llegan a la superficie y se adhieren a ella de manera irreversible por medio de la unión de adhesinas bacterianas con receptores generalmente proteicos presentes en la superficie<sup>28</sup>.



**Figura 8. Esquema de la formación de una biopelícula dental.** La secuencia de formación de biopelícula comienza con la primera etapa llamada de adhesión, es cuando las bacterias llegan a la superficie y se adhieren a ella de manera irreversible por medio de la unión de adhesinas bacterianas con receptores generalmente proteicos presentes en la superficie (1). La segunda etapa comprende el proceso de colonización y crecimiento, en esta fase las bacterias inician la producción de la matriz de sustancia polimérica extracelular lo que permite la formación de las microcolonias, el crecimiento de la población microbiana se da gracias a un proceso de coagregación específica. La tercera etapa comprende la maduración de la biopelícula, en esta fase las interacciones metabólicas dentro de las microcolonias son evidentes y también están presentes procesos físico-químicos complejos (3). (Imagen modificada de Thania Almaguer Flores, Ecología Oral.)

### 3.3 Colonización y coagregación

En la segunda etapa de la formación de la biopelícula dental comienza el proceso de invasión y crecimiento de las colonias bacterianas. En esta etapa las bacterias inician la producción de la matriz de sustancia polimérica extracelular. La matriz permite la formación de las microcolonias y el crecimiento de la población

microbiana que tiene como base una coagregación específica de tipos bacterianos<sup>28</sup>.

### **3.4 Maduración**

La maduración es la tercera etapa de la formación de la biopelícula dental, en ella, los diversos tipos de bacterias conviven y se presentan interacciones metabólicas dentro de las microcolonias<sup>28</sup>.

### **3.6 Desprendimiento**

El equilibrio dinámico de una biopelícula se alcanza cuando las capas más externas de ésta comienzan a generar células planctónicas metabólicamente activas y capaces de dividirse, las cuales pueden colonizar nuevas superficies<sup>28</sup>.

## **3.7 BIOPELÍCULA DENTAL EN ENFERMEDADES PERIODONTALES Y EN ORTODONCIA**

La cavidad oral contiene múltiples nichos para el desarrollo de biopelícula dental. El agregar aparatología de ortodoncia aumenta los sitios de colonización de bacterias y por ende, de formación de la biopelícula dental.

La acumulación de biopelícula dental promueve inflamación que se refleja como una gingivitis. Los cambios de una gingivitis a una periodontitis son el resultado de un evento inflamatorio, que es iniciado y perpetuado por bacterias por largos períodos de tiempo. Una serie de eventos celulares y moleculares ocurren en diferentes grados de complejidad tan pronto las bacterias comienzan a acumularse alrededor de los dientes. No obstante, Todas estas reacciones, son el resultado de la estimulación del sistema inmunológico, evidenciadas clínicamente aunque las

bacterias son necesarias para iniciar la enfermedad periodontal, es la respuesta inmune la responsable de la destrucción de los tejidos periodontales. como enfermedades periodontales<sup>29</sup>. Adicionalmente otros factores como hábitos nocivos y condiciones sistémicas tienen un papel importante en el desarrollo de la enfermedad.

Las bacterias comensales residentes son casi exclusivamente cocos Gram positivos anaerobios facultativos y, en especial, por *Streptococcus viridans*<sup>30</sup>. *Streptococcus mutans* se asocia frecuentemente a la caries y *Phorphyromomas gingivalis* a la enfermedad periodontal. Las enfermedades orales aparecen después de un desequilibrio entre los microorganismos orales y el sistema inmunológico. Los microorganismos están distribuidos en toda la cavidad. La cavidad oral es un ambiente húmedo con una temperatura relativamente constante entre los 34 y los 36°C, con un pH hacia la neutralidad en la mayoría de sus superficies, por lo que es ideal para el crecimiento de una gran variedad de especies bacterianas<sup>31</sup>. Como se mencionó antes, la biopelícula dental es una estructura microbianas compleja. Una biopelícula es un ensamblaje constituido por microorganismos envueltos en una matriz compuesta de polisacáridos principalmente. Este ensamblaje provee protección a la comunidad microbiana de la predación, de la perturbación física y de la presencia de sustancias tóxicas como los antibióticos<sup>32</sup>.

La evidencia clínica relaciona el uso de los aparatos de ortodoncia con un aumento en la acumulación y retención de biopelícula dental<sup>32</sup>. Esta acumulación desencadena una respuesta inflamatoria en los tejidos periodontales. Una vez que se colocan los brackets, el área para la retención de los alimentos y la acumulación de la biopelícula dental aumentan de manera importante. Si la biopelícula no es removida se convierte en un factor de riesgo pues será un sustrato para la acumulación de más microorganismos<sup>33</sup>.

En el sistema de ligado convencional, el método de ligación del arco es un factor asociado al acúmulo de biopelícula dental. Una desventaja que presentan los

módulos elastoméricos utilizados durante el tratamiento ortodóncico es que favorecen la formación de la biopelícula dental, tanto a nivel supragingival como en la infra gingival, aumentan la acumulación de restos de comida y dificulta el aseo dental diario. Los brackets ligados con módulos elastoméricos retienen más biopelícula de *Streptococcus mutans*. Las enzimas proteolíticas y metabolitos ácidos producidos por diversas especies bacterianas que se encuentran en cavidad oral, pueden influir en el deterioro de la superficie de los módulos elastoméricos reduciendo así la vida útil del elastómero<sup>21</sup>.

A diferencia del ligado convencional, una de las características atribuidas al sistema de autoligado es la disminución en la acumulación de biopelícula dental, ya que tiene un sistema incorporado para el ajuste del arco (clips), mientras que los brackets convencionales requieren de un aditamento extra como ligaduras elásticas o ligadura metálica.

Independientemente del sistema de ligado, el aumento de la presencia bacteriana es un efecto secundario del tratamiento de ortodoncia y representa un problema para los pacientes con susceptibilidad al desarrollo de caries<sup>34</sup>.

# CAPÍTULO 4

## SISTEMA INMUNOLÓGICO

El sistema inmunológico está conformado por una serie de mecanismos de defensa compuesto por un conjunto heterogéneo de células que confieren protección contra agentes extraños. Este sistema se basa en una red compleja de comunicación entre células en diversos sitios del cuerpo<sup>35</sup>, llevando a cabo respuestas protectoras, específicas y rápidas contra múltiples patógenos. El sistema inmunológico es responsable de mantener la homeostasis a través de la eliminación de células y moléculas derivadas de diversas fuentes malignas como virus, bacterias, protozoarios, entre otras. Por tanto, el sistema inmunológico es muy eficaz y específico al decidir acerca de cuándo y cómo tolerar a antígenos derivados del organismo hospedero o de otros organismos cuando es necesario<sup>36</sup>.

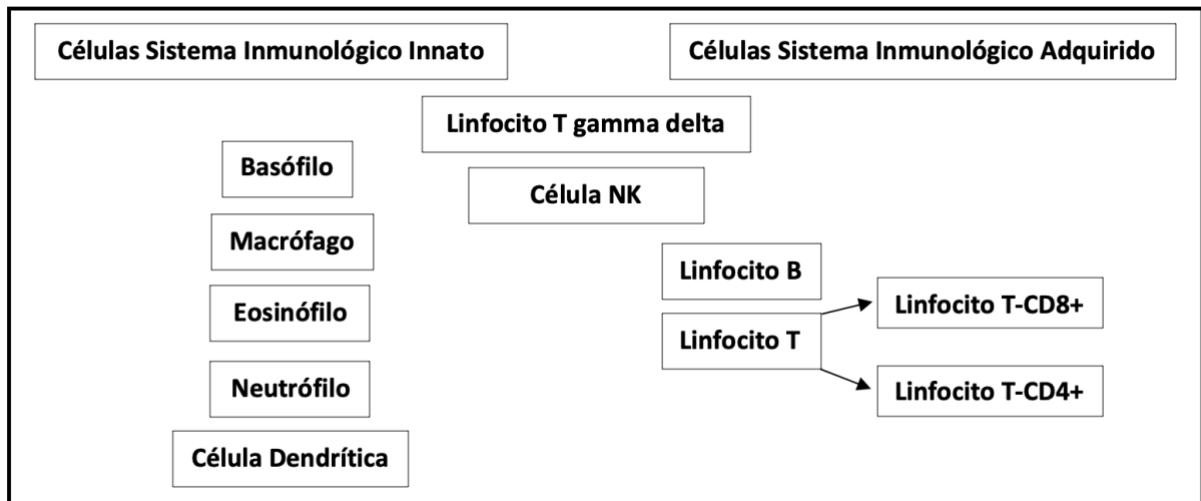
Los procesos biológicos más importantes de la respuesta inmune son:

- a)** La eliminación de agentes microbianos a través de los mecanismos de protección no específicos del sistema inmunológico innato.
  
- b)** La transferencia de información por parte del sistema inmunológico innato a las células del sistema adaptativo y por lo tanto, generar respuestas en la forma y momento apropiados.
  
- c)** El reconocimiento de antígenos extraños por medio de las células del sistema inmunológico adaptativo y la movilización de mecanismos potentes para la eliminación de los microbios que traen consigo estos antígenos.
  
- d)** El desarrollo de la memoria inmunitaria a partir de sus respuestas a exposiciones anteriores y la tolerancia a antígenos propios<sup>37</sup>.



Debido a la presión selectiva impuesta por los diversos microorganismos infecciosos, el sistema inmunológico evolucionó, teniendo como resultado que los organismos multicelulares desarrollaran mecanismos de defensa con la capacidad de activarse y eliminar los factores infecciosos presentes en el hospedero. Filogenéticamente, el mecanismo más antiguo de defensa se conoce como sistema inmunológico innato, el cual posee receptores para el reconocimiento de patógenos microbianos. Además, se encuentra el sistema inmunológico adaptativo, característico sólo de las especies vertebradas y genera un amplio repertorio de receptores antigénicos con numerosas especificidades<sup>36</sup>.

El sistema inmunológico puede dividirse desde el punto de vista funcional en dos tipos: La inmunidad innata y la inmunidad adaptativa. La inmunidad innata es la primera línea de defensa frente a agentes infecciosos. La mayoría de los agentes patógenos pueden controlarse antes de que se produzca una infección declarada. La inmunidad adaptativa se desarrolla posteriormente a la inmunidad innata y elabora una respuesta específica para cada agente infeccioso y guarda memoria de el <sup>35</sup> (Figura 9).



**Figura 9. Inmunidad innata y adaptativa.** Principales células del sistema inmunitario y adquirido. Los linfocitos T gamma-delta y las células NK se sitúan a medio camino entre la inmunidad innata y la adquirida.

## **4.1 Sistema inmunológico Innato**

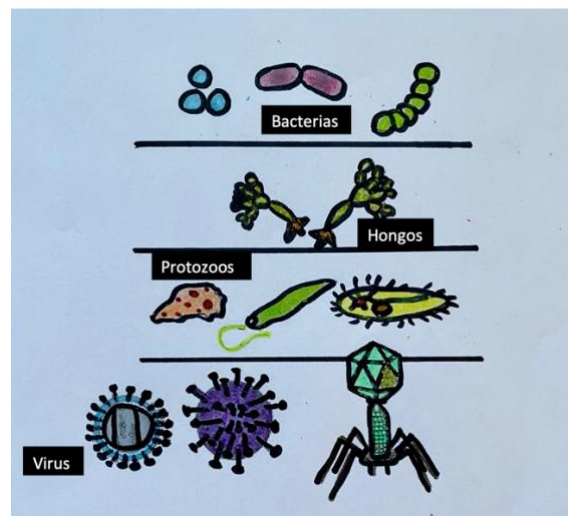
La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra los microorganismos, es la protección que existe en el momento de nacer, siempre está disponible para proporcionar respuestas rápidas que protegen contra la enfermedad y no implica el reconocimiento específico de un microorganismo<sup>36</sup>. Se caracteriza por establecer respuestas a los pocos minutos de exposición a antígenos microbianos, generando una respuesta inflamatoria de protección y desempeña un papel importante en la activación de la respuesta inmune adaptativa subsiguiente. Aunque su repertorio de receptores es limitado para detectar patógenos invasores, puede compensar esta limitante gracias a que existen muchos componentes microbianos altamente conservados que son compartidos por grandes grupos de agentes infecciosos. El sistema inmunológico innato consta de mecanismos de defensa celulares y bioquímicos cuyos principales componentes son: a) barreras físicas y químicas, como el epitelio y sustancias antimicrobianas producidas en las superficies epiteliales, b) células fagocíticas (neutrófilos y macrófagos), c) células dendríticas y linfocitos citolíticos naturales (NK) y d) proteínas sanguíneas, incluyendo el sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación y citocinas <sup>38</sup>.

## **4.2 Sistema inmunológico Adaptativo**

El sistema inmunológico adaptativo, también conocido como específico o adquirido, surge en respuesta a la infección y se adapta a ella. Es un tipo de respuesta inmune estimulada por la exposición a microorganismos infecciosos y aumenta en magnitud y capacidad defensiva con cada exposición sucesiva a un microorganismo en particular. Éste tiene una gran especificidad frente a moléculas diferentes, genera memoria inmunológica y por ello exhibe una gran capacidad para recordar y responder a exposiciones repetidas al mismo microorganismo, y desarrolla extraordinarias habilidades para distinguir entre diferentes antígenos, aunque estos sean muy similares <sup>37</sup>.

Las células del sistema inmunológico adaptativo son los linfocitos B y T. Estas células son altamente móviles y después de su desarrollo en los órganos linfáticos primarios (médula ósea y timo) se trasladan a los órganos linfáticos secundarios (bazo y ganglios linfáticos), los cuales sirven para capturar antígenos en circulación. Por ello, la inmunidad adaptativa surge en estas zonas bajo la influencia de las señales de la inmunidad innata provistas directamente por los patógenos en circulación o indirectamente por las células presentadoras de antígenos (APC, por sus siglas en inglés) activadas por patógenos <sup>38</sup>.

El cuerpo humano posee un sistema inmunológico que es un conjunto de órganos, tejidos, células, moléculas y receptores, capaz de identificar y eliminar agentes patógenos, como bacterias, hongos, parásitos y virus (**Figura 10**). Estos organismos son capaces de lesionar los tejidos. El sistema inmunológico elabora una respuesta coordinada para reaccionar al daño que pueden producir estos agentes en caso de traspasar las primeras barreras biológicas de defensa e introducirse en el organismo. El sistema inmunológico es capaz de diferenciar los componentes propios del organismo, mediante un mecanismo de tolerancia<sup>35</sup>.



**Figura 10. Microorganismos patógenos.** Los microorganismos patógenos, capaces de causar enfermedades, pueden ser de distintos tipos; por ejemplo las bacterias, los virus, los hongos y los protozoos son capaces de causar enfermedades infecciosas.

Las primeras defensas con las que se enfrentan los agentes externos al intentar penetrar en el organismo son totalmente inespecíficas y están constituidas por las barreras anatómicas, de índole física, química o biológica características de cada localización, mientras que algunas, como la temperatura, son sistémicas. Entre todas conforman la inmunidad innata, y aunque se la denomina inespecífica, son capaces de discriminar lo propio de lo ajeno y actuar de forma rápida frente a los segundos. La importancia de estas barreras está reflejada en la facilidad con la que se adquieren infecciones cuando falla alguna de ellas<sup>39</sup>.

### **4.3 Células Asesinas Naturales (Natural Killer)**

Dentro de la respuesta inmune innata se encuentran las células citolíticas naturales o Natural Killer (NK), que pertenecen a una subpoblación de linfocitos altamente heterogénea, derivadas de la médula ósea y que comparten la línea filogenética con los linfocitos T<sup>40</sup>. En la sangre periférica representan un 10- 15%, morfológicamente presentan gránulos azurófilos en su citoplasma y son más grandes que los linfocitos T y B. Poseen la capacidad de lisar distintas células tumorales y células infectadas por virus sin la necesidad de sensibilización previa. Se les atribuye el rol de primera línea defensiva contra células neoplásicas o infectadas por virus. Las células NK expresan proteínas en sus membranas que son específicas y son utilizadas como marcadores fenotípicos para distinguirlas entre distintas poblaciones de linfocitos<sup>41</sup>.

### **4.4 Macrófagos**

Los macrófagos se originan a partir de monocitos sanguíneos que dejan la circulación para diferenciarse en distintos tejidos, son células especializadas que forman parte del sistema fagocítico mononuclear, el cual engloba a un conjunto de células (monoblastos, promonocitos, monocitos y macrófagos) derivadas de un precursor común y una de cuyas funciones principales es la fagocitosis. Junto con los neutrófilos, el sistema fagocítico mononuclear constituye el principal mecanismo de defensa del organismo frente a agentes extraños como los microorganismos<sup>42</sup>.

Además, pueden presentar antígenos a las células e iniciar el proceso inflamatorio mediante la liberación de moléculas (llamadas citocinas), que activan otras células. A diferencia de otras células del sistema inmunológico, tales como los linfocitos B y T, los cuales en condiciones basales se encuentran en quiescencia o reposo y cuya activación siempre conlleva un proceso de expansión clonal caracterizado por una elevada tasa proliferativa, los macrófagos, o bien se encuentran proliferando, o bien se activan, dejan de proliferar y pasan a ejercer sus funciones específicas. En ausencia de estímulos que los induzca a proliferar o a activarse, los macrófagos sólo pueden permanecer en estado de reposo durante un corto periodo de tiempo y posteriormente mueren por procesos de apoptosis<sup>43</sup>.

#### **4.5 Linfocitos T y B**

Las células del sistema inmunológico adaptativo son una clase especial de leucocitos, llamados linfocitos. Las células B y las células T son las clases principales de linfocitos y derivan de células madre hematopoyéticas pluripotenciales de la médula ósea<sup>44</sup>.

Las células B están involucradas en la respuesta inmune humoral, mientras que las células T lo están en la respuesta inmune mediada por células. Las células B y T contienen moléculas receptoras que reconocen objetivos o blancos específicos. Las células T reconocen un objetivo no-propio, como un patógeno, solo después de que los antígenos (pequeños fragmentos del patógeno) han sido procesados y presentados en combinación con un receptor propio, una molécula del llamado complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés). Hay dos subtipos principales de células T: la célula T asesina (linfocito T-CD8) y la célula T colaboradora o ayudante (linfocito T-CD4). Las células T asesinas solo reconocen antígenos acoplados a moléculas del MHC de clase I, mientras que las células T colaboradoras solo reconocen antígenos acoplados a moléculas del MHC de clase II. El receptor específico de antígeno de las células B es una molécula de anticuerpo en la superficie de la célula B, y reconoce patógenos completos sin la necesidad de

que los antígenos sean procesados previamente. Cada linaje de células B expresa en su superficie un anticuerpo diferente, de forma que el conjunto completo de receptores de antígenos de las células B de un organismo, representa todos los anticuerpos que ese organismo es capaz de fabricar<sup>45</sup>.

# CAPÍTULO 5

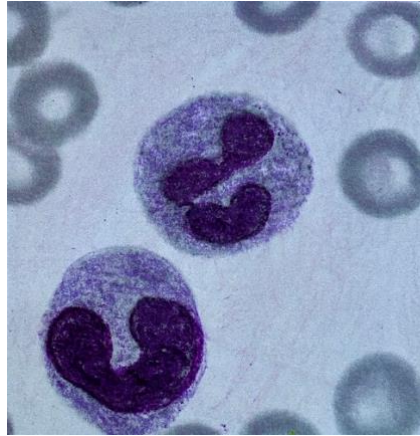
## NEUTRÓFILOS

Los neutrófilos son leucocitos polimorfonucleares (PMN), se caracterizan por la forma multilobulada de su núcleo (**Figura 11**), se llaman neutrófilos porque no se tiñen con colorantes ácidos ni básicos. Los neutrófilos son componentes esenciales del sistema inmunológico innato. Son las principales células fagocíticas encontradas en sangre periférica y corresponden a un 50-70% del total de células de la serie blanca<sup>46</sup>.

Los neutrófilos son producidos en la médula ósea a partir de células troncales mieloides, por medio del proceso denominado “granulopoyesis”, donde maduran y producen enzimas y proteínas antimicrobianas, las cuales son almacenadas en diferentes gránulos. Posteriormente, los neutrófilos circulan por el torrente sanguíneo durante periodos relativamente cortos ya que su vida media es de solo 8-20 horas en circulación, aumentando varias veces esta vida media al entrar en tejidos infectados o inflamados<sup>47</sup>.

Morfológicamente, se caracterizan por presentar un núcleo con cromatina compacta y segmentada de 2-5 lóbulos. El núcleo de los neutrófilos inmaduros no está segmentado y se observa como una sola banda.

Su citoplasma contiene abundantes gránulos finos de color púrpura (cuando se tiñen con colorante de Giemsa) que contienen abundantes enzimas líticas<sup>46</sup>.



**Figura 11. Estructura de los neutrófilos.** Los neutrófilos engullen y destruyen bacterias y otros patógenos. Tipo más abundante de glóbulos blancos en la sangre.

Se les considera la primera línea de defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas. Los neutrófilos son los primeros en llegar al tejido afectado, seguidos por los macrófagos y linfocitos. Cuando se produce un daño o una infección los neutrófilos migran al sitio de inflamación dirigidos por señales químicas como interleucina 8 (IL-8), en un proceso llamado quimiotaxis.

En la cavidad oral, existe una migración continua de neutrófilos debido a la presencia de biopelícula dental. Esta migración se realiza desde el plexo vascular hacia el epitelio de inserción y hacia el surco gingival<sup>47</sup>.

Este desplazamiento de los neutrófilos desde los capilares sanguíneos hasta el surco gingival consta de varias etapas:

**1. Marginación:** contacto de los neutrófilos con las paredes de la vasculatura gingival.

**2. Adherencia al endotelio:** interacción entre glucoproteínas superficiales de los neutrófilos y su correspondiente receptor en células endoteliales (selectina E).



También se produce interacción entre la integrina  $\beta 2$  y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), presente en las células endoteliales.

**3. Diapédesis:** es la migración transendotelial. Se activan proteínas contráctiles y las uniones de las células endoteliales. Posteriormente, los neutrófilos atraviesan el endotelio y la membrana basal hasta llegar al espacio extravascular. Para que esto suceda es necesario que el neutrófilo sea atraído hacia la biopelícula dental. Este fenómeno se denomina “quimio taxis” y es llevado a cabo por medio de diferentes moléculas como: la interleucina 8 (IL-8), el factor C5a del complemento (C5a), el leucotrieno B4 (LTB4), los péptidos de N-formil y los factores de activación plaquetaria<sup>48</sup>.

La alta cantidad de neutrófilos en el líquido gingival es indicativa de enfermedad periodontal, sobre todo en la periodontitis del adulto. También la actividad de la elastasa bacteriana es un indicador de inflamación gingival, ya que se ha demostrado que esta enzima produce daño directo a las células epiteliales del surco cuando ésta es abundante en el líquido gingival, y su actividad está relacionada con el sangrado gingival<sup>49</sup>.

## **5.1 FUNCIONES DE NEUTRÓFILOS**

### **5.2 Trampas Extracelulares de Neutrófilos**

En el 2004, Brinkmann y colaboradores (2004) mediante microscopia electrónica e inmunofluorescencia, observaron estructuras filamentosas en forma de redes, estas se extendían desde los neutrófilo hasta las bacterias cultivadas con los neutrófilos, los filamentos observados presentaban un diámetro de 15 a 17 nm, con dominios globulares de 25 nm y agregados mayores a 50 nm, marca de fluorescencia positiva para proteínas de los gránulos sobre el DNA, interesantemente para los investigadores estas estructuras solo eran degradadas por DNAsas; los filamentos que

observaron fueron nombrados como: Trampas Extracelulares de Neutrófilos (Neutrophils Extracellular Traps; NET), por su capacidad de “atrapar” y destruir a los patógenos. Actualmente se conoce que éstas NET están conformadas por DNA nuclear o mitocondrial, en unión con histonas y proteínas de gránulos primarios y secundarios como la mieloperoxidasa, elastasa, captosina G, lactoferrina, triptasa, gelatinasa, proteinasa 3, proteínas de permeabilidad bacteriana (BPI), entre otras. Las redes de DNA pueden inmovilizar a los microorganismos, por las interacciones electrostáticas entre las superficies cargadas negativamente del esqueleto del DNA, y en donde se encuentran embebidas las moléculas catiónicas de las NET así como las superficies aniónicas microbianas. Las histonas son potentes antimicrobianos que promueven la lisis bacteriana. Las enzimas y los péptidos antimicrobianos derivados de los gránulos tienen la capacidad de degradar los factores de virulencia, inhibir el crecimiento celular, permeabilizar las membranas y finalmente producir la muerte microbiana<sup>50</sup>.

Una función importante de las NET es concentrar y potencializar el ataque antimicrobiano en el sitio de la infección, para evitar la diseminación de moléculas tóxicas que pueden provocar daño al tejido circundante. Estudios recientes han demostrado que bacterias, hongos, virus y protozoarios, inducen la liberación de NET, sin embargo no en todos los casos se ha encontrado un efecto microbicida, debido a que algunos microorganismos pueden escapar de dichas trampas por medio de la liberación de DNAsas que degradan el DNA en el que se encuentran atrapados<sup>51</sup>.

Las trampas extracelulares de neutrófilos juegan un papel importante en la protección como parte de la inmunidad innata, es un mecanismo de defensa de los neutrófilos en los seres humanos, se han identificado en diferentes tejidos como circulación sanguínea, riñones, pulmones, piel<sup>52</sup>.

El principal mecanismo de acción de las NET es su efecto microbicida, sin embargo su acción también puede regular la magnitud de la respuesta inmune, ya sea

exacerbándola o limitándola, la presencia de LL37 en las redes es un estímulo que potencializa la respuesta de las células dendríticas, mientras que en los macrófagos, la fagocitosis de las NET puede exacerbar o disminuir su respuesta frente a los patógenos, otras proteínas presentes en las NET como las proteínas S 100 y azurocidina aumentan la respuesta inflamatoria. Las NET no son exclusivas de los neutrófilos, también se han reportado en diferentes tipos de células como mastocitos, eosinófilos y macrófagos<sup>51</sup>.

A partir del descubrimiento de las NET como un mecanismo novedoso de defensa por parte de los neutrófilos, surgieron numerosas investigaciones sobre dicho mecanismo, aunque en un inicio estas estuvieron enfocadas sobre el efecto benéfico de las NET en contra de patógenos, sus efectos perjudiciales en enfermedades con respuestas inflamatorias exacerbadas no tardaron en ser reconocidos<sup>52</sup>.

### **5.3 Estallido Respiratorio**

El estallido respiratorio o explosión respiratoria (conocido también como estallido o explosión oxidativa) es el proceso donde algunas células son capaces de producir y liberar especies reactivas de oxígeno, tales como radicales superóxido y peróxido de hidrógeno. Se caracteriza por un aumento muy violento en la demanda de oxígeno y en el consumo de energía a nivel celular, de ahí su nombre, es un mecanismo frecuentemente utilizado por las células del sistema inmunológico para producir compuestos con capacidad microbicida, tales como el peróxido de hidrógeno y el anión hipoclorito<sup>53</sup>.

Las células fagocíticas tales como los neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos destruyen a los microorganismos fagocitados produciendo el fagolisosoma un tipo especial de fagosoma donde son encerrados y destruidos por medio de compuestos tóxicos para ellos. Estos compuestos se producen por dos

vías, una independiente del oxígeno, por ejemplo lisozima y lactoferrina y otra dependiente de oxígeno, en la cual se producen especies reactivas del mismo<sup>54</sup>.

El término explosión respiratoria se utiliza usualmente para denotar liberación de estas especies reactivas de oxígeno por las células fagocíticas del sistema inmunológico, tales como por ejemplo neutrófilos y monocitos cuando entran en contacto con diferentes tipos de bacterias u hongos. La explosión respiratoria juega un papel muy importante en el sistema inmunológico, es una reacción crucial que ocurre en los fagocitos donde es utilizada para matar y degradar los microorganismos fagocitados. Las células fagocíticas del sistema inmunológico utilizan NADPH para reducir el  $O_2$  a radicar superóxido; el peróxido obtenido es luego atacado por la enzima superóxido para formar peróxido de hidrógeno, el cual a su vez sirve de sustrato a la enzima peroxidasa para oxidar a hipoclorito, hipobromito e hopoyodito, compuestos extremadamente tóxicos para los microorganismos<sup>53</sup>.

El estallido respiratorio en las células fagocíticas es tan potente y violento que la mayor parte de las veces causa la muerte de la célula por consumo de equivalentes de reducción, por la formación de radicales libres y por desequilibrio en los potenciales de hidrógeno<sup>54</sup>.

# CAPÍTULO 6

## FAGOCITOSIS

La fagocitosis es uno de los procesos biológicos de mayor relevancia en nuestro organismo ya que es importante para la nutrición en organismos unicelulares, mientras que en los organismos multicelulares se encuentran células especializadas llamadas fagocitos. La fagocitosis se define como la capacidad de una célula de reconocer e ingerir otras partículas mayores a  $0,5\mu\text{m}$  en una vesícula derivada de la membrana plasmática, conocida como fagosoma.

Los fagocitos pueden ingerir patógenos microbianos, pero también células apoptóticas. De esta manera, contribuyen a la limpieza de millones de células que se entregan cada día. Por tanto, la fagocitosis es una acción esencial no solo para la eliminación microbiana, sino también para mantener la homeostasis del tejido así como tiene un papel de remodelación y reparación tisular<sup>55</sup>.

La fagocitosis se trata de una función especializada, que muy pocos tipos celulares pueden llevar a cabo. Entre ellos, los principales fagocitos profesionales son monocitos, macrófagos, neutrófilos, otras células como las células dendríticas, osteoclastos y eosinófilos también tienen esta función, pero es menos significativa que en los tipos celulares anteriores. Estas células se encargan de eliminar los microorganismos y de presentarlos a las células del sistema inmunitario adaptativo<sup>56</sup>.

La fagocitosis se realiza en varios pasos que se describen a continuación:

### **1- Reconocimiento de partículas**

El primer paso en la fagocitosis es la detención de la partícula por los fagocitos, mediante receptores especializados en la membrana celular. Se encuentran varios tipos de receptores en un solo fagocito y cooperan para el reconocimiento y la ingestión de la partícula, pueden ser reconocidos directamente por receptores que se unen a moléculas que no se encuentran en organismos superiores, o indirectamente a través de opsoninas<sup>57</sup>.

Una vez que el microorganismos es reconocido como extraño, se inicia una cascada de señales dentro de la célula.

Los fagocitos deben reconocer una gran cantidad de partículas diferentes que potencialmente podrían ser ingeridas. Este reconocimiento se logra gracias a una extensa variedad de receptores en su superficie (**tabla 1**) que detectan y distinguen a la partícula como un objetivo que puede entrar a nuestro organismo, un ejemplo de estos receptores son los receptores tipo Toll, los cuales son moléculas clave en el reconocimiento de patógenos, siendo capaces de disparar la respuesta inmunológica.

Los receptores de la membrana plasmática de los fagocitos se pueden dividir en receptores opsónicos o no opsónicos. Los receptores no opsónicos pueden reconocer directamente grupos moleculares en la superficie del fagocito<sup>57</sup>.

**Tabla 1. Receptores, ligandos y funciones**

Receptores	Ejemplos	Ligandos	Funciones
Receptores de reconocimiento de patron. (PRR)	Receptores Toll (TLR) Receptores tipo toll  Dectina-1  Receptor de manosa  CD14  Scavenger receptor A	   Polisacáridos de algunas células de levadura  Manosa  Proteína de unión a lipopolisacáridos  Lipopolisacárido, ácido lipoteicoico	Detectan los PAMPs que se encuentran en los microorganismos y se unen a ellos.
Receptores opsonicos	FcγRI (CD16a)  FcαRI (CD89)  FcεR1  CR1 (CD35)  CR3  CR4	IgG  IgA1, IgA2  IgE  Manosa-Lectina de unión a Manosa, C1q, C4b, C3b  iC3b  iC3b	Se unen a los microorganismos opsonizados y favorecen la internalización.
Receptores de cuerpos apoptóticos	TIM-1  TIM-4  BAI-1  Estabilina- 2  CD36	Fosfatidilserina  Fosfatidilserina  Fosfatidilserina  Fosfatidilserina  Lípidos oxidados	Se unen a los cuerpos apoptóticos para su eliminación.

## **2- Internalización de partículas**

Cuando una partícula interactúa con los receptores de fagocitos, se desencadenan una serie de eventos de señalización para activar la fagocitosis. Se producen cambios importantes en la remodelación del citoesqueleto de actina y la membrana de la cual saldrán unas prolongaciones, denominadas pseudópodos que recubren la partícula. En el punto de contacto, se forma una depresión de la membrana (la copa fagocítica). Luego, la membrana rodea la partícula objetivo y en pocos minutos se cierra en el extremo distal, quedando un compartimiento denominado fagosoma<sup>57</sup>.

## **3- Formación de fagosoma**

La fagocitosis comienza por la interacción de receptores fagocíticos con ligandos en la superficie de las partículas diana. Luego, los receptores deben agregarse para iniciar las vías de señalización que regulan el citoesqueleto de actina, de modo que el fagocito puede producir protuberancias de membrana para involucrar a la partícula.

Finalmente, la partícula se encierra en una nueva vesícula que se desprende de la membrana plasmática<sup>57</sup>.

## **4- Maduración del fagolisosoma**

El fagosoma cambia la composición de su membrana y su contenido, para convertirse en un fagolisosoma, una vesícula que puede destruir a la partícula ingerida. Esta transformación se conoce como maduración del fagosoma (Figura

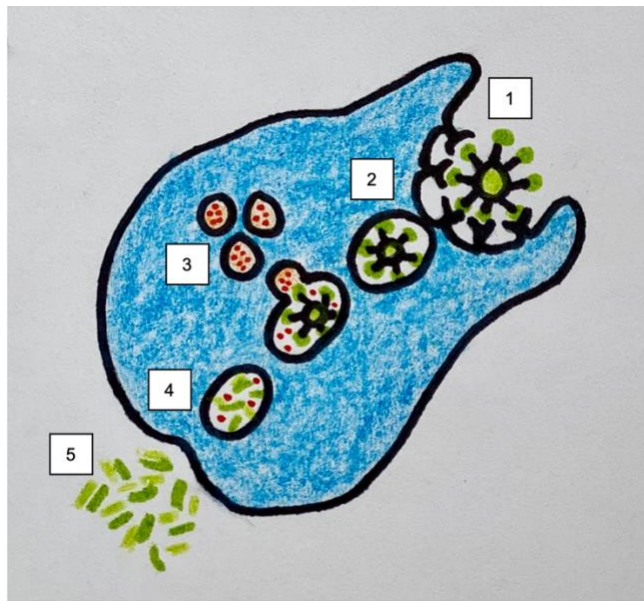


12) y consiste en interacciones sucesivas de fusión entre el nuevo fagosoma y los endosomas tempranos, los endosomas tardíos y finalmente los lisosomas.

Al final, el fagosoma maduro, también llamado fagolisoma, tiene una composición de membrana diferente, lo que le permite contener un ambiente muy ácido y degradante<sup>57</sup>.

## 5- Fagolisosoma

La última etapa en el proceso de maduración implica la fusión de fagosomas tardíos con lisosomas, para convertirse en fagolisosomas. Los fagolisosomas son el orgánulo microbicida definitivo<sup>57</sup>.



**Figura 12. Proceso de fagocitosis.** El proceso de fagocitosis que muestra la formación de fagolisosomas. 1) Captan agentes patógenos, fragmentos celulares y otros, mediante un mecanismo de adhesión. 2) Engloban e internalizan formando el fagosoma. 3) El fagosoma se une a un lisosoma. 4) Formando un fagolisosoma para la degradación del microorganismo. 5) Eliminación. El lisosoma (mostrado en verde) se fusiona con el fagosoma para formar un fagolisosoma.

Una vez que el neutrófilo ha cumplido su función, muere por apoptosis (muerte celular programada) y es eliminado por macrófagos para evitar la posible liberación de su contenido citotóxico al medio extracelular, hecho que pudiera ocurrir en caso de muerte por necrosis<sup>57</sup>.

## **6.1 FAGOCITOSIS EN CAVIDAD ORAL**

Los cambios morfofuncionales que se producen en las estructuras de soporte dentario durante el movimiento ortodóncico involucran procesos bioquímicos, histológicos y fisiológicos<sup>58</sup>.

Siempre que el cuerpo humano, o algún órgano, recibe un estímulo o alteración de su condición fisiológica normal, se producen respuestas o reacciones adaptativas para mantener las funciones regulares de este. Generalmente ocurre una reacción primaria para regular las alteraciones leves y, según aumenten la intensidad del estímulo y su continuidad en el tiempo, mayor será la respuesta, al hacer que esta se prolongue y agrave, con la modificación del normal y correcto funcionamiento fisiológico. Durante la realización del movimiento dentario por ortodoncia, ocurren una serie de respuestas a un estímulo determinado conocido como fuerza. La reacción del organismo variará según la intensidad de la fuerza aplicada, su dirección y duración en el tiempo, así mismo se considerarán como variables importantes: la conformación estructural del hueso alveolar, las fibras periodontales y la morfología dentaria<sup>59</sup>. La comprensión de los mecanismos celulares y moleculares que regulan el movimiento ortodóncico, las modificaciones celulares y las alteraciones estructurales que llevan a la liberación de mediadores químicos, así como la evaluación de los cambios celulares y vasculares de los procesos

inflamatorios que ocurren durante el tratamiento ortodóncico, resultan un conocimiento imprescindible para el especialista, a fin de evitar daños en los tejidos involucrados y el fracaso de la terapéutica<sup>60</sup>.

El movimiento dentario ortodóncico involucra procesos bioquímicos, fisiológicos e histológicos, en un escenario donde se produce un proceso inflamatorio que no es patológico, pero donde los mediadores químicos liberados (principalmente prostaglandinas y citosinas) poseen una importante función, al modular y regular dichos procesos para permitir el movimiento dentario. La comprensión de los mecanismos celulares y moleculares que regulan el movimiento ortodóncico resulta un conocimiento imprescindible para el especialista, pues así se evitan daños en los tejidos involucrados y el fracaso del tratamiento <sup>59</sup>(Figura 13).

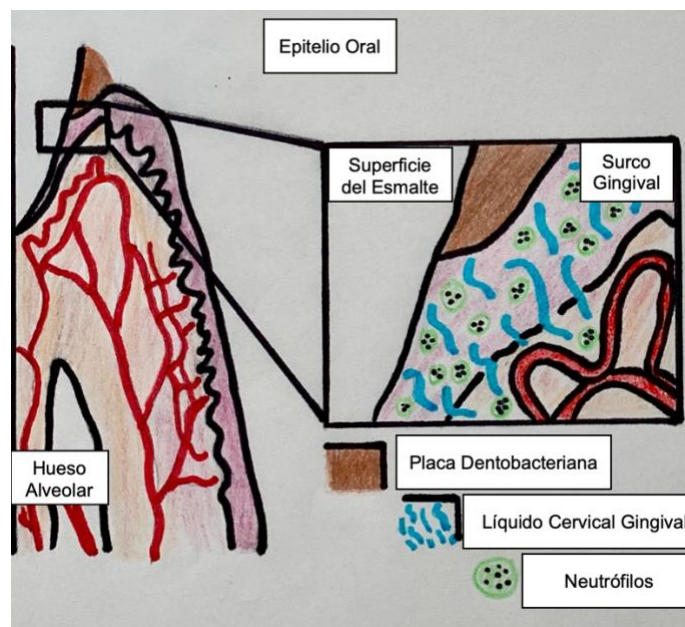


Figura 13. Migración de neutrófilos a cavidad oral.

Es evidente que la fagocitosis es fundamental para la homeostasis tisular, controlando aspectos importantes de la inflamación y la respuesta inmune. Hay que resaltar que algunas bacterias han desarrollado estrategias para evitar este proceso, y crean resistencia a la acción del sistema inmunitario y dificultad para que las elimine el organismo<sup>61</sup>.

Por tanto, el propósito de este proyecto es evaluar el papel funcional de los neutrófilos orales de pacientes con aparatología ortodóncica convencional y de autoligado. Este conocimiento es fundamental para entender el papel de los neutrófilos durante una inflamación aguda.

En este trabajo se plantea probar si los neutrófilos orales de pacientes con gingivitis causada por el uso de aparatología ortodóncica de autoligado fagocitan más que los neutrófilos de pacientes con gingivitis causada por el uso de aparatología convencional.

## **7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El uso de aparatología ortodóncica conlleva dificultad para mantener una higiene oral adecuada por lo que muchos de los pacientes que están en un tratamiento de ortodoncia desarrollan gingivitis por la acumulación de biopelícula dental. En la actualidad existen tratamientos de ortodoncia con brackets de autoligado que permiten una mejor higiene oral de los pacientes que por ende desarrollan menor inflamación gingival. La gingivitis es una inflamación de la encía que puede evolucionar a periodontitis y es regulada en gran medida por los neutrófilos de la cavidad oral que llegan al surco gingival. El conocer el papel de fagocitosis de los neutrófilos de la cavidad oral en pacientes con aparatología ortodóncica convencional y de autoligado nos permitirá entender el mecanismo de resolución de la inflamación en pacientes con aparatología ortodóncica.

## **8. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Los tratamientos de ortodoncia generalmente son largos, pueden durar de meses y hasta años. La mayor parte de los pacientes con aparatología ortodóncica desarrollan gingivitis ya que se crean áreas de retención que predisponen a la mayor acumulación de biopelícula dental supragingival. Esta biopelícula altera las condiciones normales del medio oral cambiando la composición de la microbiota oral. El desarrollo de nuevos aparatos fijos como son los brackets de autoligado, presentan una nueva solución para disminuir la acumulación de biopelícula dental. Este estudio aportará información sobre la capacidad fagocítica de los neutrófilos en donadores con aparatología ortodóncica. Así mismo, nos permitirá entender mejor el proceso inflamatorio de los donadores con aparatología de ortodoncia de ligado convencional y de autoligado.

## **9. HIPÓTESIS**

Los neutrófilos orales de donadores con aparatología ortodóncica de ligado convencional presentan mayor fagocitosis que los neutrófilos orales de donadores con aparatología de autoligado.

## **10. HIPÓTESIS ALTERNA**

Los neutrófilos orales de donadores con aparatología ortodóncica de ligado convencional presentan menor fagocitosis que los neutrófilos orales de donadores con aparatología de autoligado.

## **11. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la fagocitosis en neutrófilos orales de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica convencional y en donadores con aparatología ortodóncica de autoligado.

## **12. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Obtener y purificar neutrófilos orales de los tres grupos de donadores.
2. Medir la fagocitosis de neutrófilos de los cuatro grupos.

## **13. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **13.1 Tipo de estudio**

El tipo de estudios es analítico experimental.

### **13.2 Donadores**

El estudio se conformó por cuatro grupos de donadores voluntarios:

Un grupo de donadores voluntarios de neutrófilos sanguíneos, y tres grupos de donadores voluntarios de enjuagues orales: voluntarios sin aparatología ortodóncica, con aparatología de ortodoncia de ligado convencional y con aparatología de autoligado.

Los neutrófilos sanguíneos fueron purificados y donados por el laboratorio del Dr. Carlos Rosales del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Todos los donadores voluntarios de enjuagues orales firmaron un consentimiento informado (**anexo 1**). Los voluntarios con aparatología de Ortodoncia fueron seleccionados por el Dr. Francisco Marichi de la clínica de Ortodoncia para que cumplieran con los criterios de inclusión del estudio. De cada voluntario se completó una ficha clínica (**anexo 2**).

A cada uno de los participantes se les realizó un Control Personal de Placa (CPP) para conocer su estado de salud oral (**anexo 3**). De acuerdo con este control, únicamente se tomaron pacientes que tuvieran un diagnóstico bucal sano.

### **13.3 Criterios de inclusión para donadores sin aparatología ortodóncica**

1. Voluntarios sanos periodontalmente.
2. Voluntarios que no presenten enfermedades sistémicas.
3. Control Personal de Placa (CPP).
4. Voluntarios que firmen el consentimiento informado y llenado la ficha clínica.

### **13.4 Criterios de inclusión para donadores con aparatología ortodóncica**

1. Voluntarios sanos periodontalmente
2. Ser pacientes con aparatología fija de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

3. Voluntarios que cuenten con un expediente en la Clínica de Ortodoncia de la División de estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología.
4. Control Personal de Placa (CPP).
5. Voluntarios que no presenten enfermedades sistémicas.
6. Voluntarios con brackets metálicos slot 0.022" de ligado convencional.
7. Voluntarios con brackets metálicos slot 0.022" de autoligado.
8. Voluntarios que firmen el consentimiento informado.

### **13.5 Criterios de exclusión para donadores con aparatología ortodóncica**

1. Voluntarios que presenten caries.
2. Voluntarios que presenten alguna entidad patológica oral.
3. Voluntarios que presenten alguna afección sistémica.
4. Voluntarios que presenten aparatología fija solamente en una arcada.



## **13.6 Materiales**

### **PURIFICACIÓN DE NEUTRÓFILOS ORALES**

- Vaso desechable
- 4 tubos de 50 mL para centrifuga limpios
- Disolución de cloruro de sodio (NaCl) al 0.9%
- Hielo
- PBS
- Gradilla de tubos
- Cronómetro
- Centrifuga clínica a 4°C
- Jeringa de 20 mL para filtro
- Jeringa de 20 mL para cloruro de sodio
- Pinzas para filtro
- Portafiltro
- Coladeras 100  $\mu\text{m}$ , 40  $\mu\text{m}$
- Filtro 11  $\mu\text{m}$

### **TINCIÓN DE CÉLULAS DE CAVIDAD ORAL CON WRIGHT- GIEMSA**

- Porta y cubreobjetos
- Micropipetas (20  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$  y 1000  $\mu\text{L}$ )
- Puntas para ambas micropipetas
- Tinción de Wright-Giemsa
- Agua bidestilada
- Memoria USB
- Microscopio y computadora (Programa ProQ)

### **CONTEO DE NEUTRÓFILOS DE CAVIDAD ORAL CON CÁMARA DE NEUBAUER**

- Muestra de neutrófilos purificados
- Cámara de Neubauer
- Azul de tripano
- Micropipeta de 20 $\mu\text{L}$
- Vaso para desechos 250mL
- Puntas amarillas
- Parafilm
- Microscopio
- Contador

## **ENSAYO DE FAGOCITOSIS DE NEUTRÓFILOS**

- Tubos Eppendorf de 1.5 ml y de 0.6 ml
- Gradilla para tubos
- Cronómetro
- Baño maría a 37 °C
- Agitador mecánico
- Centrífuga (Eppendorf modelo 5415C)
- Matraz Kitasato
- Recipiente con agua y hielo
- Hielo
- Perlas opsonizadas
- Perlas sin opsonizar
- Muestra de PMN obtenidos
- Buffer de fagocitosis
- PBS
- Tripsina
- PFA al 1%

### **13.7 Obtención y purificación de neutrófilos orales**

Se pidió a los voluntarios sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica de ligado convencional y a los voluntarios de aparatología ortodóncica de Autoligado realizar 4 enjuagues de cavidad oral con 10 ml de disolución de 0.9% de NaCl durante 30 segundos cada uno, con intervalos de 3 minutos entre cada enjuague. Cada enjuague se depositó en un mismo tubo de 50 ml estéril que permaneció en hielo durante la recolección de los enjuagues. Posteriormente, los enjuagues se

centrifugaron a 1400 rpm, durante 6 minutos a 4°C. El sobrenadante se eliminó por succión y el botón se resuspendió en 10 ml de PBS. Para purificar los neutrófilos fue necesario retirar restos de alimentos y las células epiteliales orales, producto de la descamación. Para ello, la suspensión se filtró a través de una coladera de nylon de 100 µm (Falcon 352360); después por una coladera de nylon de 40 µm (Falcon 352340) y, por último, por un filtro de 11µm (NY1104700). El filtrado se centrifugó a 1400 rpm, durante 6 minutos a 4°C. Se eliminó el sobrenadante por succión al vacío y el botón celular se resuspendió en PBS.

### **13.8 Tinción de neutrófilos por Wright-Giemsa**

Las células obtenidas de sangre y de enjuagues orales fueron teñidas con Wright-Giemsa para comprobar la presencia de neutrófilos. Primero se tomaron 50 µL de la suspensión de células y se extendieron sobre un portaobjetos en forma de rectángulo. La suspensión se secó moviendo el portaobjetos vigorosamente para después colocar 100 µL de tinción Wright-Giemsa. El portaobjetos se incubó por 6 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, 200 µL de PBS se colocaron sobre la tinción de Wright-Giemsa y se homogenizó el colorante. El portaobjetos se incubó por 12 minutos a temperatura ambiente para después eliminar el colorante aplicando agua bidestilada suavemente. Por último, se colocó el cubreobjetos antes de que se secase el portaobjetos y se observó al microscopio.

### **13.9 Cuantificación de neutrófilos**

Los neutrófilos fueron mezclados con azul de tripano y contados en una cámara de Neubauer al microscopio (AmScope).

El número de neutrófilos por mililitro se calculó usando la siguiente fórmula:

Neutrófilos por mililitro = (promedio de cuadrantes) (factor de dilución) ( $10^4$ )

### **13.10 ENSAYO DE FAGOCITOSIS DE NEUTRÓFILOS ORALES Y SANGUINEOS**

Anticipadamente a realizar el ensayo de fagocitosis de neutrófilos se prepararon las células fagocíticas (neutrófilos): 200,000 neutrófilos por tubo.

Al tener los neutrófilos deseados, se centrifugaron a 1,400 rpm x 6min a 4°C y se procedió a eliminar el sobrenadante, se rompió el pellet con la ayuda de una gradilla y se resuspendió con 100 µl de amortiguador de fagocitosis para cada tubo.

Se tomaron 100 µl (de buffer de fagocitosis y neutrófilos) y se colocaron en un tubo eppendorf, después se agregaron 2.5 µl de perlas opzonizadas a la mitad de los tubos eppendorf, 2.5 µl de perlas no opzonizadas al resto de los tubos eppendorf y se agitaron por inversión todos los tubos juntos en la gradilla, sacudiendo con firmeza para bajar el líquido al fondo del tubo.

Posteriormente se incubó a 37°C (en baño maría) por 30 minutos y pasados los 30 minutos se llevaron a 4°C por 3 minutos dejando la gradilla completa en un recipiente con agua de hielo.

Al terminar este tiempo se centrifugaron los tubos a 4,000 rpm durante 2 minutos y se removi6 el sobrenadante con aspiraci6n suave y se rompi6 la pastilla celular raspando el tubo en la gradilla, se resuspendi6 inmediatamente con 100 µl de tripsina fría y se prosigui6 a incubar a 4°C (en agua de hielo) por 15 minutos. Pasado este tiempo se agregaron 500 µl de PBS frío para después centrifugarlo a 4,000 rpm durante 2 minutos y se removi6 el sobrenadante con aspiraci6n suave, cuidando de no llevarse la pastilla. Para después romper la pastilla celular raspando el tubo en la gradilla. Se resuspendi6 en 150 µl de PBS (o 100 µl de paraformaldehído (PFA) al 1%). Y se tom6 toda la muestra y se coloc6 en un pozo de una caja de 48 pozos, distribuyendo homogéneamente con movimientos en cruz. Y se observ6 en el microscopio. Finalmente se calcul6 el porcentaje de células fagocíticas y el porcentaje de fagocitosis.

### **13.11 Método de recolección de datos**

Los datos capturados fueron número de fagocitos, número total de perlas fagocitadas, número de perlas fagocitadas por fagocito. Con base en estos valores se calcularon el índice fagocítico y el porcentaje de fagocitosis. Los datos y los cálculos se capturaron y realizaron, respectivamente, en Excel (Excel para Mac, versión 16.47.1).

### **13.12 Análisis estadístico**

Las comparaciones entre los grupos se realizaron usando un análisis de varianza ANOVA de una vía con prueba posthoc de Tukey.

Los datos de la función fagocítica de donadores con aparatología ortodóncica de ligado convencional y con autoligado fueron expresados como la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM). Las comparaciones entre los grupos se hicieron usando la prueba de ANOVA de una vía utilizando el programa KaleidaGraph (versión 4.5.2 para Mac). El valor con una P menor a 0.05 se consideró estadísticamente significativo.

### **13.13 Control Personal de Placa (CPP)**

El índice de O'Leary sirve para conocer el porcentaje de biopelícula dental en las superficies lisas de los dientes <sup>62</sup>. Con ayuda de una microbrocha (Vamasa 32-WMFP100), se coloca GC Tri Plaque ID Gel® (GC 004273) sobre todas las superficies dentales de los voluntarios. Cada voluntario se enjuaga con agua y los sitios donde hay biopelícula dental continúan teñidos y se puede visualizar la biopelícula con un espejo dental. Después de que el revelador muestra las zonas dónde se ha acumulado biopelícula dental, se procede a registrar en la hoja de registro del CPP (**anexo 3**) las superficies lisas de cada diente (mesial, distal, vestibular y lingual o palatino) que estén teñidas. Las superficies oclusales de premolares y molares no son incluidas. En cada registro se cuentan las superficies

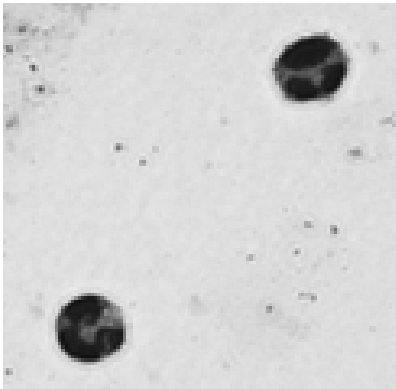
teñidas y se calcula el porcentaje de CPP. El porcentaje se obtiene multiplicando el número de superficies teñidas por 100, entre el número total de superficies.

Si el índice de O'Leary es igual o inferior al 20%, la higiene oral se considera buena y no se está sometido a riesgos de padecer caries dental, gingivitis o enfermedad periodontal.

## 14. RESULTADOS

Los neutrófilos pueden ser purificados de cavidad oral

Con el propósito de obtener y purificar neutrófilos orales de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica de ligado convencional, y de aparatología de autoligado se pidió a los donadores que hicieran enjuagues con solución salina. Después se purificaron las células de los enjuagues orales se tiñeron con la tinción de Wright – Giemsa. Las células fueron observadas al microscopio. La morfología de las células fue observada al microscopio. Las células purificadas son del tamaño de los neutrófilos y presentan un núcleo multilobulado, por lo tanto son neutrófilos (**Figura 14**).

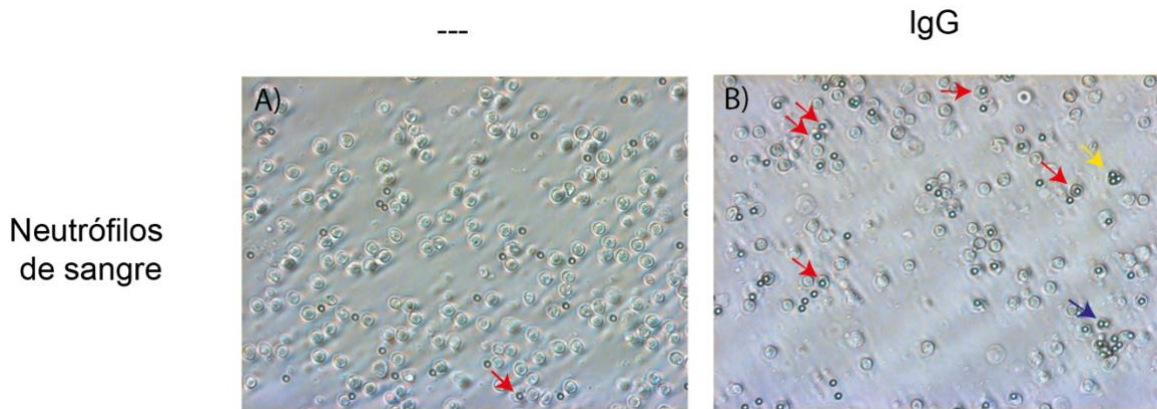


**Figura 14. Tinción de Wright – Giemsa de neutrófilos orales.** Fotografía de neutrófilos obtenidos de cavidad oral humana, teñidos con Wright Giemsa a un aumento de 40X.

### **Los neutrófilos de sangre fagocitan más microperlas opsonizadas que sin opsonizar**

Con el objetivo de evaluar la actividad fagocítica de neutrófilos orales, primeramente, se determinó la actividad fagocítica de neutrófilos sanguíneos. Los neutrófilos sanguíneos se incubaron con microperlas de látex y con microperlas de

látex opsonizadas con anticuerpo IgG. **(Figura 15)**. Los neutrófilos fagocitan más las microperlas opsonizadas que las no opsonizadas.

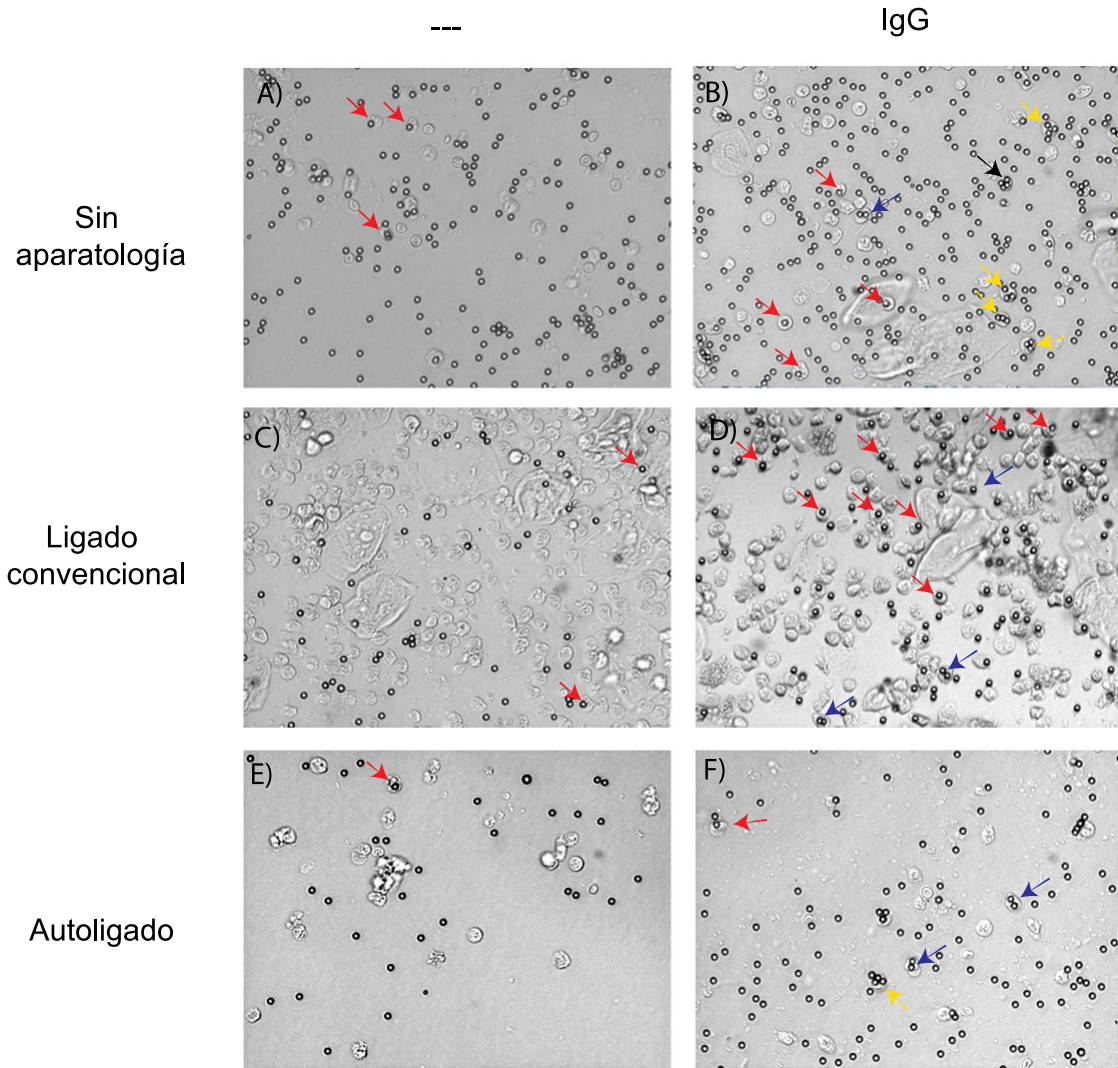


**Figura 15. Fagocitosis de neutrófilos de sangre.** A) Neutrófilos fagocitando microperlas de latex. B) Neutrófilos fagocitando microperlas opsonizadas con IgG. Las flechas rojas muestran neutrófilos fagocitando una sola microperla, la flecha azul muestra un neutrófilo fagocitando dos microperlas y la flecha amarilla muestra la fagocitosis de tres microperlas.

**Los neutrófilos orales provenientes de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología de ligado convencional y con aparatología de autoligado fagocitan más las microperlas opsonizadas con anticuerpo IgG que las microperlas sin opsonizar.**

Los neutrófilos orales de donadores sin aparatología, con aparatología ortodóncica de ligado convencional y de autoligado fueron obtenidos y aislados de enjuagues orales. Los neutrófilos fueron posteriormente incubados con microperlas y con microperlas opsonizadas con IgG. Al igual que los neutrófilos de sangre, los neutrófilos orales fagocitaron menos las microperlas sin opsonizar que las microperlas opsonizadas **(Figura 16)**.





**Figura 16. Fagocitosis de neutrófilos orales.** Fotografías de neutrófilos orales fagocitando microperlas de látex de individuos sin aparatoología (A), de individuos con aparatoología de ligado convencional (C) y de autoligado (E). Fotografías de neutrófilos orales fagocitando microperlas de latex opsinizadas con IgG de individuos sin aparatoología (B), de individuos con aparatoología de ligado convencional (D) y de autoligado (F). Las flechas rojas muestran neutrófilos fagocitando una sola microperla, las flechas azules muestran neutrófilos fagocitando dos microperlas y las flechas amarillas muestra la fagocitosis de tres microperlas.

**Los neutrófilos orales de donadores con aparatología ortodóncica de autoligado fagocitan menos que los donadores con aparatología ortodóncica de ligado convencional.**

Para cuantificar la actividad fagocítica se emplearon dos criterios. Calcular el porcentaje de células fagocíticas y el porcentaje de fagocitosis. El porcentaje de células fagocíticas se calculó contando el número de neutrófilos que fagocitaron dentro de los neutrófilos revisados y multiplicado por cien. El porcentaje de fagocitosis se calculó contando el número de microperlas fagocitadas por dentro del número de neutrófilos revisados y multiplicado por cien.

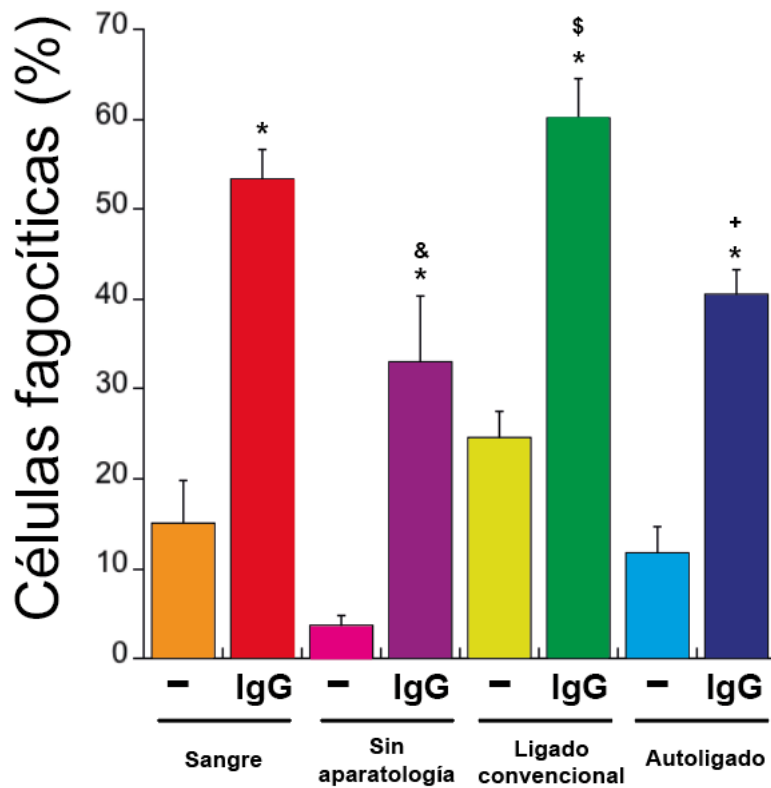
#### **14.1 Porcentaje de células fagocíticas**

Como ya se había mencionado, los neutrófilos fagocitaron mejor a las microperlas opsonizadas que sin opsonizar. En el caso de los neutrófilos de sangre el 53% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 15% fagocitaron microperlas no opsonizadas. Esta diferencia es de cinco veces ( $P < 0.0001$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos sin aparatología el 33% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 4% fagocitaron microperlas no opsonizadas. De igual manera, la diferencia es de ocho veces ( $P < 0.0001$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos con aparatología de ligado convencional el 60% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 24% fagocitaron microperlas no opsonizadas. La diferencia es de casi tres veces y también es significativa ( $P < 0.0001$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos con aparatología de autoligado el 40% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 12% fagocitaron microperlas no opsonizadas, también la diferencia fue de tres veces ( $P < 0.0001$ ) (**Figura 17, Tabla 2**).

Al comparar el porcentaje de los neutrófilos de sangre que fagocitaron microperlas opsonizadas (53 %) contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos sin aparatología que fagocitaron microperlas opsonizadas (33%) la diferencia fue un poco menos del doble y fue significativa ( $P=0.0055$ ); contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (60%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia no fue significativa ( $P=0.8714$ ); y contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (40%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia tampoco no fue significativa ( $P=0.2001$ ). **(Figura 17, Tabla 2).**

Al comparar el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos sin aparatología que fagocitaron microperlas opsonizadas (33%) contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (60%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia fue significativa ( $P=0.0002$ ); y contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (40%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia no fue significativa ( $P=0.8337$ ). **(Figura 17, Tabla 2).**

Al comparar el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (60%) que fagocitaron microperlas opsonizadas contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (40%) la diferencia fue significativa ( $P=0.0129$ ). **(Figura 17, Tabla 2).**



**Figura 17. Porcentaje de células fagocíticas.** Porcentaje de células fagocíticas presentado ante micropelotas sin opsonizar (—) y opsonizadas (IgG). Los neutrófilos pertenecen a sangre, o a cavidad oral de individuos sin aparatología y con aparatología de ligado convencional y de autoligado. Los asteriscos muestran diferencias significativas entre cada condición de micropelotas sin opsonizar y opsonizadas con IgG. El signo & corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de células fagocíticas de sangre expuestos a micropelotas opsonizadas ( $P < 0.0001$ ). El signo & corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de células fagocíticas de individuos sin aparatología expuestos a micropelotas opsonizadas. El signo + corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de células fagocíticas de individuos con aparatología de ligado convencional expuestos a micropelotas opsonizadas ( $P < 0.05$ ). Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de la media de 5 voluntarios a excepción del grupo de sangre donde fueron 6.

**Tabla 2. Análisis de Varianza con prueba post hoc de Tukey para porcentaje de células fagocíticas.**

One Way ANOVA					
Data Table: Porcentaje de Células Fagocíticas					
Factor A: 8 Groups					
S -, S IgG, Sin Apará -, Sin Apará IgG, Ligado -, Ligado IgG, Autoligado -, Autoligado IgG					
Analysis of Variance Results					
Source	DF	SS	MS	F	P
Total	42	18079.151	430.45597		
A	7	15716.373	2245.1961	33.258254	< .0001
Error	35	2362.7778	67.507937		
Tukey's All Pairs Comparison					
Comparison	Mean Difference	q	P	95% CL	
Ligado IgG vs Sin Apará -	56.4683	16.0512	< .0001	40.444 to 72.493	
Ligado IgG vs Autoligado -	48.3327	13.1537	< .0001	31.595 to 65.07	
Ligado IgG vs S -	44.9544	12.7783	< .0001	28.93 to 60.979	
Ligado IgG vs Ligado -	35.5333	9.6704	< .0001	18.796 to 52.271	
Ligado IgG vs Sin Apará IgG	27.0027	7.3488	0.0002	10.265 to 43.74	
Ligado IgG vs Autoligado IgG	19.5333	5.316	0.0129	2.7961 to 36.271	
Ligado IgG vs S IgG	6.73444	1.9143	0.8714	-9.2902 to 22.759	
S IgG vs Sin Apará -	49.7339	14.8269	< .0001	34.455 to 65.013	
S IgG vs Autoligado -	41.5982	11.8243	< .0001	25.574 to 57.623	
S IgG vs S -	38.22	11.3943	< .0001	22.941 to 53.499	
S IgG vs Ligado -	28.7989	8.1861	< .0001	12.774 to 44.824	
S IgG vs Sin Apará IgG	20.2682	5.7613	0.0055	4.2436 to 36.293	
S IgG vs Autoligado IgG	12.7989	3.6381	0.2001	-3.2258 to 28.824	
Autoligado IgG vs Sin Apará -	36.935	10.4988	< .0001	20.91 to 52.96	
Autoligado IgG vs Autoligado -	28.7993	7.8377	< .0001	12.062 to 45.537	
Autoligado IgG vs S -	25.4211	7.226	0.0003	9.3965 to 41.446	
Autoligado IgG vs Ligado -	16	4.3544	0.0695	-0.7372 to 32.737	
Autoligado IgG vs Sin Apará IgG	7.46933	2.0328	0.8337	-9.2679 to 24.207	
Sin Apará IgG vs Sin Apará -	29.4657	8.3756	< .0001	13.441 to 45.49	
Sin Apará IgG vs Autoligado -	21.33	5.8049	0.0051	4.5928 to 38.067	
Sin Apará IgG vs S -	17.9518	5.1028	0.0192	1.9271 to 33.976	
Sin Apará IgG vs Ligado -	8.53067	2.3216	0.7226	-8.2065 to 25.268	
Ligado - vs Sin Apará -	20.935	5.9508	0.0038	4.9103 to 36.96	
Ligado - vs Autoligado -	12.7993	3.4833	0.2444	-3.9379 to 29.537	
Ligado - vs S -	9.42111	2.678	0.5641	-6.6035 to 25.446	
S - vs Sin Apará -	11.5139	3.4326	0.2603	-3.765 to 26.793	
S - vs Autoligado -	3.37822	0.9603	0.9971	-12.646 to 19.403	
Autoligado - vs Sin Apará -	8.13567	2.3126	0.7264	-7.889 to 24.16	

## 14.2 Porcentaje de fagocitosis

Los neutrófilos fagocitaron de entre una y cuatro microperlas. Así que se calculó el porcentaje total de perlas fagocitadas en cada grupo.

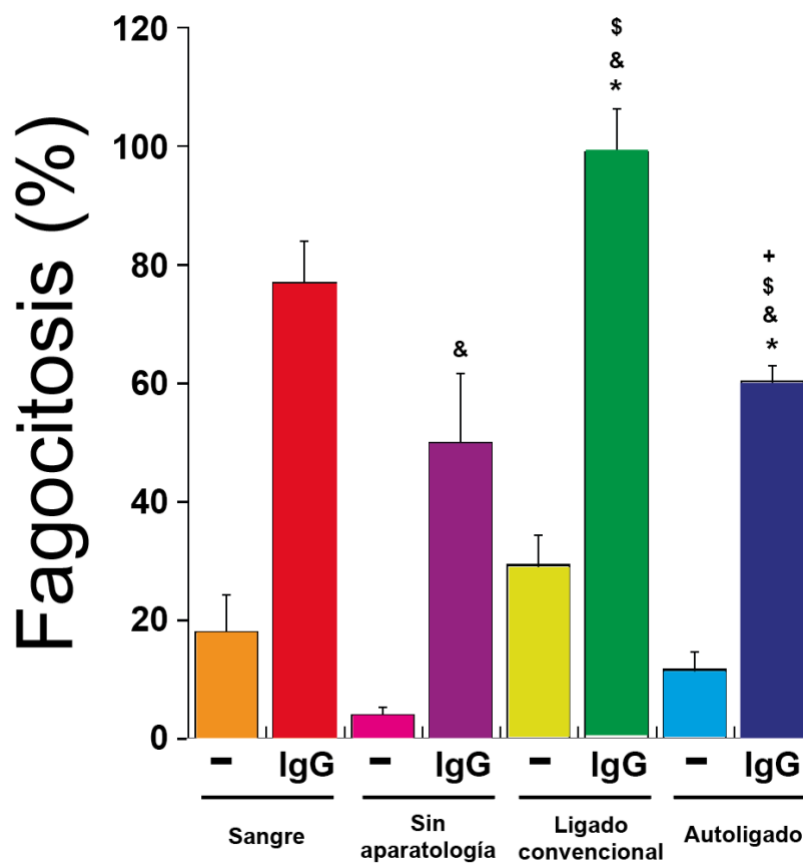
Los neutrófilos fagocitaron mejor a las microperlas opsonizadas que sin opsonizar.

En el caso de los neutrófilos de sangre el 76% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 18% fagocitaron microperlas no opsonizadas. A pesar de la diferencia esta no fue significativa ( $P=0.9664$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos sin aparatología el 50% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 4% fagocitaron microperlas no opsonizadas. De igual manera, esta diferencia no fue significativa ( $P=1$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos con aparatología de ligado convencional el 99% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 29% fagocitaron microperlas no opsonizadas. La diferencia es significativa ( $P<0.0001$ ). En el caso de los neutrófilos de enjuagues de individuos con aparatología de autoligado el 60% de los neutrófilos fagocitaron perlas opsonizadas, mientras que sólo el 12% fagocitaron microperlas no opsonizadas, también la diferencia fue significativa ( $P<0.0001$ ) **(Figura 18, Tabla 3)**.

Al comparar el porcentaje de los neutrófilos de sangre que fagocitaron microperlas opsonizadas (50%) contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos sin aparatología que fagocitaron microperlas opsonizadas (76%) la diferencia fue un poco menos del doble y fue significativa ( $P=0.0002$ ); contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (99%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia también fue significativa ( $P<0.0001$ ); y contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (60%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia fue significativa ( $P<0.0001$ ). **(Figura 18, Tabla 3)**.

Al comparar el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos sin aparatología que fagocitaron microperlas opsonizadas (50%) contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (99%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia fue significativa ( $P < 0.0001$ ); y contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (60%) que fagocitaron microperlas opsonizadas la diferencia fue significativa ( $P < 0.0001$ ). **(Figura 18, Tabla 3).**

Finalmente, al comparar el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de ligado convencional (99%) que fagocitaron microperlas opsonizadas contra el porcentaje de los neutrófilos de cavidad oral de individuos con aparatología de autoligado (60%) la diferencia fue significativa ( $P < 0.0001$ ). (Figura 18, Tabla 3).



**Figura 18. Porcentaje de fagocitosis.** Porcentaje de fagocitosis presentados por los neutrófilos ante micropelotas sin opsonizar (—) y opsonizadas ( IgG). Los neutrófilos pertenecen a sangre, o a cavidad oral de individuos sin aparatología y con aparatología de ligado convencional y de autoligado. Los asteriscos muestran diferencias significativas entre cada condición de micropelotas sin opsonizar y opsonizadas con IgG. El signo & corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de células fagocíticas de sangre expuestas a micropelotas opsonizadas. El signo & corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de células fagocíticas de individuos sin aparatología expuestos a micropelotas opsonizadas. El signo + corresponde a la diferencia del grupo que presenta este símbolo contra el porcentaje de fagocitosis de individuos con aparatología de ligado convencional expuestos a micropelotas opsonizadas ( $P < 0.05$ ). Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de la media de 5 voluntarios a excepción del grupo de sangre donde fueron 6.

### 14.3 Control Personal de Placa

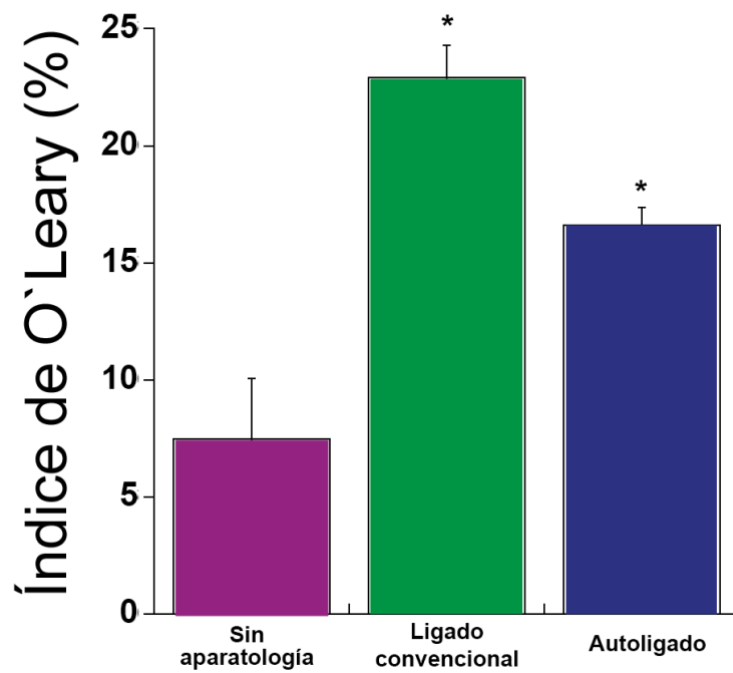
El control personal de placa consiste en detectar la presencia de biopelícula dental mediante un examen clínico. En este trabajo utilizamos El índice O'Leary para medir la cantidad de biopelícula dental <sup>62</sup>. Existe la hipótesis de que la acumulación de biopelícula dental activa a los neutrófilos <sup>32</sup>. Para conocer si la biopelícula fue un factor en la fagocitosis se les realizó un control personal de placa a los voluntarios que donaron neutrófilos de cavidad oral. El índice para el grupo sin aparatología fue del 7%, para el grupo de ligado convencional de 23% y para el grupo de autoligado del 17%. El índice de O'Leary fue mayor en los dos grupos con aparatología que en el grupo sin aparatología. En el caso del ligado convencional esta diferencia fue aún mayor ( $P=0.0001$ ) que con autoligado ( $P=0.0084$ ) (**Figura 19; Tabla 4**).

Estos datos muestran que el uso de aparatología incrementa la acumulación de biopelícula dental.



**Tabla 3. Análisis de Varianza con prueba post hoc de Tukey para porcentaje de fagocitosis.**

One Way ANOVA					
Data Table: Porcentaje de Fagocitosis					
Factor A: 8 Groups					
IgG, Sin Aparar -, Sin Aparar IgG, Ligado -, Ligado IgG, Autoligado -, Autoligado IgG					
Analysis of Variance Results					
Source	DF	SS	MS	F	P
Total	43	44350.01	1031.396		
A	7	40692.46	5813.208	57.21742	<.0001
Error	36	3657.549	101.5986		
Tukey's All Pairs Comparison					
Comparison	Mean Difference	q	P	95% CL	
Ligado IgG vs Sin Aparar -	94.8683	21.9815	<.0001	75.243 to 114.49	
Ligado IgG vs Sin Aparar IgG	94.8683	21.9815	<.0001	75.243 to 114.49	
Ligado IgG vs Autoligado -	87.266	19.3591	<.0001	66.768 to 107.76	
Ligado IgG vs S IgG	87	20.1583	<.0001	67.374 to 106.63	
Ligado IgG vs S -	81	18.7681	<.0001	61.374 to 100.63	
Ligado IgG vs Ligado -	69.7333	15.4697	<.0001	49.235 to 90.232	
Ligado IgG vs Autoligado IgG	38.8	8.6074	<.0001	18.302 to 59.298	
Autoligado IgG vs Sin Aparar -	56.0683	12.9913	<.0001	36.443 to 75.694	
Autoligado IgG vs Sin Aparar IgG	56.0683	12.9913	<.0001	36.443 to 75.694	
Autoligado IgG vs Autoligado -	48.466	10.7517	<.0001	27.968 to 68.964	
Autoligado IgG vs S IgG	48.2	11.1682	<.0001	28.574 to 67.826	
Autoligado IgG vs S -	42.2	9.778	<.0001	22.574 to 61.826	
Autoligado IgG vs Ligado -	30.9333	6.8623	0.0006	10.435 to 51.432	
Ligado - vs Sin Aparar -	25.135	5.8239	0.0047	5.5095 to 44.761	
Ligado - vs Sin Aparar IgG	25.135	5.8239	0.0047	5.5095 to 44.761	
Ligado - vs Autoligado -	17.5327	3.8895	0.1405	-2.9655 to 38.031	
Ligado - vs S IgG	17.2667	4.0008	0.1193	-2.3589 to 36.892	
Ligado - vs S -	11.2667	2.6105	0.5946	-8.3589 to 30.892	
S - vs Sin Aparar -	13.8683	3.3702	0.28	-4.8439 to 32.581	
S - vs Sin Aparar IgG	13.8683	3.3702	0.28	-4.8439 to 32.581	
S - vs Autoligado -	6.266	1.4519	0.9671	-13.36 to 25.892	
S - vs S IgG	6	1.4581	0.9664	-12.712 to 24.712	
S IgG vs Sin Aparar -	7.86833	1.9121	0.8722	-10.844 to 26.581	
S IgG vs Sin Aparar IgG	7.86833	1.9121	0.8722	-10.844 to 26.581	
S IgG vs Autoligado -	0.266	0.0616	1	-19.36 to 19.892	
Autoligado - vs Sin Aparar -	7.60233	1.7615	0.9123	-12.023 to 27.228	
Autoligado - vs Sin Aparar IgG	7.60233	1.7615	0.9123	-12.023 to 27.228	
Sin Aparar IgG vs Sin Aparar -	0	0	1	-18.712 to 18.712	



**Figura 19. Índice de O'Leary para calcular el control personal de placa.** El índice fue calculado para los grupos sin aparatología, con aparatología de ligado convencional y autoligado. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar de la media de 5 voluntarios. Los asteriscos muestran diferencias significativas con respecto al grupo sin aparatología. ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 4. Análisis de Varianza con prueba post hoc de Tukey para control personal de placa.**

One Way ANOVA					
Control Personal de Placa (CPP)					
Factor A: 3 Groups					
Sin Aparatología, Ligado Convencional, Autoligado					
Analysis of Variance Results					
Source	DF	SS	MS	F	P
Total	14	786.08932	56.149237		
A	2	602.14932	301.07466	19.641708	0.00016
Error	12	183.94001	15.328334		
Tukey's All Pairs Comparison					
Comparison	Mean Differer	q	P	95% CL	
Ligado Convencional vs Sin Aparatología	15.44	8.8183	0.0001	8.834 to 22.046	
Ligado Convencional vs Autoligado	6.36	3.6324	0.0595	-0.24604 to 12.966	
Autoligado vs Sin Aparatología	9.08	5.1859	0.0084	2.474 to 15.686	

## 15. DISCUSIÓN

Los neutrófilos se conocen como la primera línea de defensa contra infecciones sistémicas y la cavidad oral no es la excepción para el reclutamiento activo de neutrófilos ante infecciones. Los neutrófilos orales tienen un papel muy importante en el mantenimiento de la salud oral. Recientemente se ha empezado a estudiar el papel de los neutrófilos orales, uno de estos hallazgos es que la cantidad de neutrófilos orales aumenta al presentarse enfermedades como gingivitis y periodontitis<sup>63</sup>. Sin embargo, el papel del neutrófilo en cavidad oral en pacientes con aparatología de ortodoncia no se conoce. Los neutrófilos presentan varias funciones siendo la fagocitosis la más conocida. En este trabajo se evaluó esta función utilizando neutrófilos orales provenientes de individuos sin aparatología y con aparatología de ortodoncia de ligado convencional y de autoligado. Además de comparar entre grupos de neutrófilos orales, la actividad fagocítica se comparó también con aquella presentada por los neutrófilos sanguíneos.

Uno de los resultados muestra que los neutrófilos reconocen mejor a las microperlas opsonizadas. Esto es algo que se esperaba, dado que los neutrófilos poseen receptores específicos para reconocer anticuerpos, los receptores Fc.<sup>64</sup> Para hacer las comparaciones entre grupos, tomamos como referencia de fagocitosis a los neutrófilos sanguíneos; esto tanto para el porcentaje de células fagocíticas como para el porcentaje de fagocitosis. El porcentaje de ambos parámetros fue menor en neutrófilos de cavidad oral de individuos sin aparatología que en los sanguíneos. Esto nos habla de que los neutrófilos tienen una capacidad fagocítica basal. Sin embargo, estos datos no concuerdan con los reportados por Moonen donde se publicó que los neutrófilos orales fagocitan más que los neutrófilos de sangre<sup>65</sup>. Esto probablemente se deba a las condiciones de cuidado con la higiene oral que se tienen con los pacientes que acuden a la Clínica de Ortodoncia de la DEPel. Como seguimiento a este trabajo, sería interesante utilizar neutrófilos de individuos con diferentes porcentajes en su control personal de placa.

Al utilizar aparatología fija la fagocitosis es mayor con aparatología de ligado convencional que con aparatología de autoligado. En nuestro estudio observamos que los neutrófilos orales de donadores con aparatología ortodóncica de autoligado fagocitan menos que los neutrófilos de aparatología ortodóncica de ligado convencional. Lo anterior concuerda con que la biopelícula dental se forma con mayor facilidad al usar aparatología de ligado convencional. El aumento en la fagocitosis con el uso de aparatología de autoligado no es tan grande, lo que apunta también a que las condiciones de estos individuos son parecidas a las condiciones sin aparatología.

En este sentido, el control de biopelícula dental en los pacientes con ortodoncia ha sido una problemática seria, debido a una combinación multifactorial, entre las que se podría mencionar: aditamentos utilizados, falta de orientación del especialista y poca colaboración del paciente. Berglund, Connel y Small mencionaron que es difícil y tediosos para el paciente el uso de hilo dental y el ensartador de hilo alrededor de la aparatología ortodóncica<sup>6</sup>. De igual manera se debe considerar imprescindible el esfuerzo por ambas partes (especialista y paciente).

Matasa C<sup>66</sup> estableció que existe un alto porcentaje de acúmulo de bacterias en los materiales que se utilizan en los pacientes debido a un descuido en cuanto a la esterilización de los consultorios que facilita la proliferación de microorganismos oportunistas mediante la contaminación cruzada, a diferencia del presente estudio en el cual se observó que posterior a la colocación de aparatología ortodóncica hubo un aumento de biopelícula dental y al parecer lo mismo aumentó el porcentaje de fagocitosis.

Tal como demostraron Wilson y Gregory, que encontraron que los arcos ligados con módulos elastoméricos presentaron mayor número de microorganismos que los que fueron colocados con ligaduras metálicas<sup>67</sup>.

Cheng y colaboradores encontraron niveles altos de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius*, así como lo encontrado por Rosenbloom y Tinanoff, Wilson y Gregory, Eliades T, Eliades G, y Brandley, y Fournier, Payant y Boicilin, los cuales observaron pepto *Streptococcus* y *veillonela*<sup>67,68,69</sup>. En nuestro caso no hicimos análisis bacterianos. Sin embargo, consideramos que sería interesante también conocer que tipo de microorganismos se acumulan en la pobre biopelícula que se forma ya que en el caso de la aparatología de ligado convencional fue de un 23% considerándose un 20% como una buena higiene y en el caso de autoligado fue menor al 20%.

Dada la importancia que tienen los efectos de la acumulación de la biopelícula dental sobre la salud oral, se hace necesario realizar mas experimentación en este sentido. Considero que la ortodoncia en la actualidad debe ser totalmente confiable y mayormente confiable, tratando de reducir al mínimo los efectos negativos colaterales.

## 16. CONCLUSIONES

- En este trabajo se logró la obtención, purificación y cuantificación de neutrófilos orales de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica de ligado convencional, y de aparatología de autoligado.
- Los neutrófilos de sangre fagocitan mejor las microperlas opsonizadas.
- Los neutrófilos orales derivados de enjuagues de donadores sin aparatología ortodóncica, con aparatología ortodóncica de ligado convencional, y de aparatología de autoligado fagocitan mejor las microperlas opsonizadas.
- La actividad fagocítica de los neutrófilos en individuos con aparatología ortodoncia de ligado convencional fue mayor que en individuos con aparatología de autoligado.
- El control personal de placa de los donadores fue mayor en el grupo de los donadores con aparatología de ligado convencional, aunque este CPP es considerado como bueno.
- En la Ortodoncia y en la Odontología estos resultados podrían significar que el uso de aparatología ortodóncica de ligado convencional representa un ligero aumento de acumulación de biopelícula dental, lo que nos lleva a relacionarlo con la dificultad que conlleva el cepillado en este tipo de aparatología. Sin embargo no representa ningún riesgo potencial para la aparición de gingivitis y/o periodontitis, siempre y cuando el paciente mantenga una buena higiene oral.
- Es importante continuar realizando más estudios para tener una amplia y mejor perspectiva del papel del neutrófilo en la cavidad oral y cómo se ven afectados sus mecanismos y funciones una vez que realizamos algún procedimiento.

## 17. BIBLIOGRAFÍA

1. Molla S, Fernández E, Marco J. Exploración de faringe, cavidad oral, esófago cervical y glándulas salivales. Barcelona. Gil-Calcedo García LM, eds. Exploración general en ORL. 2000.
2. Saunders WH. Examen físico de cabeza y cuello. En: Paparella MM, Shumrick DA, eds. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1982.
3. Crampette L, Durrieu J. Semiología faríngea, examen físico de la faringe. Madrid. Ediciones Elsevier. Enciclopedia Médico-Quirúrgica, 2007.
4. Lindhe, J.; Karring. T. y Lang. N. P. Periodontología clínica e implantología odontológica. Trad. Horacio Martínez. Madrid. España: Médica Panamericana. 2005.
5. Rosenstiel S; F. Land M; F. Fujimoto J. Prótesis Fijas. Barcelona, Editorial Salvat. 1991.
6. Carranza F; A. Periodontología Clínica. México. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2004.
7. Varela M. Ortodoncia y Periodoncia. Océano/engon. 2004.
8. Glenda Falotico Páez, Francisco Farias R. El Surco Gingival Aspectos Clínicos y Anatomofisiomicrobiológicos.
9. Raúl Espinosa de la Sierra. Diagnóstico práctico de oclusión. México. Médica Panamericana. 1995.
10. Proffit R. William. Ortodoncia Contemporánea. Elsevier. 2019.
11. Carlos Villafranca, Félix de; Cobo Plana, Juan; Fernández Mondragón. Cefalometría de las vías aéreas superiores. 2002.
12. Quiroz O. Manual de Ortopedia Funcional de los maxilares y Ortodoncia Interceptiva. Caracas. Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica; 1993.
13. Goriena Gandarias de J, Gorricho Gil. Concepto de Salud. España. Trigo. 1998.
14. Ismail s. three-dimensional assessment of the effects of extraction and nonextraction orthodontic treatment on the face. 2010.
15. -Drobocny o, s. r. changes in facial profile during orthodontic treatment with extraction of four first premolars. am j orthod dentofac orthop, 2010.
16. FRIEDENTHAL, M. Diccionario de Odontología. Segunda Edición, Argentina, Editorial Médica Panamericana. 1996.
17. Guía informativa de la Sociedad Española de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial (SEDO).



18. Petrovic AG. Ortopedia dentofacial con aparatos funcionales. Madrid: Harcourt Brace. 1998.
19. Gordon C. Dickson, Alfonso Martínez María, Albert E. Wheatly. Atlas de aparatología ortodóncica removible. Barcelona, Salvat. 1982.
20. Koch KE, Collantes CL, Lewintre MI, Latyn K. Influencia de la aparatología ortodóncica fija en la viscosidad y flujo salival. Rev Fac Odontol UNNE. 2010.
21. Arteché P, Aristizabal J.F, Sierra A. and Rey D. Important Considerations of Orthodontics with Self-Ligating Brackets Versus Conventional Ligation. Revista Española de Ortodoncia. 2015.
22. Ferreira J, Rigau. Brackets de autoligado. Donal G. Ortodoncia autoligante mediante el sistema Speed. Madrid. 2006.
23. Uribe Restrepo G.; Ortodoncia Teoría y Clínica; Cap. 33 —Elásticos y elastómerosII 2da edición; Ed. CIB; Medellín Colombia; año 2010.
24. Serrano Coll. Conocimiento de la Microbiota de la Cavidad Oral. 2016
25. Farias R. Francisco. Compendio de Microbiología bucal. Ed. Tropikos Caracas. Venezuela. 1999.
26. Brooks F. Geo., Butel Janet, Ornston N. Microbiología Médica. Varios capítulos. 17Ed. El Manual Moderno. México 2002.
27. Almaguer A, Villagómez J. Participación del sistema inmunológico en el ecosistema oral. In: Saavedra. JLM, editor. Ecología Oral. Ciudad de México, México: Manual Moderno; 2018. p. 2
28. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. Microbiology and Molecular Biology Reviews 1998.
29. Donlan, R. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg. Infect. Diseases. 2002.
30. Buenaño C. Comparación de índices de biofilm en pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija que asiste a la facultad de Odontología de la Universidad de las Américas en el período de Septiembre- Octubre del 2017. Quito, Ecuador: Universidad de las Américas; 2018.
31. Sarduy L, González M. Biofilm: a new conception of dentobacterial plaque. Mediacentro Electrónica. 2016.
32. Murakami S, Mealey B, Mariotti A, Chapple I, Dental plaque-induced gingival conditions J Clin Periodontol. 2018; 45(Suppl 20): S17-S27.
33. Hoyos M, Rojas M. Mecanismo de la inmunidad y Antiinfección. Rev Act Clin Med. 2014.

34. Paul, W. (2013). *Fundamental Immunology*. Philadelphia, PA. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
35. (Abbas et al., 2012) Abbas AK, Lichtman, AH, Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 7ª ed. Elsevier. México. 2012.
36. Hickey M, Kubes P. Inmunidad intravascular: El encuentro huésped-patógeno en los vasos sanguíneos. *Nat Rev Immunol* 2009.
37. Vega, R.G.B. (2008). Inmunidad natural o innata: Inmunología para El médico general. *Rev Fac Med UNAM* Vol. 51 No. 4 Julio-Agosto.
38. Castellanos Martínez, R., Guevara Rosales, M., Robinson Rodríguez, R. y Vázquez Ríos, Loida. *Respuestas inmunes innata y adaptativa*. MEDISAN. 2002.
39. Rosales C, Uribe- Querol E. Neutrophil activation by antibody receptors In: Khajah M, editor. *Neutrophils Rijeka, Croacia InTech Open* 2018.
40. Lanier LL; Phillips JH. - Natural Killer Cell: Definition of a cell type rather than a Function. *J Immunol* 1986.
41. Ruhi N, Yener A, Serpil I, Hakan T, Sonyman N, Seláuk K. Efecto del tipo de soporte en la halitosis, el estado periodontal y la colonización microbiana. *Angulo Ortodo* 2014;84(3):479–85.
42. Garcez, AS, S, uzuki, SS, Ribeiro, et al. Retención de biopelículas por 3 métodos de ligadura en soportes de ortodoncia: un análisis de tomografía de coherencia microbiológica y óptica. *Am J Orthod Dentofacial Orthoped* 2011.
43. Shiloah, J, Patters, MR, Dean, JW, et al. La tasa de supervivencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, y *Bacteroides forsythus* después de 4 modalidades de tratamiento aleatorio *J Periodontol* 1997;68:9.
44. Suárez S, Galindo B, Herrera L, Juárez I. Necesidad de tratamiento periodontal e higiene oral en pacientes Garantías Explícitas en Salud de 60 años de Punta Arenas. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral [Internet]*. 2016.
45. Lakshman R, Finn A. Neutrophil disorders and their management. *J Clin Pathol*. 2001 Jan; 54(1):7-19.
46. Edwards SW. *Biochemistry and physiology of the neutrophil*. Cambridge University Press 1994, New York.
47. Delgado A, Inarejos P, Herrera M. Espacio biológico. Parte I: La inserción diente-encía. *Avances en Periodoncia*. 2001.
48. Furze RC, Rankin SM. Neutrophil mobilization and clearance in the bone marrow. *Immunology*. 2008;125(3):281-8.

49. Borregaard NC, J. Granules of the Human Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocyte. *Blood*. 2017;89(10):3503- 21.
50. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5.
51. Papayannopoulos V, Zychlinsky A. 2009 NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends Immunol* 30:513-21.
52. Casales. M., Estallido Respiratorio de los fagocitos, *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* 2006, vol 42, 365-386
53. López D. Caracterización y clasificación de glóbulos blancos mediante descriptores locales de imágenes: *Universitat Jaume I*; 2017.
54. Aderem A, Underhill DM. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu Rev Immunol* 1999; 170: 593-623
55. Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD. *Inmunobiología: el sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad*. Masson, Barcelona. 2000.
56. Barret, J., *Inmunología médica*, Capítulo 1, Quinta edición, Ed. Interamericana, México, 1990.
57. Ballester J, Macías C. El sistema inmunológico: comentarios de interés básico. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2003;19 (2-3).
58. Kolenbrander P, Andersen R, Blehert D, Eglund P, Foster J, Palmer R. Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002.
59. Quintero A, García C. Control de la higiene oral en los pacientes con ortodoncia fija. *Rev Nac Odontol*. 2013:37-45.
60. Camicia G, de Larrañaga G. Trampas extracelulares de neutrófilos: un mecanismo de defensa con dos caras. *Elsevier Doyma*. 2013;140(2):70- 5.
61. Faria R, Belén A, Bascones A. Nuevos métodos de diagnóstico en Periodoncia. *Métodos bioquímicos. Av Periodon Implantol* 2001;13(1): 29-37.
62. Quiñonez Zárate LA, Barajas Michel AM. Control de Placa Dentobacteriana con el Índice de O'Leary, instruyendo la Técnica de Cepillado de Bass, en pacientes infantiles del Posgrado en Odontopediátride la UAN. *Revista EDUCATECNOCENCIA* 2015;5(6):106-119.
63. Uriarte SM, Edmisson JS, Jimenez-Flores E (2015). Human neutrophils and oral microbiota: a constant tug-of-war between a harmonious and a discordant coexistence. *Immunol. Rev.* 273:282-298.
64. Rosales C, Uribe- Querol E. Neutrophil activation by antibody receptors In: Khajah M, editor. *Neutrophils Rijeka, Croacia InTech Open* 2018 p. 1-87.

65. Moonen C, Hirschfeld J, Cheng L, Cfeliz y, Los B, Nicu E. Neutrófilos orales caracterizados: propiedades de formación de trampa extracelular (NET) quimiotáctica, fagocítica y neutrófila. Frente Immunol [Internet]. 2019.
66. Matasa C. Microbial attack of orthodontic adhesives. American Journal of Orthodontic adhesives. American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedic. 1995.
67. Wilson T., Gregory R. Clinical effectiveness of fluoride-releasing elastomers. I: Salivary Streptococcus mutans numbers. American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedic. Marzo. 293-297.
68. Rosenbloom R, Tinanoff N. Salivary Streptococcus mutans levels in patients before, during and after orthodontic treatment. American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedic. Julio. 1991.35-37.
69. Fournier A., Payant L., Boiclin R. Adherence of Streptococcus mutans to orthodontic brackets. American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedic Octubre. 414-417.

## **18. ANEXOS**

- **1.CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA TOMA DE SALIVA**
  
- **2.FICHA CLÍNICA**
  
- **3.CONTROL PERSONAL DE PLACA (CPP) USANDO EL ÍNDICE DE O´LEARY**

**ANEXO 1**  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

De acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y con La Ley General de Salud. Título Segundo. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos CAPITULO I. Disposiciones Comunes Artículo 13 y 14. En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto en su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar. Debido a que esta investigación se consideró como riesgo mínimo o mayor acuerdo al artículo 17 y en cumplimiento con los aspectos mencionados con el Artículo 21.

- I. Se me ha explicado que mi donación de saliva es para realizar estudios de investigación sobre el funcionamiento normal de los leucocitos (glóbulos blancos en sangre). Esta donación es completamente voluntaria de mi parte y no pone en riesgo mi salud ni integridad física de ninguna manera.
- II. Se me ha informado que se tomarán 40 ml de saliva por medio de un enjuague, usando tubos para centrifuga nuevos. Estos serán destruidos y desechados inmediatamente después de su uso.
- III. Se me explicó que la toma de saliva es un procedimiento inofensivo y que es realizado en forma rutinaria en este laboratorio por personal altamente capacitado y con mucha experiencia.
- IV. Se me ha asegurado que puedo preguntar hasta mi complacencia todo lo relacionado con mi donación de saliva y de cómo se usará mi saliva en este estudio.
- V. Por medio de este consentimiento también autorizo la publicación de los resultados que se obtengan con el uso de mi saliva en este estudio, a condición de que en todo momento se mantendrá el secreto profesional y que no se publicará mi nombre o se revelará mi identidad.

Con fecha \_\_\_\_\_, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi donación de saliva para el proyecto acepto donar un poco de mi saliva para el estudio titulado:

**Papel de neutrófilos en la cavidad oral.**

Nombre y firma del donador voluntario \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo 2

Nombre y firma del Investigador Responsable 1: Dra. Eileen Uribe Querol

Nombre y firma del Investigador Responsable 2: Dr. Carlos Rosales Ledezma

Este documento se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en el poder del sujeto de investigación o su representante legal y otro en el poder del investigador.

**ANEXO 2**  
**PAPEL DE NEUTRÓFILOS ORALES**  
**FICHA CLÍNICA**

NO. VOLUNTARIO: \_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_

GÉNERO: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_ TELÉFONO: \_\_\_\_\_

NOMBRE DEL PADRE O TUTOR: \_\_\_\_\_

TELÉFONO: \_\_\_\_\_

NOMBRE DEL DOCTOR RESPONSABLE: \_\_\_\_\_

TELÉFONO: \_\_\_\_\_

HORA DE LA ÚLTIMA INGESTA DE ALIMENTO: \_\_\_\_\_

HORA DEL ÚLTIMO CEPILLADO DENTAL: \_\_\_\_\_

USO DE HILO DENTAL: \_\_\_\_\_ ENJUAGUE: \_\_\_\_\_

ENFERMEDADES SISTÉMICAS: \_\_\_\_\_ ¿CUÁL/ES? \_\_\_\_\_

ALERGIA/S: \_\_\_\_\_

¿SE ENCUENTRA TOMANDO ALGÚN MEDICAMENTO? \_\_\_\_\_

¿CUÁL/ES? \_\_\_\_\_

HÁBITOS PARAFUNCIONALES: \_\_\_\_\_

EMBARAZO: \_\_\_\_\_ MESES DE GESTACIÓN: \_\_\_\_\_

FECHA DE ÚLTIMA MENSTRUACIÓN: \_\_\_\_\_

SISTEMA DE ORTODONCIA:

LIGADO CONVENCIONAL

AUTOLIGADO

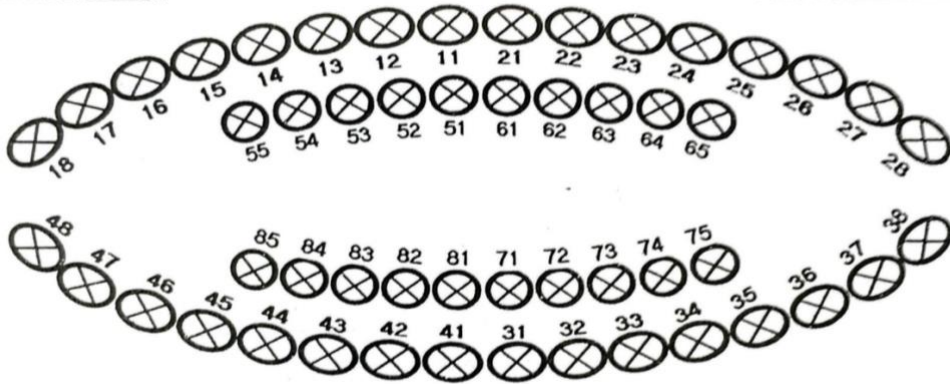
**OBSERVACIONES:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ANEXO 3**  
**CONTROL PERSONAL DE PLACA (CPP)**

PORCENTAJE: \_\_\_\_\_%

FECHA: \_\_\_\_\_



TOTAL DE DIENTES: \_\_\_\_\_

TOTAL DE CARAS: \_\_\_\_\_

TOTAL DE CARAS TEÑIDAS: \_\_\_\_\_