

115  
zej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA**

**DECIMO SEPTIMO SEMINARIO DE TITULACION  
AREA PARODONCIA**

**FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL COMO  
MECANISMO DE DEFENSA DEL  
PARODONTO.**

**T E S I S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**P R E S E N T A :**

**OLIVIA CHAVEZ GARCIA**

**Asesor: C.D.M.O. Oscar Ramírez Breniss**



Vo. Bo.  
*[Firmas manuscritas]*

**MEXICO, D. F.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**1996**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



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:**

A mis padres y hermanos, porque amorosamente me han dado libertad y apoyo para escoger y desarrollarme en mi profesión.

#### **AGRADECIMIENTO:**

A mis profesores. Gracias a todos los profesores que impartieron este seminario de titulación, particularmente a mi asesor, por su apoyo y paciencia durante el desarrollo de esta investigación.

A mis amigos: Les agradezco a todos los que siempre me dieron ánimos para salir adelante en mis proyectos y quienes directamente me brindaron su apoyo; muy especialmente a la fam. Larios Chávez, fam. Flores Rodríguez, y fam. Mata Vega.

## **CONTENIDO**

**DEDICATORIA/AGRADECIMIENTO**

**INDICE**

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>CAPITULO I</b>	<b>2</b>
<b>1.1. GENERALIDADES</b>	<b>2</b>
<b>1.2. ANTECEDENTES HISTORICOS</b>	<b>5</b>
<b>1.3. MECANISMOS DE DEFENSA DEL         PARODONTO</b>	<b>6</b>
<b>CAPITULO II</b>	<b>10</b>
<b>2.1. ORIGEN Y FORMACION DEL         FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL</b>	<b>10</b>
<b>2.2. FUNCION Y CONTENIDO DEL         FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL</b>	<b>13</b>
<b>CAPITULO III</b>	<b>16</b>
<b>3.1. METODOS DE RECOLECCION: CLINICOS         Y DE LABORATORIO</b>	<b>16</b>

CAPITULO IV	23
4.1. PARTICIPACION DEL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL EN LA RESPUESTA INMUNE	23
CAPITULO V	31
5.1. MEDIADORES DE ACTIVIDAD DEL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL	31
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFIA	44

## INTRODUCCION

Partiendo del hecho de que hay infiltrado de células inflamatorias en presencia de enfermedad periodontal, siendo acarreadas éstas por el fluido crevicular gingival, se hizo la presente recopilación bibliográfica, ya que también ha sido encontrado en una encía clínicamente sana, un escaso, pero definido infiltrado celular inflamatorio, consistiendo principalmente de monocitos/macrófagos, linfocitos y neutrófilos en contacto con el epitelio de unión. Así mismo, si las bacterias o algún otro material en particular se introducen en el surco, el fluido podría expulsarlos del surco gingival (si es que estos no están retenidos mecánicamente), para lo cual debe incrementarse su volumen de exudación.

Es así como se sugiere el estudio del fluido crevicular gingival como un medio no invasivo para estudiar la respuesta del huésped a la enfermedad periodontal.

## **CAPITULO I**

### **1.1. GENERALIDADES**

La encía normal está exenta de acumulación significativa de células inflamatorias. La superficie bucal de la encía normal está cubierta por un epitelio queratinizado que se fusiona con el epitelio de unión. Este se fija firmemente sobre la superficie dentaria por medio de hemidesmosomas, y la porción marginal del epitelio de unión aloja unos pocos de granulocitos, neutrófilos y monocitos. El espacio entre el epitelio bucal y el epitelio de unión está ocupado por estructuras colágenas; la mayor parte de las células están organizadas en haces densos de fibras bien delimitadas. Pueden existir células inflamatorias aisladas en esta zona o alrededor de algunos vasos en localizaciones más distantes (8).

La estrechez relativa de los espacios intercelulares del epitelio del surco, que por lo general carecen de leucocitos, y la tendencia demostrada de la superficie celular hacia la queratinización, sugieren que la posición coronal del surco, delimitada por el epitelio, es relativamente más impermeable al paso del líquido o de los leucocitos de la porción apical delimitada por el epitelio de unión (3).

En la inflamación gingival, la velocidad del flujo hacia el exterior se incrementa; es obvio que este líquido no se considere como un simple infiltrado de los tejidos con metabolismo normal, si no como exudado inflamatorio. Debido a la casi invariable presencia de reacción inflamatoria en el margen gingival y de neutrófilos en el líquido del surco, es difícil, aceptar su presencia como parte de lo normal en una encía no inflamada, por lo regular muestra la presencia de líquido que sale entre la encía y el diente, la cantidad de este varía con la gravedad de la inflamación. Estos resultados se relacionan con los cambios histicos del area (3).

La estructura del epitelio de unión permite el paso del líquido gingival hacia el surco. Este líquido contiene muchos de los componentes de la sangre, incluyendo anticuerpos específicos y sistemas antimicrobianos no específicos. Dentro

del tejido gingival conjuntivo se presenta una diferenciación de células linfoides hacia células plasmáticas con la síntesis y liberación de inmunoglobulinas (9).

## 1.2. ANTECEDENTES HISTORICOS.

Desde 1870 se observó que del surco gingival existía un flujo de líquido que originalmente se consideraba secreción glandular. Se prestó poca atención a este líquido, hasta 1958, cuando Brill, Krasse, Leo y otros, iniciaron estudios que no han cesado hasta ahora. Existen varias técnicas para obtener este líquido. En 1965, Lee y Pendersen, utilizando su técnica concluyeron que en una encía normal no había flujo de líquido. Este estudio fue repetido en 1967 por Weinstein, quien encontró que en todos los pacientes con encía clínicamente normal, existía cierto flujo de líquido. Y recientemente Lamstery Grbic en 1995 tuvieron el mismo resultado.

La mayoría de los odontólogos consideran que siempre hay algo de flujo. Lo que se conoce acerca de dicho líquido es que definitivamente aumenta con la inflamación (5, 12).

### 1.3. MECANISMOS DE DEFENSA DEL PARODONTO.

Existen varias líneas defensivas para proteger al huésped de las sustancias potencialmente tóxicas.

Los dientes y la encía se encuentran en un ambiente séptico que contiene innumerables especies diferentes y cepas de microorganismos, así como masas de sustancias extrañas y antigénicas, por lo que presta una línea de defensa:

- Los tejidos blandos están cubiertos por epitelio escamoso estratificado, un tejido que experimenta una regeneración rápida y renovación. Las células producidas en la capa basal se desplazan hacia la superficie y son descamadas llevando consigo las sustancias tóxicas que pudieran haber penetrado en la cubierta epitelial.

- El epitelio gingival, y en parte el epitelio del surco experimentan queratinización para producir una capa superficial resistente e impenetrable.

- El epitelio de unión en contacto con las superficies dentarias calcificadas, elabora una sustancia a manera de lámina basal que sella, en forma eficaz, la interfase entre tejidos blandos y el diente.

- Todos los tejidos superficiales, incluyendo al diente, están cubiertos por una capa glucoproteica.

- Leucocitos polimorfonucleares que emigran continuamente desde los vasos de los tejidos conjuntivos hacia el epitelio de unión, el surco gingival y la cavidad bucal. Se han calculado que bajo condiciones estrictamente normales, más de 500 leucocitos polimorfonucleares por segundo, se desplazan a través del epitelio de unión de una dentición completa hacia la cavidad bucal. La magnitud de esta migración aumenta dramáticamente al incrementarse el tamaño de la población microbiana cerca de la encía. Estas células poseen la capacidad, al estar dentro de los tejidos o en el surco gingival, para fagocitar y matar microorganismos.

- Los macrófagos se encuentran dentro del surco gingival, en el epitelio de unión y en el tejido conjuntivo subyacente. A diferencia de los leucocitos polimorfonucleares los macrófagos son longevos. Poseen la capacidad de funcionar fagocitando y digiriendo los microorganismos y sustancias extrañas.

- Las células linfoides poseen la capacidad de desencadenar reacciones inmunológicas celulares y humorales, también existen en el epitelio de unión, así como en los tejidos conjuntivos subyacentes. La presencia continua de microorganismo, tal como ocurre en la acumulación de placa, da como resultado la sensibilización del huésped, La producción de linfocinas, la diferenciación de células plasmáticas y la producción de anticuerpos específicos.

-El fluido crevicular gingival que sale por las asas capilares, se encuentra en pequeñas cantidades, bañando el surco de la encía. Producto de filtración fisiológica de los vasos, modificado al atravesar el surco. Aumenta su volumen en presencia de inflamación.

- Las células del epitelio de unión, especialmente aquellas localizadas cerca de la base del surco gingival, constituyen un componente importante para la defensa del huésped, en muchos

aspectos, las células se asemejan a células epiteliales migrando sobre una herida abierta. Contienen lisosomas y poseen actividad fagocítica. Además las células van continuamente hacia el surco y son reemplazadas por células que se dirigen en sentido coronario desde la región del epitelio basal. (7,9).

## CAPITULO II

### 2.1. ORIGEN Y FORMACION DEL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL.

Las reacciones inflamatorias tienen dos componentes, la respuesta del fluido, la cual resulta de la formación de un exudado inflamatorio en los tejidos, y la respuesta celular, en la cual las células inflamatorias emigran en los tejidos. Ambos, fluido y respuesta celular, son también como respuesta inmunológica, activados por muchos componentes de la placa.

La fase de inflamación en el fluido es generada por vasos sanguíneos, particularmente las vénulas postcapilares. En respuesta a la variedad de mediadores relacionados por células mastocitos y tejidos dañados. El exudado inflamatorio contiene

agentes antibacteriales y sustancias, quienes median los estados subsecuentes de la respuesta.

El incremento en el riego sanguíneo en la enfermedad periodontal da incremento al eritema de la encía, edema e inflamación del margen gingival y la salida del fluido crevicular gingival. La exudación del fluido es normalmente limitado por la presión de los tejidos, pero los tejidos gingivales están confinados en tejido conjuntivo, el cual es permeable y puede ulcerarse, así el exudado es capaz de fluir fuera de los tejidos y dentro de la hendidura o bolsa. Como resultado hay un incremento en la presión de los tejidos y en los mediadores inflamatorios, los cuales podrían limitar la formación de exudado, estos se pierden del sitio. La salida del fluido es por consiguiente continuo, y estimado es que un mililitro de este fluido crevicular pasa de la encía a la boca cada día.

El exudado inflamatorio, el cual fluye en la hendidura, contiene muchos componentes sanguíneos y mediadores de defensa del huésped, los cuales pueden inhibir o matar placa bacteriana, pero éste puede ser degradado por la placa y usar sus nutrientes. Por el tiempo que fluye el exudado inflamatorio fuera de la hendidura y dentro de la boca es considerablemente alterado. Los componentes son absorbidos en la placa y

degradados, y los productos microbianos son agregados. Por estas razones el fluido crevicular es considerado como un "transudado alterado", mejor dicho después un exudado inflamatorio. El fluido es generalmente mayor en la enfermedad más avanzada, reflejando el incremento en la severidad de la inflamación, el incremento del volumen del tejido inflamado y una mayor área de la bolsa, a lo largo de la cual emerge el fluido. No obstante el flujo, es muy variable, ya que algunas bolsas tienen un insignificante flujo y puede ser mayor el riesgo de que los productos bacterianos penetren a los tejidos (13).

## 2.2. FUNCION Y CONTENIDO DEL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL

El surco gingival está bajo un constante desafío de la microflora, colonización bacteriana en la superficie dentaria y tal vez ciertos constituyentes de los alimentos y bebidas. El tejido conjuntivo es una singular estructura, pero en presencia de placa, ofrece una pequeña protección al tejido conjuntivo. El medio ambiente bucal, al mismo tiempo con los mecanismos de defensa del huésped proveen un grado de protección al área dentogingival. Estos mecanismos de defensa incluyen saliva, fluido crevicular gingival y leucocitos polimorfonucleares.

El fluido crevicular gingival es formado en el tejido conjuntivo gingival, como un resultado de la microcirculación. El fluido es percolado a lo largo de los tejidos y epitelio en la hendidura gingival. Este flujo unidireccional, provee una continua acción de enjuague, la continua salida del fluido

productos de la hendidura, y reduciendo la difusión de productos de la placa en el interior de los tejidos, lo cual puede servir para reducir la colonización bacteriana de la hendidura. La producción y el flujo de éste se incrementa en relación con el nivel de inflamación de los tejidos gingivales (10, 13).

La producción y secreción de saliva juega un papel vital en el mantenimiento de la salud oral. El contacto constante entre la saliva y la mucosa oral sirve como una acción de enjuague, la cual ayuda a remover la bacteria. De este modo, sólo las bacterias que tienen la capacidad de adherirse a la superficie dentaria pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la placa. La saliva, así mismo, contiene inmunoglobulina A secretoria (Ig A), aglutininas, lisosimas, leucocitos polimorfonucleares y lactoferrina, lo cual interviene con la adhesión bacteriana y su desarrollo. La Ig A salival puede inhibir o impedir la colonización de la bacteria al diente. No obstante, varios estreptococos producen una proteasa para Ig A que la rompen y facilitan la colonización de la superficie del diente. Las aglutininas salivales causarán una desorganización bacteriana e impedirán su adherencia a las superficies dentales. Finalmente, la saliva contiene leucocitos polimorfonucleares que son capaces de fagocitar a la bacteria (10).

La composición del fluido crevicular es muy similar al suero, pero los constituyentes son en una concentración menor. Los componentes protectores del fluido crevicular incluyen las proteínas del complemento (anticuerpos).

Muchas bacterias alojadas en el fluido crevicular activan la respuesta inmune del huésped. La cascada del complemento forma parte integral de esta respuesta y esta reacción puede ser activada por la vía clásica o alterna.

Dentro de su composición se encuentran:

- Electrolitos (Sodio, Potasio, Calcio)
- Proteínas plasmáticas, inmunoglobulinas A, G y M
- Albumina
- Lisozima
- Fibrinógeno
- Fosfatasa ácida (9, 13).

## CAPITULO III

### 3.1. METODOS DE RECOLECCION: CLINICOS Y DE LABORATORIO.

Cimasoni (5) indentificó cuatro métodos y el quinto puede ser añadido.

- Tiras de papel filtro que puede absorber el fluido, son insertadas en el margen o en la hendidura del surco gingival.

- Micropipetas son colocadas en el margen o en la hendidura del surco gingival y usando acción capilar se colecta el fluido crevicular.

- Microjeringas. Delicadamente inyectar un conocido volumen de buffer, y los contenidos de la hendidura son sacados.

- Tiras de plástico diseñadas para coleccionar los componentes celulares de la hendidura, son insertadas subgingivalmente.

- Mediadores específicos en la hendidura son colectados e identificados, usando técnicas bioquímicas e inmunológicas.

#### TIRAS DE PAPEL

El uso de tiras de papel filtro para coleccionar el fluido crevicular gingival, puede ser rastreado desde 1958 con Brill & Krasse. Brill sugiere que las tiras sean insertadas en la hendidura moviendo la tira en dirección apical hasta que sea detectada una ligera resistencia Løe & Holm-Pendersen colocan la tira en el margen para evitar romper la vasculatura gingival. La técnica de colocación intracrevicular ha sido el medio más popular para coleccionar el fluido crevicular gingival. El fluido puede ser coleccionado hasta que el papel filtro se sature o por un periodo estándar de 30 segundos.

La suma del exudado colectado pudo ser determinado pesando la tira antes y después de muestrear el fluido (5, 12). Actualmente, el volumen del fluido crevicular gingival colectado en tiras de papel filtro es determinado por el uso del Periotron. Este dispositivo electrónico mide el cambio en la capacidad a través de la tira mojada. El cambio es convertido a lectura digital, la cual puede ser correlacionada con el volumen del fluido crevicular gingival.

El analizador de fluido Periotron 6000 ha sido utilizado con mucho agrado como una herramienta de diagnóstico para una variedad de enfermedades orales, y para muestreo del fluido crevicular gingival.

El Periotron 6000 es un instrumento seguro y conveniente para la medida de fluidos más grandes de 0.2 ml. Para volúmenes menores de 0.2 ml. los errores en la medida pueden ser también incrementados (los resultados pueden ser alterados por la temperatura de la habitación y la colocación de la tira de papel filtro), con la mejora del aparato (Periotron 6000) la lectura es generalmente reconocida como correcta y reproducible. Para obtener un volumen real del fluido crevicular gingival, una curva de calibración debe ser preparada

realcionando conocidos volúmenes de fluido (usualmente suero) con la lectura del Periotron.

El Periotron 8000 es una modificación del Periotron 6000. Este nuevo modelo provee calibración automática real del volumen. El Periotron 8000 es avalado por Pro Flow Incorporates, Amityville, N.Y. (1, 5).

#### **MICROPIPETAS.**

Pequeños tubos capilares pueden ser colocados en el margen o dentro de la hendidura gingival. Por acción capilar, el fluido entra al tubo. El volumen insertado en el tubo puede ser precisamente medido. Tal como lo observado por Cimasoni (5), hay muchos problemas asociados con la colección del fluido crevicular gingival usando micropipetas. Estos incluyen dificultad en la colección del fluido crevicular, si el fluido es viscoso, y problemas en el tiempo al recobrar el fluido para análisis subsecuentes. Por ejemplo, muchos mediadores se adhieren a la superficie de vidrio. Esta propiedad puede reducir el recobro del factor estudiado. El uso de tubos capilares para coleccionar volúmenes de fluido crevicular (1-2 microlitros) de

sitios de muestra, puede estar naturalmente contaminado por la  
afluencia de suero siguiendo la ruptura de la vasculatura  
gingival.

#### OTROS DISPOSITIVOS Y PROCEDIMIENTOS.

Varias células del huésped están presentes en el fluido  
crevicular gingival, incluyendo leucocitos y células epiteliales.  
Las tiras plásticas para la colección y examinación  
intracrevicular leucocitaria, han sido usadas por muchos años, y  
ofrecen un simple método relativo de cuantificación del número  
de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) en la hendidura.  
Los neutrófilos creviculares han sido evaluados por su respuesta  
en vivo a la señal quimiotáctica. Han sido observadas  
anormalidades en pacientes que han reportado defecto  
quimiotáctico de neutrófilos periféricos. Las microjeringas  
pueden ser usadas para transmitir un amortiguador al interior de  
la hendidura, y después el amortiguador y los contenidos  
creviculares pueden ser recuperados de su sitio.

## CAPTURA ESPECIFICA DE MOLECULAS DEL FLUIDO CREVICULAR.

Rossamando *et al.* introdujeron separación inmunomagnética para estudiar moléculas específicas en el espacio crevicular. Esta técnica ayuda en la ligadura específica del anticuerpo a la molécula de la hendidura que es estudiada. El anticuerpo es introducido a la hendidura unido a pequeños polos magnéticos. El compuesto mediador del anticuerpo es colectado de la hendidura mediante pequeñas esferas magnéticas. La suma de las moléculas capturadas es analizada después de que las esferas son colectadas. Esta técnica ofrece la ventaja de identificación específica de moléculas de interés. A la vez algunos estudios preliminares han examinado el factor alfa de necrosis de tumor en el fluido crevicular gingival usando esta técnica, el procedimiento no ha sido bien estudiado como un examen de diagnóstico de la enfermedad periodontal.

Un similar acercamiento ha sido logrado por el análisis de elastasa de neutrófilos en el fluido crevicular gingival. Una técnica descrita por Palcanis *et al.* usando pequeñas tiras unidas a un sustrato específico para esta enzima. Después es colocada dentro de la hendidura por 15 segs. La tira es removida, y

examinada bajo luz ultravioleta. Un incremento en la fluorescencia, es relacionado con un incremento en la actividad enzimática.

El uso de estos acercamientos en vivo para estudiar los mediadores derivados del huésped en la hendidura gingival, podría reducir el tiempo necesario para analizar moléculas diagnósticamente importantes (5).

## CAPITULO IV

### 4.1. PARTICIPACION DEL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL EN LA RESPUESTA INMUNE.

El sistema del complemento tiene numerosas funciones críticas en la inflamación y consiste por lo menos en 20 proteínas que pueden interactuar entre sí, en una serie específica de reacciones en cascada, y las cuales circulan en forma inactiva en el plasma o suero semejante al sistema de coagulación. Son activadas y depositadas en los tejidos y exudado gingival en el desarrollo de la gingivitis y periodontitis. Presumiblemente esto se traduce en cierta protección para el huésped contra los ataques microbianos, pero puede dar por resultado también un daño local de los tejidos como consecuencia de la formación de mediadores pro inflamatorios.

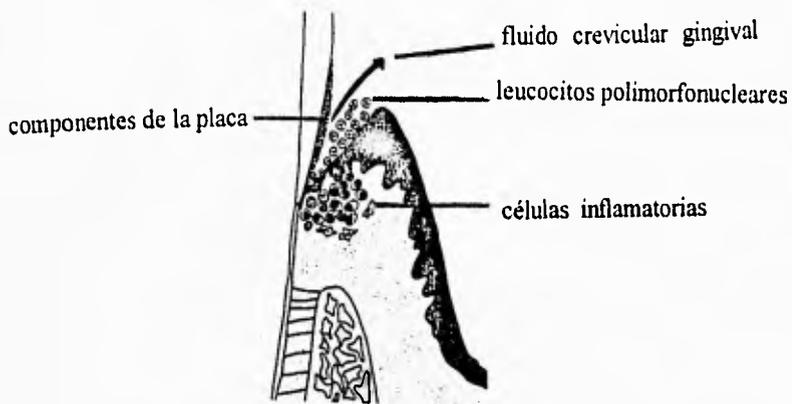


FIG. salida del fluido crevicular gingival

Esto juega un papel importante en la respuesta inmune del fluido de inflamación, activando células mastocitos relacionadas con los mediadores de respuesta del fluido semejante a la histamina, y puede casuar lisis en algunas especies bacterianas. El complemento asimismo activa la respuesta celular de inflamación. Genera factores quiniotácticos, los cuales atraen neutrófilos y macrófagos a los sitios de inflamación, y estas células pueden entonces remover complejos inmunes y bacterias, las cuales están cubiertas con los componentes del complemento.

Esto ocurre por dos vías principales, la clásica y la alternativa. Ambas proceden en forma ordenada, secuencial y dan origen a enzimas proteolíticas que desdoblan diversos componentes del complemento para formar fragmentos peptídicos biológicamente activos. La vía clásica es iniciada típicamente por la unión del antígeno con el anticuerpo específico (Ig M e Ig G1, Ig G2, o Ig G3). El antígeno puede estar representado por un elemento que se halla sobre la superficie de la célula blanco o bien puede tratarse de un factor soluble o extracelular ( por ejemplo un antígeno microbiano liberado, la membrana basal del huésped, colágeno, etc.) es activada por una amplia variedad de sustancias, como complejos polisacáridos, endotoxinas y otros componentes superficiales de todas las bacterias gram negativas, y por proteasas eliminadas por los neutrófilos y los macrófagos. La vía alternativa actúa directamente por la superficie bacteriana, se trata de una línea de defensa más primitiva cuando se le compara con la vía clásica, aceptando un reconocimiento bacteriano en ausencia de una respuesta inmunitaria.

Las propiedades biológicas de las vías clásica y alternativa son idénticas porque ambas producen el mismo efector o moléculas terminales como consecuencia de la activación de C3, C5, C6, C7, C8, C9.

El evento central en la activación del complemento es la división de C3 a la forma C3b, la cual queda unida a la activación del estímulo, usualmente la superficie de un microorganismo.

Cualquiera que sea el tipo de activación que ocurra, una positiva alimentación asegura que la suma liberada de C3b quede fijada a la superficie del microorganismo, la cual es de este modo un objetivo para los neutrófilos y macrófagos. El anticuerpo puede asimismo ligarse a la superficie de la bacteria revestida de complemento o anticuerpo lo cual es el periodo de opsonización, es un evento importante porque mejora la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos.

El complejo se liga o se fusiona con los fosfolípidos de la membrana celular de las células blanco, para formar canales de iones que provocan profundas alteraciones en la permeabilidad de la membrana y a continuación lisis osmótica. Sin embargo, muchos microorganismos son resistentes a la lisis provocada por el complemento, esto antes mencionado. Eso puede deberse, por ejemplo, al impedimento estérico de la unión C5b-9 sobre sitios susceptibles al complemento en la membrana externa, asociaciones no covalentes de C5b-9 con otros componentes de la membrana (impidiendo la inserción de C5b-9) o a la espesa

capa de péptido glicano de los microorganismos gram positivos (la cual protege la membrana interna del ataque del complemento). Los efectos no citolíticos del complemento se deben a la formación de péptidos derivados principalmente del desdoblamiento proteolítico limitado de C3 y C5. Esos péptidos son liberados al medio para interactuar con los receptores de la superficie de las células vecinas, como mastocitos, neutrófilos, macrófagos y linfocitos. Esto da por resultado una amplia variedad de respuestas de acuerdo con el tipo de célula afectada, y es responsable de la mayor parte de las funciones proinflamatorias del sistema del complemento (8, 13).

La unión de las proteínas del complemento más lejanas, las cuales se reúnen ellas mismas en un poro circular en la membrana, un proceso el cual puede matar algunas bacterias. La solubilidad de C3a y C5a relacionada durante la activación del complemento mejora la respuesta inflamatoria por la histamina de células mastocitos, la atracción de neutrófilos y disparando ellos la secreción de prostaglandinas, leucocinas y enzimas dentro del tejido. Otro componente del complemento, C2-cinina, causa incremento del riego sanguíneo y permeabilidad vascular.

Todos los componentes del complemento pasan de la sangre a los tejidos gingivales, hendidura y bolsa en el exudado inflamatorio, y en más pequeña adición la suma de algunos componentes son sintetizados en la encía por macrófagos. La más importante acción del complemento es probablemente opsonización y matar la bacteria si entra a los tejidos. Cuando no está la bacteria en los tejidos el complemento es acarreado a la hendidura o bolsa en el fluido crevicular, pero es improbable que mate muchas bacterias aquí, el complemento, el cual entra en la hendidura, es en su mayor parte derrochado, ya sea degradado por enzimas bacterianas, inactivado por enzimas de la placa bacteriana o soluble en factores bacterianos. Las endotoxinas, por ejemplo, son un poderoso activador del complemento por la vía alternativa (13).

Cuando el complemento es activado, una pequeña proporción de moléculas pueden quedar fijadas a los tejidos del huésped, causando lisis de las células del huésped, y disparando neutrófilos. Esta es normalmente una reacción menor, porque la cascada del complemento es controlada por inhibidores en el exudado inflamatorio y por que las membranas de las células del huésped contienen proteínas protectoras. Es posible, no obstante, que una pequeña parte del tejido dañado, junto con el tejido periodontal, es mediado por el complemento,

particularmente en el tejido conjuntivo o bolsa, porque el complemento en el fluido crevicular podría ser activado en el epitelio por los productos bacterianos difundiendo en los tejidos (13).

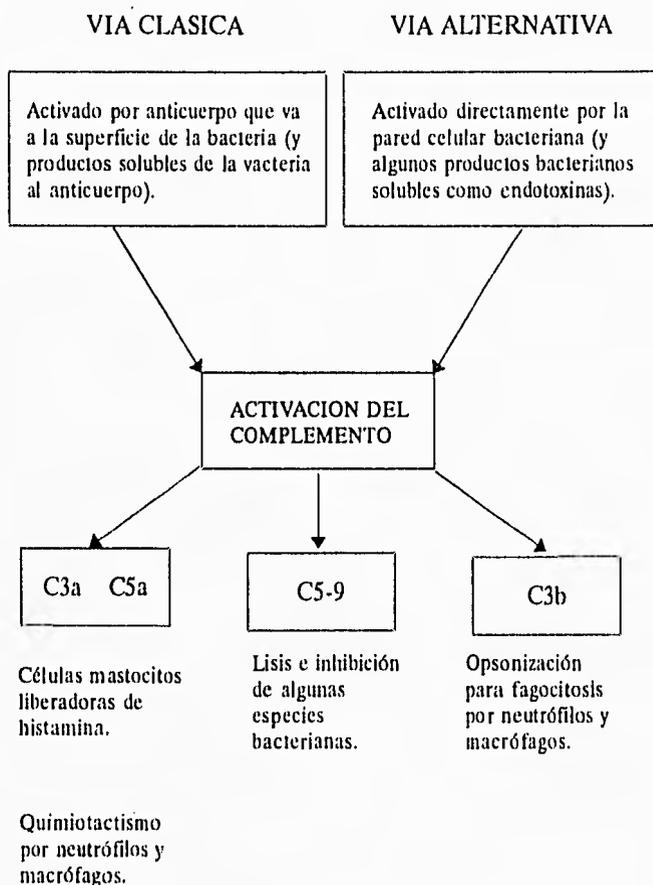


Tabla 1.- Activación del complemento por la bacteria y sus efectos (resumen). Tomado de Williams *et al.* (1992).

**FUNCIONES BIOLÓGICAS POTENCIALES DEL  
COMPLEMENTO EN LA INFLAMACIÓN.**

Movilización de leucocitos desde la médula ósea.	C3c
Adherencia leucocitaria a las superficies endoteliales.	C5a
Quimiotactismo de los leucocitos.	C5a, C6, C7
Opsonización de microorganismos para la fagocitosis.	C3b
Estimulación del metabolismo oxidativo de los leucocitos.	C3a, C5a
Activación de la desgranulación de los neutrófilos.	C5a
Inducción de la secreción de los macrófagos.	C3b
Producción de Linfocina.	C3b
Desgranulación de mastocitos (actividad anafilotoxina) que da por resultado el aumento de la permeabilidad vascular.	C3a, C5a
Reabsorción ósea (mediada por prostaglandina E2).	???
Lisis de ciertas bacterias Gram negativas.	C5b, C6, C7, C8, C9
Destrucción de células del huésped.	C5b, C6, C7, C8, C9

Tabla 2.- Funciones del complemento en la inflamación. Tomado de Lindhe (1992).

## CAPITULO V

### 5.1. MEDIADORES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA AGUDA EN EL FLUIDO CREVICULAR GINGIVAL.

La respuesta inflamatoria aguda en la enfermedad periodontal está representada por un grupo de mediadores celulares y séricos que reaccionan rápidamente a la agresión inicial, pero son asimismo observados a lo largo de la historia natural de la lesión.

Como la enfermedad periodontal es el resultado de la interacción de la microflora periodontal y la respuesta del huésped a la infección, los aspectos de esta compleja interacción son identificados y evaluados por su relación a la severidad de la enfermedad y su asociación con la futura progresión de la enfermedad.

La característica celular de la respuesta inflamatoria aguda son los neutrófilos, los cuales generalmente más del 50% de las células blancas sanguíneas circulando en humanos. El factor activador de plaquetas, un potente fosfolípido mediador de la inflamación ha sido identificado en la inflamación de tejidos gingivales y fluido crevicular gingival. No obstante el papel del factor activador de plaquetas en restos patobiológicos orales se desconoce (2,5).

En la hendidura gingival los neutrófilos, son a menudo identificados por la presencia extracelular de enzimas lisosomales. Los factores asociados al suero son considerados parte de la respuesta inflamatoria aguda, incluye un número de diferentes sistemas efectores que son activados en forma de cascada. Incluyendo aquí el sistema de complemento, el sistema de coagulación, sistema fibrinolítico y sistema generador de cinina. Muchos factores representativos de la fase aguda de la respuesta a la inflamación han sido identificados en el fluido crevicular gingival. Aunque muchos muestran incremento cuando aumenta la severidad de la enfermedad periodontal, una mucho menor cantidad de factores se aceptan actualmente para identificar riesgo de progresión de la enfermedad, usualmente sondeando pérdida de inserción. Estos mediadores son muy importantes diagnósticamente y son fuertemente discutidos.

El análisis del fluido crevicular gingival ofrece un medio no invasivo para estudiar la respuesta del huésped en enfermedades periodontales y puede proveer un indicador primario de los pacientes en riesgo de periodontitis activa (5, 6).

La examinación de los tejidos gingivales seguida del sondeo, o la presencia de supuración son medidas de la respuesta del huésped. Estos parámetros clínicos son, no obstante, sujetos a la variabilidad inherente en evaluación clínica. Mediadores reconocidos como parte de la respuesta individual del huésped, a la infección periodontal, son identificados tales como anticuerpos contra patógenos, liberación local de enzimas, mediadores inflamatorios del huésped o citocinas de las células inflamatorias (5).

La respuesta del huésped a la enfermedad periodontal envuelve aspectos de inflamación aguda, respuesta celular y humoral. La cuestión de cómo coleccionar las muestras del fluido requiere una consideración crítica.

Los niveles de Beta glucoronidasa en el fluido crevicular gingival, un marcador de la liberación primaria de gránulos de los leucocitos polimorfonucleares, han sido presentados, para

identificar pacientes con periodontitis en riesgo de pérdida de inserción, mostrada al sondeo.

La terapia periodontal tiende a reducir la actividad de la Beta glucoronidasa en el fluido crevicular gingival (5, 6).

Las manifestaciones sistémicas de la enfermedad periodontal pueden ser evaluadas en la circulación por medio de análisis de alteraciones en la función leucocitaria que acompaña ciertas formas severas de enfermedad periodontal, así como la producción de anticuerpos a los patógenos periodontales. El consenso general de opinión es que el análisis del fluido crevicular gingival representa el más práctico acercamiento para el análisis bioquímico de la respuesta del huésped a la enfermedad periodontal (5).

La elastasa de los neutrófilos en el fluido crevicular gingival ha sido evaluada como medio para identificar pérdida de inserción en sitios individuales. 5 sitios de cada 30 pacientes fueron monitoreados en intervalos de dos semanas por pérdida de inserción y pérdida radiográfica de hueso. Los sitios desplegaron pérdida de inserción al sondeo durante un periodo de monitoreo de 6 meses, éste demostró significativamente más elastasa al inicio (2.81 unidades contra 2.03 unidades). Además,

sitios que radiográficamente mostraron pérdida de hueso en el periodo de monitoreo, demostró, significativamente, más enzima al inicio que en los sitios sin pérdida de hueso, pero la diferencia no fue dramática ( 2.32 unidades contra 2.01 unidades). Para sitios que desplegaron pérdida de hueso y pérdida de inserción, la severidad y especificidad de la elastasa de los neutrófilos, fue 82% y 66% respectivamente.

La relación entre la enzima Beta glucoronidasa a la pérdida de inserción ha sido estudiada por Lamster *et al.* La Beta glucoronidasa es considerada un marcador de la liberación granular primaria por los neutrófilos. La evaluación longitudinal inicial de esta enzima es en el fluido crevicular gingival estudiado en 36 pacientes bajo tratamiento de periodontitis adulta, en un periodo de 6 meses. Para normalizar la población, todos los pacientes recibieron una profilaxis.

Estos estudios relacionan elevada actividad de Beta glucoronidasa en el fluido con el riesgo para futura pérdida de inserción, la cual es soportada por el estudio de la elastasa de neutrófilos en el fluido crevicular gingival. Aunque una reducción en la actividad neutrofílica ha sido asociada con ciertas formas de enfermedad periodontal rápidamente progresiva, estudios del fluido crevicular indican que la alta

respuesta neutrofílica contribuye a la destrucción de los tejidos en la enfermedad periodontal. Este mecanismo ha sido asociado con la destrucción tisular en desórdenes sistémicos como enfisema.

A pesar de la evidencia es fuertemente sugerida la asociación de ambos, Beta glucoronidasa y elastasa de neutrófilos y la enfermedad periodontal activa, como evaluación por pérdida de inserción, la asociación de otros indicadores de los neutrófilos y la actividad de la enfermedad no es clara (5).

La leucocina B4, la cual se forma como un resultado de la acción de lipooxigenasa en ácido araquidónico, se piensa que es un producto de neutrófilos, y su identificación en el fluido crevicular gingival sugirió ser un marcador en la actividad de la enfermedad periodontal. El nivel de leucocina B4 en tejidos afectados; por periodontitis, está elevada 4 veces más que en tejidos sanos, y los niveles del fluido crevicular de sitios de pacientes con periodontitis juvenil localizada fueron significativamente elevados cuando se comparó con sitios sanos. Nevertheless *et al.* no creen que este mediador es un buen indicador para la pérdida de inserción.

En adición, los niveles importantes de enzima colagenasa fue examinada en fluido crevicular gingival por su relación con la progresión de la enfermedad. Usando un modelo de periodontitis, ambos, actividad colagenolítica e inhibidores de la enzima, en fluido crevicular gingival fueron estudiados. La enfermedad activa fue asociada con la elevada actividad colagenolítica y reducida actividad inhibidora. Lo contrario fue observado en fluido crevicular de sitios sanos.

La actividad de la colagenasa en el fluido crevicular gingival de pacientes con varias formas de enfermedad periodontal, también ha sido estudiada. El fluido crevicular gingival de pacientes con periodontitis juvenil localizada mostraron una gran cantidad de ambas, colagenasa total y colagenasa en forma activa, también como menor actividad inhibidora que en el fluido crevicular de pacientes pareados por edad (5).

La relación de la pérdida de inserción al sondeo a la concentración de prostaglandina  $E_2$  en el fluido crevicular gingival ha sido estudiada por Offenbacher *et al.* La prostaglandina  $E_2$  es un mediador inflamatorio formado como resultado de la acción de la enzima ciclooxigenasa en ácido araquidónico. Este mediador muestra tener muchos efectos en

ambas: células inflamatorias y estructura, incluyendo reclutamiento de células inflamatorias, producción de colagenasa y estimulación de la actividad osteoclástica. Muchos tipos de células pueden producir prostaglandina E<sub>2</sub>, pero en el ambiente periodontal este mediador es considerado producto de los macrófagos. La prostaglandina E<sub>2</sub> en el fluido crevicular gingival muestra tener asociación con exudados colectados de tejidos periodontales y es asociado con la aparición natural e inducida de lesiones inflamatorias.

Examinando un total de 41 pacientes durante 3 años, el fluido crevicular fue muestreado del sitio mesiobucal de todos los dientes, y fue calculada la concentración de prostaglandina E<sub>2</sub> de los pacientes. 24 de los pacientes no mostraron pérdida de la inserción al sondeo, y este grupo demostró una concentración de prostaglandina E<sub>2</sub> de 50.17 ± 7.1 ng/ml, en contraste, 17 pacientes que mostraron pérdida de la inserción tuvieron una concentración de prostaglandina E<sub>2</sub> en el fluido crevicular gingival de 113 ± 9.0 ng/ml. La evaluación de la concentración de prostaglandina E<sub>2</sub> en el fluido crevicular gingival fue capaz de detectar el riesgo de pérdida de inserción 6 meses antes de que esto ocurra. Cuando los sitios individuales experimentaron pérdida de inserción fueron examinados, ellos desplegaron una concentración importante de prostaglandina E<sub>2</sub> de más de 300 ng/ml. Usando un punto de corte de 66.2 ng/ml. de

prostaglandina E<sub>2</sub> (la cual tuvo dos desviaciones estándar arriba de las concentraciones de prostaglandina E<sub>2</sub> para pacientes con gingivitis), resultó en una sensibilidad del 76% y especificidad del 96% para prostaglandina E<sub>2</sub> como un examen para la identificación temprana de pérdida de inserción. Ellos pensaron que la concentración de prostaglandina E<sub>2</sub> en el fluido crevicular gingival, no puede ser usado para predecir episodios específicos del sitio de pérdida de inserción, debido en una gran parte a la variación de prostaglandina E<sub>2</sub> en el fluido crevicular gingival al incrementarse en muchos sitios, en los pacientes que tuvieron elevados los niveles de este mediador. Esto sugirió que un limitado número de sitios representativos pudieran ser muestreados para identificar un paciente en riesgo de futura pérdida de inserción (5).

El análisis de los niveles de glucosaminoglucanos en sitios de enfermedad demostraron una pobre respuesta a la fase I del tratamiento parodontal, asimismo un significativo incremento en los niveles de condroitín sulfato -4- como esos sitios que respondieron bien al tratamiento. Los niveles hialurónicos fueron significativamente asociados con el tratamiento clínicamente próspero. Confirmando el uso de glucosaminoglucanos sulfatados, condroitín sulfato -4- como un potencial de diagnóstico de enfermedad periodontal (11).

Se muestran concentraciones significativamente bajas de proteínas en el fluido crevicular gingival en pacientes con periodontitis, que en sitios de pacientes con sólo gingivitis. Esto resultando en sitios con pérdida de inserción y bolsas profundas. Scheinkein & Genco (1977), quienes reportaron las bajas concentraciones en fluido crevicular gingival en sitios con más severa destrucción periodontal.

Actualmente A Gustafsson *et al.* Hallaron una diferencia significativa entre las concentraciones de proteínas en los sitios sin pérdida de inserción en pacientes con sólo gingivitis y en sitios con periodontitis, los cuales tuvieron el mismo grado de enfermedad. En contraste, no hubo diferencias en las concentraciones de proteínas entre los sitios con pérdida de inserción, y aquellos sin pérdida de inserción.

La diferencia de concentración de proteínas es específica del paciente y no específica del sitio. En otras palabras las concentraciones de proteínas son primordialmente dependientes del tipo de paciente, con sólo gingivitis o con periodontitis (4).

Los mecanismos para las bajas concentraciones de proteínas en el fluido crevicular gingival en pacientes con

periodontitis, pueden ser explicados sólo por un incremento neto del total de la suma de proteínas por la inflamación destructiva.

El promedio de las proteínas en el fluido crevicular gingival consiste en proteínas del plasma, como albúmina e inmunoglobulinas. Estudios en suero, no obstante, no mostraron disminución en las concentraciones de proteínas en plasma de pacientes con periodontitis ( Sttström 1974, Asman 1984) (5).

Algunos autores han sugerido la posibilidad de una evaporación proporcionalmente de pequeñas sumas. Esto difícilmente es soportado como teoría en la literatura, pero si éste fuera el caso, no explica la diferencia entre los dos grupos de sitios sin destrucción de tejido. De cualquier modo, no puede excluirse que la baja concentración de proteínas en el fluido crevicular gingival en pacientes con periodontitis es debido a la retención selectiva de proteínas (5).

## CONCLUSIONES

La anterior serie de experimentos tendió a demostrar la relación que tiene la salida del fluido crevicular gingival, habiendo pasado por el tejido conjuntivo gingival a través de las células del epitelio de unión hacia el surco gingival, con el grado de permeabilidad vascular.

Esa relación se dedujo al ser observado que:

-El fluido crevicular gingival se encuentra cerca del área de inflamación.

-Regularmente hay células inflamatorias presentes en el líquido del surco.

-Se detecta el fluido crevicular gingival antes de que clínicamente se presenten cambios estructurales en los tejidos del parodonto.

-La salida del fluido crevicular aumenta en relación con la inflamación.

Se puede concluir, que el estudio de la presencia del fluido crevicular gingival nos brinda un medio clínico disponible

(aunque no fácilmente accesible en nuestro medio) para establecer la predisposición del huésped a la enfermedad periodontal, aún antes de que puedan manifestarse los cambios estructurales clínicamente apreciables.

## BIBLIOGRAFIA

1.- Chaple, I. L., A. I. Cross, H. D. Glenwright, B. J. Matthews. 1995. Calibration and reliability of the Periotron 6000 for individual gingival crevicular fluid samples. J. Periodont. Res. 30(1):73-79.

2.- Garito, M. L., J. T. Prihoda, M. L. McManus. 1995. Salivary platelet-activating factor levels correlate with the severity of periodontal inflammation. J. Dent. Res. 74(4):1048-1056.

3.- Genco Robert J., M. H. Goldman, D. W. Cohen. 1993. Periodoncia. ed. Ed. Interamericana. 769 pp.

4.- Gustafsson A., B. Asman, K. Bergstrom. 1995. Lower protein concentration in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis: an indicator of host-specific inflammatory reaction. J. Clin. Periodont. 22(3): 225-228.

- 5.- Lamster I. B., J. T. Grbic. 1995. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. Periodontology 2000, 7: 83-99.
- 6.- Lamster I. B., G. L. Holmes, B. K. Gross, L. R. Osrain, W. D. Cohen; F. L. Rose, M. L. Peters, R. M. Pope. 1995.  
The relationship of beta-glucuronidase activity in crevicular fluid to probing attachment loss with adult periodontitis.  
J. Clin. Periodont. 22(1): 33-44.
- 7.- Lehner, T., G. Cimasoni. 1980. The Borderland between caries and periodontal disease. Tomo II. Ed. Academic Press London. p. 69.
- 8.- Lindhe, J. 1992. Periodontologia Clinica. Segunda ed. Ed. Medica Panamericana. 591 pp.
- 9.- Schluger S., R. A. Yuodelis, R. C. Page.. 1981. Enfermedad Periodontal Ed. Continental. p 67.
- 10.- Seymour R. A., A. P. Heasman. 1992. Drugs, diseases, and periodontium. Ed. Oxford Medical Publications. 150 pp.

11.- Smith A. J., M. Addy, G. Embery. 1995. Gingival crevicular fluid glycosaminoglycan leves in patients with chronic adult periodontitis. J. Clin. Periodont. 22(5): 355-361.

12.- Stone S. 1978. Periodoncia. Ed. Interamericana. Pags. 1-2.

13.- Williams M. D., J. F. Hughes, W. E. Odell, M. P. Farthing. 1992. Pathology of Periodontal Disease. Ed. Oxford Medical Publications. pags.73-76.