



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

NEUTRÓFILOS Y SU IMPLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL.

Tesis para obtener el título de
CIRUJANA DENTISTA

PRESENTA

Rosa María Carranza Torres

TUTORA

Dra. Claudia Patricia Pedraza Zamora

ASESOR

Dr. Higinio Arzate

Vo.Bo.
25/Feb/2022

Ciudad de México

2021



Este proyecto fue apoyado por PAPIIT IA205520



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.

AGRADECIMIENTOS

Al concluir una etapa importante en mi vida quiero extender un profundo agradecimiento a la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO por darme la oportunidad de llevar a cabo mis estudios, brindándome un camino de conocimientos y enseñanzas, junto con todos los docentes que fueron parte de mi formación profesional.

Un agradecimiento sincero a mi tutora, Dra. Claudia Patricia Pedraza Zamora por su paciencia y conocimientos que me ha brindado durante estos meses, agradecerle el tiempo y dedicación en estos tiempos de adversidades y oportunidades. Muchas gracias por su guía, apoyo e ideas.

Mi gratitud al Laboratorio de Biología Periodontal y Tejidos Mineralizados (LBPTM), Dr. Higinio Arzate y Dra. Lía Hoz Rodríguez por abrirme las puertas y darme la oportunidad de hacer mi servicio social donde conocí el mundo de la investigación y empezar este gran trabajo de tesis, que me ha llenado de conocimiento y mucho aprendizaje.

Al Programa de Apoyos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IA205520) por el apoyo para la realización de este trabajo.

DEDICATORIA

Dedicada a mis padres, quienes hicieron posible este sueño. Ellos, que junto a mí caminaron en cada momento de esta travesía e inspirarme a seguir adelante, gracias por la vida y la motivación.

Una dedicatoria a mis hermanos que son y serán mi apoyo y fortaleza en todo momento. Muchas gracias a todos ustedes por demostrarme el significado de familia, valor y amor.

Dedicada a todos mis familiares, compañeros y amigos que están presentes, en especial a mi abuela y mi tías que siempre han sido positivas en mi trayectoria profesional con su apoyo y cariño.

Y una gran dedicatoria a mí, por el gran trabajo que estoy haciendo para crear una persona profesional en todos los ámbitos y creer en mí. Soy mi mayor logro pero a la vez mi mayor competencia y ante las adversidades he salido adelante a base de fracasos, experiencias, sueños y esfuerzos.

Seguiré superándome cada día más, hasta cumplir todas mis metas y vivir el sueño de ser una gran odontóloga.

“ El verdadero *virus* es el pensamiento homogéneo.
La verdadera *inmunidad* es el pensamiento crítico.”
- Mane Tatulyan

INDÍCE

I.	ÍNDICE DE ABREVIATURAS	1
II.	RESUMEN	4
III.	ABSTRACT	5
IV.	INTRODUCCIÓN	6
V.	ANTECEDENTES	7
1.	CAPÍTULO I: PERIODONTO	7
1.1.	Características del periodonto sano	7
1.2.	Componentes del periodonto	7
1.2.1	Encía.....	7
1.2.1.1	Epitelio.....	9
1.2.1.2	Membrana Basal.....	10
1.2.1.2	Tejido Conjuntivo o Lámina propia.....	10
1.2.2	Ligamento Periodontal.....	11
1.2.3	Cemento.....	12
1.2.4	Hueso alveolar.....	12
1.3	Enfermedad periodontal (EP)	13
1.3.1	Gingivitis.....	13
1.3.2	Periodontitis.....	14
1.3.3	Histopatología.....	14
1.3.4	Clasificación Periodontal.....	16
1.3.5	Tratamiento.....	18
2.	CAPITULO II: RESPUESTA INMUNE EN LOS TEJIDOS PERIODONTALES	19
2.1	Respuesta inmune en los tejidos periodontales	19
2.2	Saliva	20
2.3	Tejidos Epiteliales	21
2.4	Fluido gingival crevicular (GCF)	23
2.5	Células del sistema inmune en tejidos periodontales	23
2.5.1	Células inmunes de origen linfoide.....	24
2.5.1.1	Linfocitos T.....	24
2.5.1.2	Linfocitos B.....	25

2.5.1.3 Células plasmáticas.....	26
2.5.2 Células inmunes de origen mieloide.....	26
2.5.2.1 Mastocitos.....	26
2.5.2.2 Macrófagos.....	27
2.5.2.3 Células dendríticas.....	27
2.5.2.4 Neutrófilos.....	28
2.6 Reconocimiento de patógenos y activación de respuestas innatas celulares	30
3. CAPÍTULO III: NEUTRÓFILOS	31
3.1 Neutrófilo.....	31
3.2 Origen (Ontogenia)	31
3.3 Funciones	31
3.3.1 Fagocitosis	32
3.3.2 Las especies reactivas de oxígeno (ROS).....	33
3.3.3 NETosis	34
3.3.4 Degranulación.....	35
3.4 Gránulos de los neutrófilos.....	36
a. Gránulos azurófilos (primarios)	37
b. Los gránulos específicos (secundarios).....	37
c. Gránulos de gelatinasa (gránulos terciarios):	38
d. Gránulos ricos en Ficolin-1:	39
e. Vesículas secretoras (VS):.....	39
3.4.1 Mecanismos de degranulación en neutrófilos.....	40
4. CAPÍTULO IV: MICROBITA ORAL Y NEUTRÓFILOS EN SALUD Y ENFERMEDAD PERIODONTAL.....	42
4.1 Microbiota oral y neutrófilos en salud y enfermedad periodontal	42
4.2 Microbiota oral en salud.....	43
4.3 Microbiota oral en enfermedad	45
5. CAPÍTULO V. HETEROGENEIDAD DE LOS NEUTRÓFILOS EN CAVIDAD ORAL	48
5.1 Heterogeneidad de los neutrófilos	48
5.2 Primeros informes sobre subpoblaciones de neutrófilos	49
5.2.1 Subpoblaciones con diferente actividad en la inflamación.....	49
5.2.2 Subpoblaciones de neutrófilos en salud y enfermedad periodontal.	52
5.2.3 Subpoblaciones de neutrófilos con diferentes tiempos de supervivencia	55

5.2.4	Subpoblaciones de neutrófilos con funciones antigénicas y regulatorias.....	56
5.2.4.1	Neutrófilos como células presentadoras de antígenos (APCs).....	57
5.2.4.2	Neutrófilos inmunorreguladores	59
5.2.5	Subpoblaciones de neutrófilos de baja densidad	60
VI.	PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	62
VII.	PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	62
VIII.	HIPÓTESIS	63
VII.	OBJETIVOS	63
X.	METODOLOGÍA	64
IX.	RESULTADOS (TABLAS)	66
X.	CONCLUSIONES	77
XI.	BIBLIOGRAFIA	87

I. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

APC: Células presentadoras de antígeno profesionales

ARRB1 : Arrestina beta 1

BPI: Proteína bactericida / incrementadora de la permeabilidad

CCL3: Ligando 3 de quimiocina con motivo C-C

CD: Cluster / marcador de diferenciación

CD10: Antígeno Común de Leucemia Linfoblástica Aguda

CTLs: Células T Citotóxicas

CXCR2: Receptor 2 de quimiocinas con motivo C-X-C

EP: Enfermedad periodontal

FMLF-R: Receptor de péptido N-formil-metionil-leucil-fenilalanina

FNT- α : Factor de necrosis tumoral alfa

fPR1: Receptor formilpéptido 1

GCF: Fluido gingival crevicular

GM-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos

G-MDSC: Células supresoras granulocíticas derivadas de mieloides

hBDs: β -defensinas humanas

HLA-DR : Antígeno leucocitario humano DR

HNA: Antígenos de neutrófilos humanos

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular 1

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

IL-1: Interleucina 1

IL-1 α : Interleucina 1 alfa

IL-1 β : Interleucina 1 beta

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IL-10: Interleucina 10

IL-12: Interleucina 12

LAMPs: Proteínas de membrana asociadas a lisosomas

LDN: Neutrófilos de baja densidad

LFA-1: Antígeno asociado a la función linfocitaria

LPS: Lipopolisacárido

MAMPs: Patrones moleculares asociados a microorganismos

MCP-1: Proteína quimioatrayente de monocitos-1

MEC: Matriz extracelular

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

MHC-I: Complejo mayor de histocompatibilidad clase I

MHC-II: Complejo mayor de histocompatibilidad clase II

MIP2- α : Proteína inflamatoria de macrófagos 2-alfa

MMP: Metaloproteinasas de la matriz extracelular

MPO: Proteína mieloperoxidasa

mPR3: Membrana de proteinasa 3

NADPH: Enzima generadora de superóxido, la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NETs: Trampas extracelulares de neutrófilos

NK: Células asesinas naturales o “natural killer”.

OLFM4: Olfactomedina 4

PBMC: Célula mononuclear de sangre periférica

PGE2: Prostaglandina E2

PLUNC: Proteína de la superfamilia del paladar, el pulmón y el epitelio nasal

PMA: Ácido forbol mirístico

PRRs: Receptores que reconocen patrones

PR3: Proteinasa 3

QS: Quórum Sensing

Rho GTPasas: Rho guanosina trifosfatasa

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SCAMP: Proteína de membrana secretora asociada a transportador

SNAP: Proteína de unión NSF soluble

TGF- β : Factor de crecimiento transformante beta

Th: Linfocitos T cooperadores

TLRs: Receptores tipo toll

Tregs: Linfocitos T reguladores

VAMP: Proteína de membrana asociada a vesículas

VEGF: Factor de crecimiento del endotelio vascular

VS: Vesículas secretoras

VVN2: Vanina-2

II. RESUMEN

El periodonto es un conjunto de tejidos que rodean y dan soporte a los dientes para mantenerlos dentro del alveolo permitiéndole que puedan llevar a cabo sus funciones. Estos tejidos periodontales se encuentran constantemente expuestos por microorganismos, como bacterias, parásitos, hongos y virus. En los tejidos orales saludables, existe un equilibrio entre los microorganismos simbióticos y las células del sistema inmunológico innato, principalmente neutrófilos. La función normal de los neutrófilos es fundamental para mantener el equilibrio de la biopelícula del hospedero y la homeostasis periodontal del tejido, ya que los neutrófilos también desempeñan roles importantes como los mecanismos de defensa y el inicio de la resolución después de la inflamación. Sin embargo, cuando los neutrófilos son insuficientes, excesivos o presentan alteraciones en su activación, las bacterias periodontopatogénas prosperan y junto con sus factores de virulencia, se desarrolla una enfermedad inflamatoria crónica que destruye gradualmente los tejidos periodontales. El daño de los tejidos de soporte conduce a la pérdida de los dientes y en casos graves, también puede afectar la salud sistémica al aumentar el riesgo de que una persona desarrolle aterosclerosis, artritis reumatoide, diabetes e incluso cáncer. En esta revisión se hablará sobre las funciones antimicrobianas de los neutrófilos que ayudan a mantener a las bacterias y los tejidos en homeostasis y cómo algunas bacterias disbióticas estimulan a los neutrófilos para promover un estado inflamatorio. Además, se mencionarán las variantes fenotípicas y funcionales reportadas de los neutrófilos en los últimos años, tanto en condiciones de salud como en enfermedad, con lo que se pretende brindar una visión general de la heterogeneidad de los neutrófilos y los posibles mecanismos de diversificación y funcionalidad de éstas importantes células en la mucosa oral.

III. ABSTRACT

The periodontium is a set of tissues surrounding and supporting teeth to keep them within the alveolus, allowing them to carry out their functions. These periodontal tissues are constantly exposed to microorganisms, such as bacteria, parasites, fungi, and viruses. In healthy oral tissues, there is a balance between symbiotic microorganisms and cells of the innate immune system, mainly neutrophils. The normal function of neutrophils is critical to maintain host biofilm balance and periodontal tissue homeostasis, as neutrophils also play important roles as defense mechanisms and initiation of resolution after inflammation. However, when neutrophils are insufficient, excessive or have alterations in their activation, periodontopathogenic bacteria thrive and together with their virulence factors, a chronic inflammatory disease develops and gradually destroys periodontal tissues. Damage to supporting tissues leads to tooth loss and in severe cases, it can also affect systemic health by increasing the risk of developing atherosclerosis, rheumatoid arthritis, diabetes, and even cancer. This review will discuss the antimicrobial functions of neutrophils that help to maintain bacteria and tissues in homeostasis and how some dysbiotic bacteria are able to stimulate neutrophils to promote an inflammatory state. In addition, the phenotypic and functional variants reported in neutrophils in recent years will be mentioned, both in health conditions and in disease, with which it is intended to provide an overview of the heterogeneity of neutrophils and the possible mechanisms of diversification and functionality. of these important cells in the oral mucosa.

NEUTRÓFILOS Y SU IMPLICACIÓN EN EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

IV. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales son un grupo de enfermedades de tipo inflamatorio que dañan a los tejidos periodontales. La gingivitis representa la etapa inicial del desarrollo de una periodontitis; esta enfermedad muestra inflamación en los tejidos gingivales sin pérdida de inserción periodontal y ósea (1) .

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica que destruye los tejidos de soporte del diente, involucra encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar (1) . En México la enfermedad periodontal se ha reportado hasta en un 70 por ciento de la población (según la Academia Americana de Periodoncia) y se presenta principalmente en adultos mayores (de 65 años en adelante). (2)

En la periodontitis, la pérdida ósea es una complicación grave, causada por un desbalance entre la respuesta inmune, condiciones sistémicas y microbiota del hospedero. En este caso, la inmunidad innata provee una defensa inmediata que rige la primera línea de defensa, esta incluye a los neutrófilos que son los leucocitos más abundantes e importantes durante la inflamación e infecciones. (3)

Los neutrófilos, células de defensa altamente inflamatorias, son las primeras en ser reclutadas al sitio de infección y nos ayudan a mantener los tejidos orales saludables al ser capaces de combatir y destruir microorganismos.(4)

Los neutrófilos crean una barrera para que las bacterias periodontales no lleguen al interior de los tejidos, pero cuando las bacterias son numerosas y presentan diversos factores de virulencia, los neutrófilos pueden generar mayor inflamación, por lo que han sido asociados con otras afecciones, como la aterosclerosis, la diabetes y el cáncer. Así mismo, cuando los neutrófilos persisten en cavidad oral, también pueden promover un estado inflamatorio crónico que conduce a la periodontitis.

V. ANTECEDENTES

1. CAPÍTULO I: PERIODONTO

1.1. Características del periodonto sano

El periodonto normal proporciona el soporte necesario para mantener los dientes en función. Consta de cuatro componentes principales: encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. Cada uno de estos componentes periodontales es distinto en su ubicación, tejido, arquitectura, composición bioquímica y composición química, pero todos estos componentes funcionan juntos como una sola unidad (1).

1.2. Componentes del periodonto

1.2.1 Encía

La cavidad oral está formada por diferentes tipos de mucosa, de acuerdo con el sitio anatómico. La mucosa oral, también conocida como membrana mucosa, consta de: 1) la mucosa masticatoria que incluye la encía y la cubierta del paladar duro, 2) la mucosa especializada que recubre la cara dorsal de la lengua y 3) la parte restante denominada mucosa de revestimiento (1,5).

La encía es la parte de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar del hueso y rodea la porción cervical de los dientes, no presenta estiramiento y carece de submucosa excepto en la parte lateral del paladar duro donde hay glándulas salivales y tejido adiposo, este se encuentra en la encía y el paladar duro (5).

La encía está compuesta por una capa epitelial y un tejido conjuntivo subyacente denominado lámina propia (5).

Anatomía macroscópica

La mucosa masticatoria de la encía se divide anatómicamente en zonas marginales, de inserción e interdentes (3).

- La encía marginal es el borde terminal de la encía que rodea los dientes en forma de collar, tiene 1-2 mm de ancho alrededor del cuello del diente y es la pared externa del surco gingival (3).
- El surco gingival es la hendidura o espacio poco profundo alrededor del diente delimitado por la superficie del diente en un lado y el epitelio que recubre el margen libre de la encía en el otro lado, el surco gingival clínicamente normal es de 2 a 3 mm. (6).
- La encía insertada o «mucosa funcional» se extiende desde el surco gingival hasta la unión mucogingival, donde se encuentra con la mucosa alveolar (1,3). Es firme, resistente y fuertemente unido al periostio subyacente de hueso alveolar. La superficie de la encía insertada es punteada, como piel de naranja. Este punteado varía considerablemente. Es más, prominente en las superficies faciales y, a menudo, desaparece con la edad. La encía insertada puede medir entre 0 y 9 mm de anchura (6).
- La encía interdental ocupa la tronera gingival, que es el espacio interproximal debajo del área de contacto del diente, puede tener forma piramidal o una forma de “col”. La forma de la encía en un espacio interdental dado depende de la presencia o ausencia de un punto de contacto entre los dientes adyacentes, la distancia entre el punto de contacto y la cresta ósea, la presencia o ausencia de algún grado de recesión (5,6).

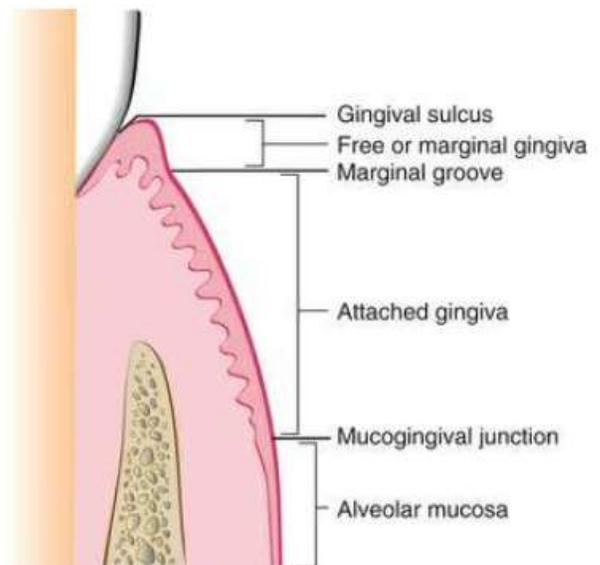


Fig.1 Diagrama que muestra los puntos de referencia anatómicos gingivales (1).

Características Histológicas

1.2.1.1 Epitelio

El epitelio gingival consiste en un revestimiento continuo de epitelio escamoso estratificado, algunas áreas del epitelio externo gingival están ortoqueratinizadas; otras áreas gingivales están cubiertas por epitelio paraqueratinizado

(1,3). Las células principales del epitelio gingival, así como de otros epitelios escamosos estratificados, es el queratinocito. Otras células que se encuentran en el epitelio son las células claras o los no queratinocitos, que incluyen las células de Langerhans, las células MERKEL y los melanocitos (1).

Histológicamente el epitelio se divide en epitelio oral externo (gingival), epitelio del surco y epitelio de unión. Sus características son las siguientes:

Epitelio oral externo (gingival):

- Se extiende desde la parte más coronal de la encía marginal hasta la línea mucogingival.
- Epitelio escamoso, estratificado y queratinizado
- Está ortoqueratinizado o paraqueratinizado
- Cubre tanto el tejido gingival libre como el adherido (3).

Epitelio del surco:

- Cubre la superficie lateral del surco gingival
- Epitelio escamoso y estratificado
- No queratinizado
- Forma el revestimiento de tejido blando del surco gingival o de la bolsa periodontal (3).

Epitelio de unión:

- El epitelio de unión se deriva del epitelio reducido del esmalte y es conocido como un epitelio de unión primario.
- Epitelio escamoso, estratificado, no diferenciado y con un alto índice de recambio celular.

- No queratinizado
- Está compuesto de una sola capa o estrato donde están presentes células basales y suprabasales (3).

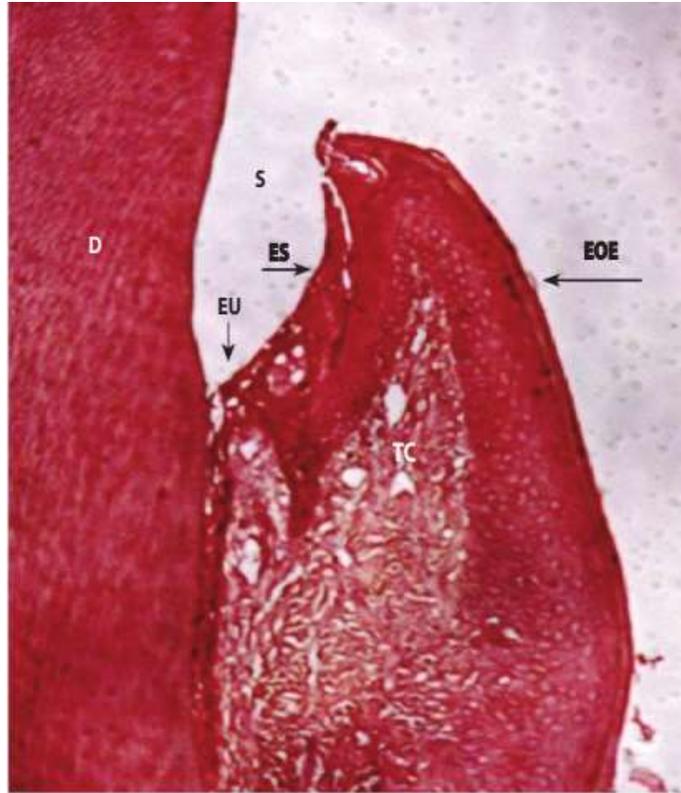


Fig.2 Corte histológico buco-lingual que muestra la encía gingival libre y sus estructuras adyacentes. D: Diente, S: surco gingival, EOE: epitelio oral externo, ES: epitelio del surco, EU: epitelio de unión (3).

1.2.1.2 Membrana Basal

Las células basales del epitelio se encuentran adyacentes al tejido conectivo y están separadas de éste por una membrana o lámina basal producida por las mismas células basales (1,3,6).

1.2.1.2 Tejido Conjuntivo o Lámina propia

El tejido conjuntivo gingival consta de una malla de haces de fibras de colágena que circulan por una sustancia fundamental que contiene vasos sanguíneos y nervios, además de fibroblastos, macrófagos, mastocitos, linfocitos, células plasmáticas y otras células del sistema de defensa, que son más numerosas cerca del epitelio de unión, donde la actividad inmunitaria es continua (1,6).

Incluso en encías clínicamente sanas, el tejido conectivo gingival contiene al menos algunas células inflamatorias, en particular neutrófilos (4,7).

Los neutrófilos migran continuamente a través de los tejidos conectivos y pasan a través del epitelio de unión para entrar en el surco o bolsa.

En tejidos clínicamente sanos, este equilibrio entre grado de inflamación bajo y la presencia continua de la biopelícula puede persistir durante muchos años o incluso durante toda la vida del individuo (7).

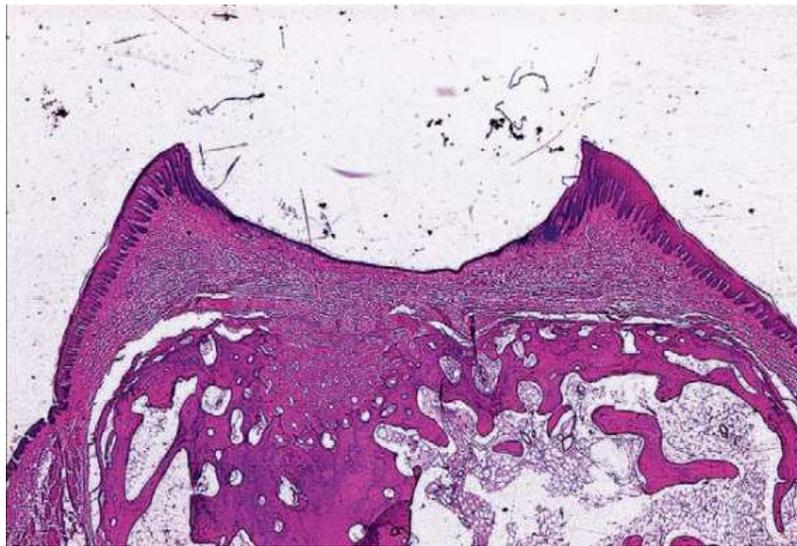


Fig.3 Corte histológico del área «nicho» o «col» donde se observa hueso alveolar, tejido conectivo gingival y epitelio oral que es delgado en la parte más profunda del «nicho» (6).

1.2.2 Ligamento Periodontal

El ligamento periodontal se compone de un complejo tejido conectivo vascular y altamente celular que rodea la raíz del diente y la conecta a la pared interna del hueso alveolar. Es continuo con el tejido conectivo de la gingival, y se comunica con los espacios de la médula a través de canales vasculares en el hueso, aunque el ancho promedio debe ser de aproximadamente 0,2 mm, existe una variación considerable (1,5).

Los elementos más importantes del ligamento periodontal son las fibras principales y otros elementos como células de defensa y colágena. Las funciones del ligamento periodontal se clasifican como físicas, formativas y de remodelación, nutricional y sensorial (1).

1.2.3 Cemento

El cemento es el tejido mesenquimal calcificado y a vascular que forma la cubierta exterior de la raíz anatómica. Los dos tipos principales de cemento son cemento acelular (primario) y celular (secundario). Consiste en una matriz de interfibrilar calcificada y fibrillas de colágena (1,3,6). Las dos fuentes principales de fibras de colágeno en el cemento son fibras de Sharpey (extrínsecas), que son la porción integrada de las fibras principales del ligamento periodontal y que están formadas por los fibroblastos, y las fibras que pertenecen a la matriz del cemento (intrínseco), que son producidos por los cementoblastos (6).

1.2.4 Hueso alveolar

El proceso alveolar es la parte del maxilar y la mandíbula que forman y apoya los dientes (alvéolos). Debido a que los procesos alveolares se desarrollan y se someten a remodelación con la formación y la erupción de los dientes, son estructuras óseas dependientes de los dientes. Por lo tanto, el tamaño, la forma, la ubicación y la función de los dientes determinan su morfología. Curiosamente, aunque el crecimiento y el desarrollo de los huesos de la mandíbula determinan la posición de los dientes, un cierto grado de reposicionamiento de los dientes se puede lograr a través de fuerzas oclusales y en respuesta a los procedimientos ortodónticos que se basan en la adaptabilidad del hueso alveolar y los tejidos periodontales asociados (1).

El proceso alveolar consiste en una placa externa de hueso cortical formada por hueso y laminillas óseas compactadas; la pared del interior del hueso delgado y compacto llamado "hueso alveolar propio" que contiene una serie de aberturas (placa cribiforme) por donde los paquetes neurovasculares vinculan el ligamento periodontal con el componente central del hueso alveolar. Las trabéculas entre estas dos capas compactas actúan como el hueso alveolar de apoyo (1).

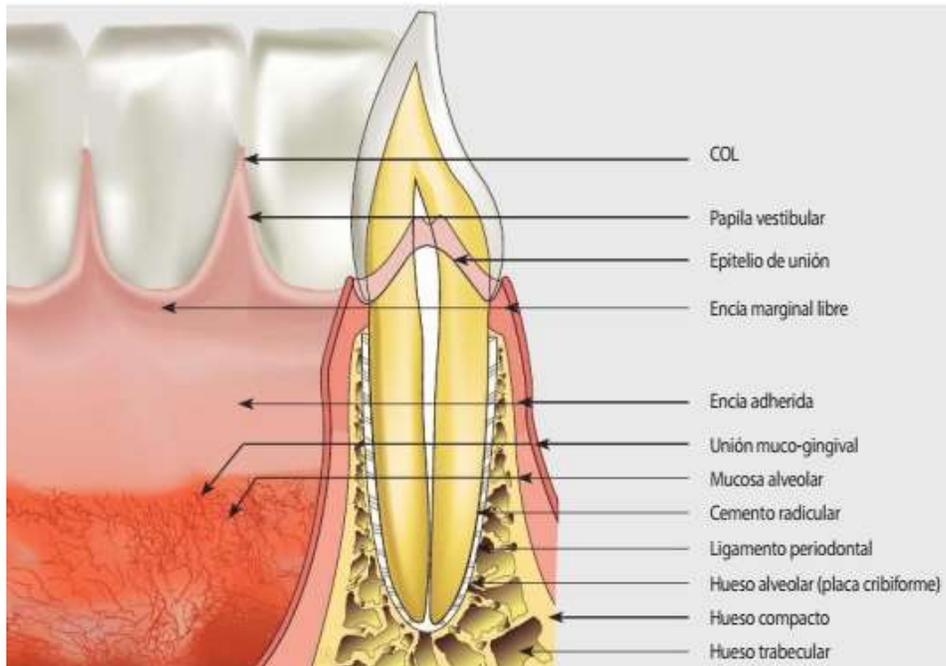


Fig.4 Esquema que muestra la ubicación de los componentes de la encía de acuerdo con su ubicación ⁽³⁾.

1.3 Enfermedad periodontal (EP)

La enfermedad periodontal es el resultado de una interacción compleja entre biopelícula subgingival y los eventos inmunoinflamatorios del huésped que al desarrollarse en los tejidos gingivales y periodontales genera una respuesta inmunoinflamatoria y crea daño tisular (1,5). Abarca una amplia variedad de afecciones inflamatorias crónicas de la encía, el hueso y el ligamento periodontal (Fig.5). La enfermedad periodontal comienza con gingivitis, la inflamación localizada de la encía que es iniciada por bacterias en el biopelícula (8).

1.3.1 Gingivitis

La gingivitis que se asocia con biopelícula retenida es la forma más común de enfermedad gingival. Clínicamente en la gingivitis, la presencia de sangrado gingival probablemente sea el síntoma más referido por los pacientes; hay presencia de halitosis mientras que la molestia y dolor son manifestaciones poco habituales en la gingivitis. Se caracteriza histológicamente por un denso infiltrado de linfocitos y otras

células mononucleares, alteraciones de fibroblastos, aumento de la permeabilidad vascular y pérdida continua de colágeno en respuesta a la fagocitosis (1,3).

1.3.2 Periodontitis

La periodontitis se define como "una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos o grupos de microorganismos específicos, que da como resultado la destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con una mayor formación de profundidad de sondaje, recesión o ambos" (1).

La característica clínica que distingue a la periodontitis de la gingivitis es la presencia de pérdida de inserción clínicamente detectable como resultado de la destrucción inflamatoria del ligamento periodontal y el hueso alveolar. Esta pérdida suele ir acompañada de la formación de bolsas periodontales y cambios en la densidad y altura del hueso alveolar subyacente (3,8).

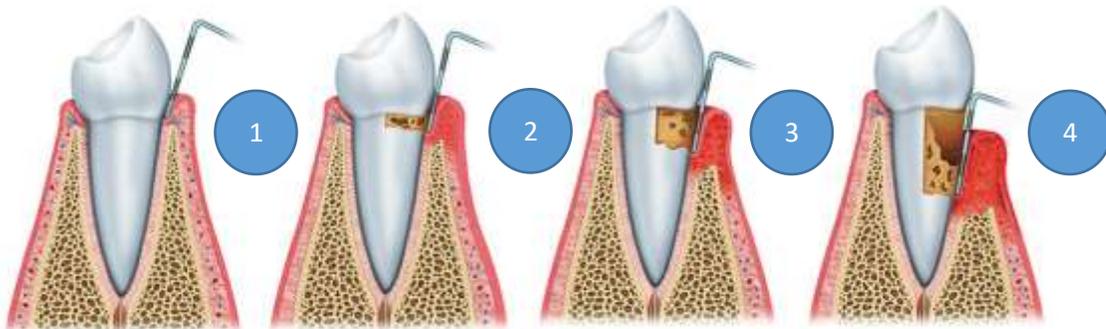


Fig. 5 Esquema del progreso de la enfermedad periodontal (1) Encía sana (2) Gingivitis (3) Periodontitis Moderada (4) Periodontitis Severa (120).

1.3.3 Histopatología

La histopatología de la enfermedad periodontal se puede clasificar en lesión inicial, temprana, establecida y avanzada según los estudios de gingivitis experimental en humanos y periodontitis en animales (9). Vale la pena señalar que una lesión establecida puede persistir durante muchos años y el cambio a una lesión avanzada marca la transición de una reacción de defensa crónica y exitosa a un mecanismo inmunopatológico destructivo (periodontitis). Los factores responsables de la

progresión se desconocen sin embargo, se cree que en la respuesta inmune del huésped puede estar involucrado algún microorganismo específico en la biopelícula, o que existe un cambio en la virulencia lo cual puede ser responsable del desarrollo hacia una lesión avanzada (9).

En ambos existe una infiltración en los tejidos conectivos por numerosas células de defensa, en particular neutrófilos, macrófagos, células plasmáticas y se observa linfocitos. Como resultado de la acumulación de estas células de defensa y la liberación extracelular de enzimas que produce una alteración de la anatomía normal de los tejidos conectivos y provoca el agotamiento del colágeno y la consiguiente proliferación del epitelio de unión (1,5) .

Sin embargo, en una inspección más cercana, la situación en la bolsa muestra rasgos característicos claramente diferentes de las condiciones saludables en un ambiente de surco gingival (Fig.6). Las principales diferencias se pueden resumir de la siguiente manera:

- Desprendimiento definitivo del epitelio de unión de la superficie del diente y conversión en epitelio de bolsillo, lo que lleva a la formación de una hendidura intraepitelial.
- Aumento de la migración de neutrófilos a través del epitelio de bolsillo.
- Proliferación de crestas epiteliales en el tejido conectivo blando inflamado con regiones muy delgadas entre estas crestas.
- Microulceraciones focales de las crestas epiteliales y en la superficie libre del epitelio de la bolsa.
- Alta infiltración de células plasmáticas, células T y B.
- Aumento de la permeabilidad del epitelio de la bolsa.
- Cambio en la dirección del exudado de apico-coronal a horizontal (es decir, hacia la superficie de la raíz del diente).
- Reducción significativa de la altura del epitelio de unión residual (10).

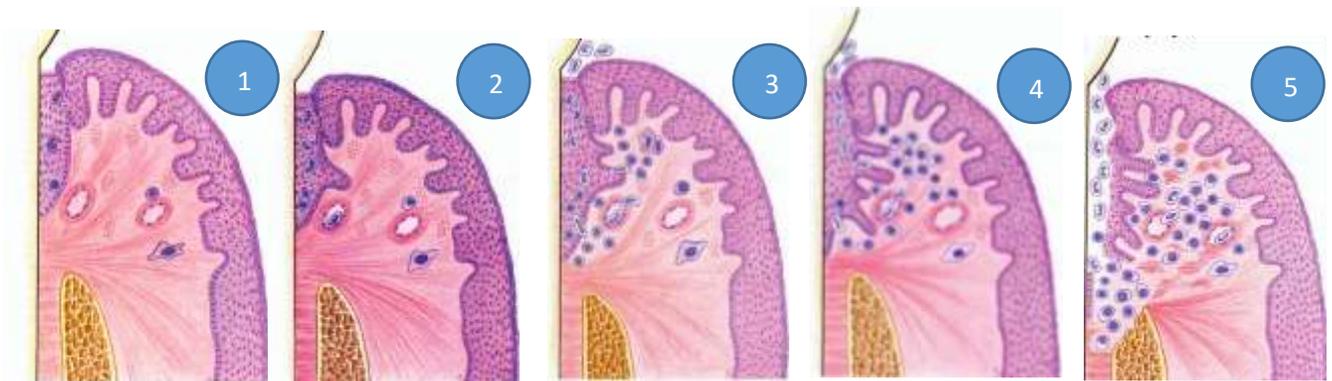


Fig.6 Esquema de Filtración de linfocitos (1) Encía marginal normal (2) Lesión inicial (3) Lesión precoz (4) Lesión establecida (5) Lesión avanzada, Tomada de: <https://docplayer.es/12578642-Periodonto-o-periodoncio-normal.html>

1.3.4 Clasificación Periodontal

Un sistema de clasificación actualizado se desarrolló por la Academia Americana de Periodontología (AAP) y la Federación Europea de Periodontología (EFP). El objetivo de este esfuerzo fue abordar algunas de las deficiencias que existen con el sistema de clasificación antiguo, incluida la inexactitud diagnóstica y la superposición significativa de las entidades de la enfermedad. Se crearon varios grupos de trabajo para centrarse en entidades específicas de enfermedades utilizando la evidencia científica actualmente disponible, lo que resultó en la actualización más sustancial para el sistema de clasificación desde 1999 (11).

Se acordaron definiciones específicas con respecto a los casos de salud gingival o inflamación después finalización del tratamiento de la periodontitis basado en el sangrado al sondaje y la profundidad del surco/ bolsa periodontal. Esta clasificación también reorganizó el amplio espectro de enfermedades y afecciones gingivales no inducidas por placa basadas en la etiología primaria (11)

CLASIFICACIÓN DE LAS CONDICIONES Y ENFERMEDADES PERIODONTALES Y
PERIIMPLANTARIAS 2017

- Condiciones de salud periodontal y enfermedad gingival
 1. Salud periodontal y gingival
 - a. Salud gingival clínica en un periodonto intacto
 - b. Salud gingival clínica en un periodonto reducido
 - i. Paciente estable con periodontitis
 - ii. Paciente sin periodontitis
 2. Enfermedades gingivales inducidas por placa
 - a. Gingivitis asociada solo con placa dental
 - b. Gingivitis por factores de riesgo sistémicos
 - c. Gingivitis por consumo de drogas
 3. Lesiones gingivales no inducidas por placa
 - a. Desordenes genéticos
 - b. Infecciones específicas
 - c. Condiciones del sistema inmune
 - d. Procesos reactivos
 - e. Neoplasma
 - f. Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas
 - g. Lesiones Traumáticas
 - h. Pigmentación gingival

- Formas de periodontitis
 1. Enfermedad periodontal necrotizante
 - a. Gingivitis necrotizante
 - b. Periodontitis necrotizante
 - c. Estomatitis necrotizante
 2. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas
 3. Periodontitis
 - a. Etapa: Basada en la gestión de la gravedad y la complejidad
 - Etapa I: Periodontitis inicial
 - Etapa II: Periodontitis moderada
 - Etapa III: Periodontitis severa con potencial de pérdida adicional de dientes
 - Etapa IV: Periodontitis severa con potencial de pérdida de dientes
 - b. Extensión y distribución; Localizada; generalizada; Distribución de incisivos-molares
 - c. Grados: Evidencia y riesgo de progresión rápida; anticipar el tratamiento correspondiente
 - i. Grado A: Progresión lenta
 - ii. Grado B: Progresión moderada
 - iii. Grado C: Progresión rápida

- Deformidades y afecciones del desarrollo o adquiridas
- - Factores localizados relacionados con los dientes que predisponen a enfermedades gingivales o periodontitis inducidas por placa.
 - Deformidades y afecciones mucogingivales alrededor de los dientes
 - Deformidades y afecciones mucogingivales en crestas edéntulas
 - Trauma oclusal (11).

1.3.5 Tratamiento

- Terapia Fase I o terapia relacionada con la causa es el primero en la secuencia cronológica de procedimientos que constituyen tratamiento periodontal. El objetivo de la terapia de fase I es alterar o eliminar la etiología microbiana y los factores que contribuyen a enfermedades periodontales en la mayor medida posible, deteniendo así la progresión de la enfermedad y devolver la dentición a un estado de salud (1,3,5).



Fig.7 La respuesta inflamatoria en la encía marginal es el resultado de la acumulación de biopelículas en la superficie del diente a lo largo del margen gingival (1).

- Terapia Fase II o correctiva es la segunda parte del plan de tratamiento periodontal y periimplantario y tiene como objetivo la reconstrucción de las estructuras perdidas, mediante procedimientos quirúrgicos.



Fig.8 Técnica de la gingivectomía. (A) Agrandamiento gingival con pseudobolsas antes de la gingivectomía; (B) tejido que se elimina después de practicar las incisiones de gingivectomía

- Terapia fase III o terapia de mantenimiento. Esta fase incluye todo el mantenimiento que se realizó durante la terapia periodontal que incluye: consulta de nuevas inquietudes o problemas, consulta de cambios en el estado médico y de salud bucal del paciente, evaluación y educación sobre higiene bucal, examen periodontal completo, cuidado en la eliminación de biopelícula y cálculo supra gingival y subgingival, raspado selectivo y alisado radicular.

2. CAPITULO II: RESPUESTA INMUNE EN LOS TEJIDOS PERIODONTALES

2.1 Respuesta inmune en los tejidos periodontales

La cavidad oral representa un nicho de 700 especies bacterianas (12) y los tejidos del hospedero deben mantener una homeostasis a través de la acción colectiva de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas, las cuales establecen una relación simbiótica entre el hospedero y la microbiota. Esta respuesta proporciona una secuencia ordenada de eventos coordinados para proteger de infecciones y minimizar el daño a los tejidos. Los mecanismos de estas respuestas incluyen a los componentes salivales, los tejidos epiteliales, fluido gingival crevicular (GCF) y componentes celulares, principalmente leucocitos que proporcionan respuestas activas para mantener la salud gingival (13,14) .

La respuesta inmune funciona como una red de elementos moleculares y celulares que interactúan entre ellos, donde la inmunidad innata y la adaptativa (antígeno específico) trabajan juntas hacia un propósito común: mantener la homeostasis en cavidad oral (Tabla 1) (1,15).

La pérdida de equilibrio de la homeostasis induce a la activación de la inflamación aguda, lo que afecta la microcirculación y da como resultado una mayor fuga de líquido de los lechos capilares gingivales y la entrada de neutrófilos, creando un exudado inflamatorio rico en células (13,15).

La producción de este exudado inflamatorio es un sello distintivo de la respuesta inflamatoria aguda que proporciona una defensa primaria inespecífica capaz de activar y reclutar células al sitio afectado. Estas células contienen una amplia gama de productos granulares, que incluyen histamina, leucotrienos, heparina, serotonina y ácido hialurónico, así como enzimas y factores antimicrobianos. Sin embargo, cuando esta respuesta aguda se mantiene activa y las primeras células de defensa no tienen éxito, se activan las células efectoras de las respuestas inmunitarias adaptativas mediadas principalmente por linfocitos (1,12,14).

Inmunidad Innata	Inmunidad Adaptativa
Se refiere a mecanismos de defensa inespecíficos que actúan como barreras a la infección. Los componentes incluyen:	Se refiere a respuestas inmunes específicas de antígeno. Los componentes incluyen:
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Barreras contra infecciones como piel, mucosas, pH ácido en el estómago</i> • <i>Moléculas antimicrobianas como lisozima, péptidos antimicrobianos.</i> • <i>Células del sistema inmunológico como neutrófilos y macrófagos que eliminan a los microorganismos patógenos.</i> • <i>Receptores de reconocimiento de patrones (PRRS) que reconocen moléculas derivadas de patógenos y activan respuestas inmuno inflamatorias.</i> <p><i>Presentación de antígenos para activar respuestas inmunitarias adaptativas.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Reconocimiento de moléculas específicas sobre microorganismos patógenos.</i> • <i>Respuestas inmunitarias celulares centradas en la defensa y eliminación de patógenos intracelulares (por ejemplo, virus) que involucran la producción de citocinas de células T cooperadoras, macrófagos y células asesinas naturales (NK).</i> • <i>Respuestas inmunes humorales centradas en la defensa de patógenos extracelulares (por ejemplo, bacterias), que involucran a las células B que se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos.</i>

Tabla 1 | Componentes de defensa de la inmunidad innata y adaptativa en cavidad oral ⁽¹⁾.

2.2 Saliva

La saliva contiene numerosos componentes moleculares que contribuyen a la defensa del huésped contra la colonización bacteriana y la enfermedad periodontal. Los péptidos catiónicos salivales y otras proteínas de defensa salivales, como lisozima, BPI (proteína bactericida /incrementadora de la permeabilidad), proteínas similares a BPI y PLUNC (proteína de la superfamilia del paladar, el pulmón y el epitelio nasal), amilasa salival, cistatinas, proteínas ricas en prolina, mucinas,

peroxidasa, estaterina (y otras), son las principales responsables de la inmunidad innata (1,16,17).

Constituyentes de la saliva	Función de defensa del huésped
Anticuerpos	Inhíbe la adherencia bacteriana, promueve la aglutinación
Histatinas	Neutraliza lipopolisacáridos, inhibe enzimas destructivas.
Cistatinas	Inhíbe el crecimiento bacteriano
Lactoferrina	Inhíbe el crecimiento bacteriano
Lisozima	Lisa las paredes celulares bacterianas
Mucinas	Inhíbe la adherencia bacteriana, promueve la aglutinación
Peroxidasa	Neutraliza el peróxido de hidrógeno bacteriano

Tabla II | Constituyentes de la saliva y sus funciones de defensa ⁽¹⁾.

2.3 Tejidos Epiteliales

Los tejidos epiteliales juegan un papel clave en la defensa del huésped porque son el sitio principal de las interacciones iniciales entre las bacterias de la biopelícula y el hospedero, por lo tanto, también representan el sitio de la invasión de patógenos microbianos.

El epitelio queratinizado del surco y tejido gingival protege al tejido periodontal subyacente además de actuar como barrera contra las bacterias y sus productos. Por el contrario, el epitelio de unión no está queratinizado, presenta importantes espacios intercelulares y una mayor tasa de recambio celular; estas propiedades hacen que el epitelio de unión sea permeable y permita el ingreso de los microorganismos y sus productos (15).

Los productos metabólicos de las bacterias hacen que las células del epitelio de unión produzcan citocinas y estimulan a los neutrófilos para que produzcan neuropéptidos, que provocan vasodilatación. Los neutrófilos abandonan la circulación y migran hacia el sitio de inflamación en respuesta a las quimiocinas.

Las diferentes categorías de neuropéptidos antimicrobianos se definen de acuerdo a la homología estructural:

- Las alfa(α)-defensinas (p. Ej Péptidos neutrófilos humanos 1 a 4) se expresan mediante neutrófilos y, como tales, se encuentran comúnmente en GCF.
- Las beta-defensinas humana (hBDs, β -defensinas humanas), específicamente las hBDs 1 a 3, se expresan en células epiteliales gingivales, glándulas salivales y lengua, así como en células inmunes como macrófagos, y células dendríticas. Algunas hBDs se expresan siempre y otras solo en respuesta a citocinas y productos bacterianos (por ejemplo, gingipaínas de *P. gingivalis*) (1,14,17).

Los neuropéptidos antimicrobianos también estimulan la degranulación de mastocitos y la producción de citocinas, y es probable que desempeñen un papel en la cicatrización de heridas a través de su efecto sobre la diferenciación de queratinocitos. Las células epiteliales que son estimuladas directamente por componentes bacterianos y citocinas pueden producir metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP), que contribuyen a la pérdida de tejido conectivo (1,15).

Las células epiteliales también secretan una variedad de citocinas en respuesta a bacterias periodontales como *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*. Estas incluyen las citocinas proinflamatorias Interleucina-1 beta (IL-1 β), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-6, IL-8 y la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), que inducen la migración de neutrófilos y monocitos desde la circulación hacia el tejido periodontal (14).

En algunos (pero no en todos) sistemas experimentales, se ha demostrado que *P. gingivalis* inhibe la producción de IL-8, sugiriendo que esto puede resultar en una supresión inmunológica local temporal en el periodonto y facilitar la acumulación e invasión de bacterias periodontales patógenas y el inicio de la periodontitis (1,15).

2.4 Fluido gingival crevicular (GCF)

El GCF se origina en las vénulas postcapilares del plexo gingival. Tiene la capacidad de inducir eritema en la hendidura gingival y el reclutamiento de los diferentes componentes sanguíneos de defensa del huésped en el surco, tales como neutrófilos, anticuerpos, componentes de complemento, entre otros.

El flujo del GCF aumenta en la inflamación y los neutrófilos son un componente especialmente importante del GCF en la salud y EP (1,18,19) .

En los casos de periodontitis con supuración, los neutrófilos no sólo obstruyen la adhesión bacteriana y la invasión de la encía, sino que la combinación con GCF también elimina las bacterias dispersas de la hendidura periodontal (19).

2.5 Células del sistema inmune en tejidos periodontales

El sistema inmunológico innato incluye células de origen hematopoyético y no hematopoyético, tales como células epiteliales y fibroblastos (20). Los fibroblastos, a pesar de no formar parte de las células inmunes como tal, son capaces de sintetizar y fagocitar colágeno y otros componentes de la matriz extracelular, migrar y diferenciarse en respuesta a una lesión, por lo que contribuyen significativamente la homeostasis del ligamento periodontal (21,22).

Las células del sistema inmune derivan de una célula troncal en médula ósea a partir de la cual derivan las demás células de origen linfocítico y mielocítico y que son clave en las respuestas inmunes del hospedero (20,22).

En la infiltración de los tejidos conectivos se observa numerosas células de defensa, en particular neutrófilos, macrófagos, células plasmáticas y linfocitos. Como resultado de la acumulación de estas células de defensa y la liberación extracelular de sus enzimas destructivas, se produce la alteración de la anatomía normal de los tejidos conectivos, el agotamiento de la colágena y la consiguiente migración del epitelio de unión (1,15,22) .

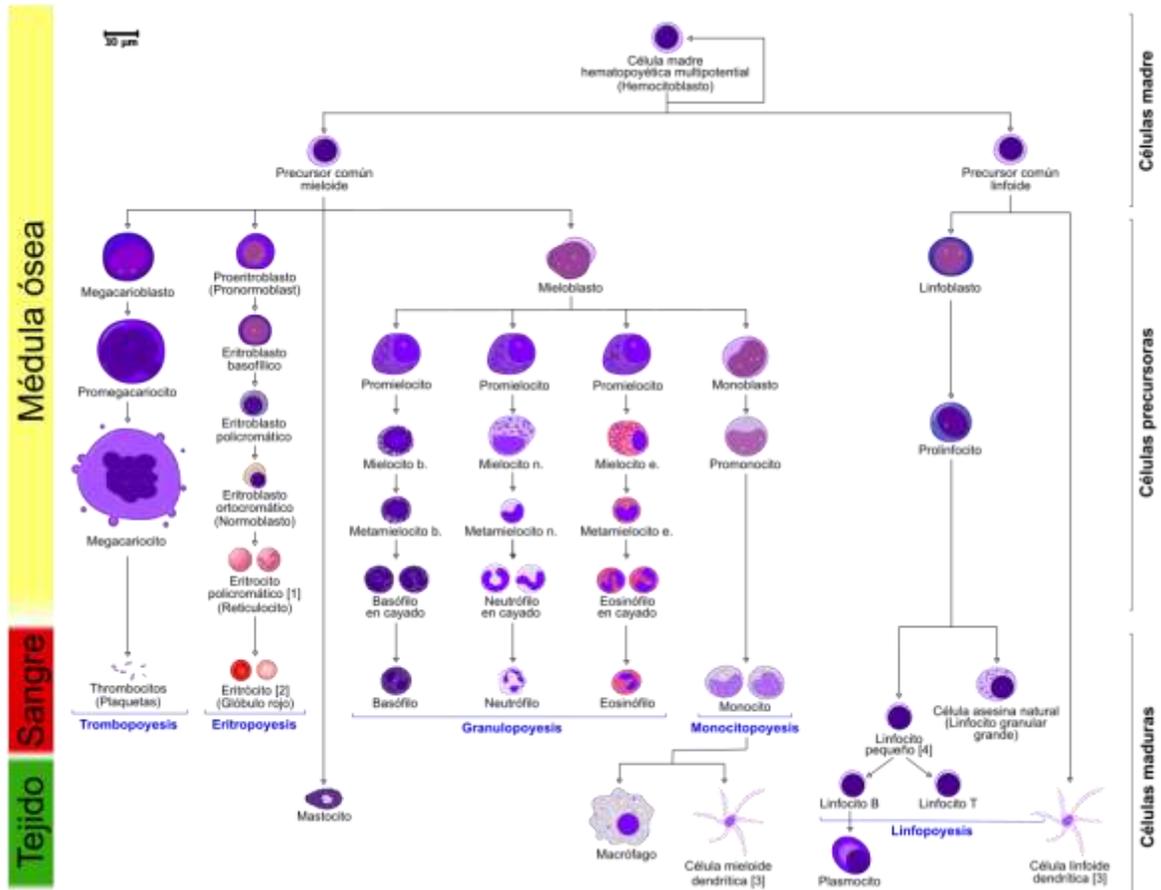


Fig.9 Hematopoyesis. El desarrollo de los principales linajes de las células sanguíneas se muestra en este árbol hematopoyético. Tomada de :

[https://es.wikipedia.org/wiki/Hematopoyesis#/media/Archivo:Hematopoyesis_\(human\)_diagram_es.VSg](https://es.wikipedia.org/wiki/Hematopoyesis#/media/Archivo:Hematopoyesis_(human)_diagram_es.VSg)

. De !Original: A. RadVector: RexxS, Mikael Häggström and Mikael Häggström, M.D. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=64965344>

2.5.1 Células inmunes de origen linfoide

2.5.1.1 Linfocitos T

Los linfocitos o células T desempeñan un papel clave en periodontitis. Se estima que aproximadamente 1 de cada 100,000 células T reconocerán algún antígeno extraño, lo cual es esencial que se lleve a cabo el reconocimiento de un péptido antigénico a través de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de células T vírgenes (23). Una vez que han encontrado su antígeno

análogo, el microambiente local dicta lo que sucede a continuación y el tipo de linfocito T que será activado (15,23).

Las células T CD4 o cooperadores (Th) expresan una amplia gama de diferentes moléculas de la superficie celular, secretan una importante cantidad de citocinas para la respuesta inmune (24) y pueden diferenciarse en distintas subpoblaciones con funciones cooperadoras (Th1, Th2, Th17 y Th22) (23,25) o reguladoras (Tregs). Las células T CD8, una vez activadas se diferencian a células T Citotóxicas (CTLs). Cada uno de estos subconjuntos se caracteriza por sus funciones específicas, patrones de expresión de citocinas y diferentes grados de plasticidad (23).

El número y función de linfocitos T circulantes incluyendo sus subpoblaciones en individuos susceptibles o no a periodontitis puede ser un indicativo de una regulación inmune alterada en la enfermedad periodontal, sin embargo, en un estudio realizado por Loos et al. en 2004 observaron diferencias en el número y proporción de células T CD4 y CD8 circulantes entre pacientes con periodontitis moderada o avanzada y el grupo control (24).

2.5.1.2 Linfocitos B

Las células B parecen tener varias funciones en la periodontitis. La capacidad de las células B para expresar antígenos de clase II (MHC-II) y contribuir a la presentación de antígenos se ha demostrado en periodontitis y otras enfermedades. En las lesiones de periodontitis están presentes diferentes subconjuntos de células B, como las células B-1a y B-2 (26) . Mientras que las células B-2 convencionales representan las células B tradicionales de la respuesta adaptativa que dan como resultado células plasmáticas de larga duración y células de memoria, las células B-1a producen autoanticuerpos de tipo Inmunoglobulina M (IgM) e Inmunoglobulina G (IgG) y se han demostrado niveles elevados de células B-1a tanto en lesiones de periodontitis como en sangre periférica de sujetos con formas graves de periodontitis (23,26).

Por otro lado, aunque las células B desempeñan un papel protector durante la fase crónica de la periodontitis al facilitar la detección bacteriana, también se ha reportado la destrucción de tejido como una de las características distintivas de estas células en la periodontitis. Las células B no solo son abundantes en las lesiones de periodontitis, sino que también, al menos una parte, están involucradas en la patogénesis y resorción ósea alveolar de la enfermedad (26,27).

2.5.1.3 Células plasmáticas

La periodontitis contiene grandes cantidades de leucocitos, entre ellas las células plasmáticas que representan aproximadamente el 50% de las células, mientras que las células B representan un 20% más; y la proporción de células B es mayor que la de las células T. Las células plasmáticas, diferenciadas a partir de los linfocitos B, son el único tipo celular del organismo capaz de producir anticuerpos (23,27). Se sabe que las células plasmáticas producen una variedad de citocinas, como TNF- α , IL-6, IL-10 y TGF- β , pero también MMP. Dado que las células plasmáticas son abundantes en los infiltrados de células inflamatorias, es probable que la destrucción de tejido mediada por MMP contribuya a la degradación de la matriz en la periodontitis al expresar MMP (23,26).

2.5.2 Células inmunes de origen mieloide

2.5.2.1 Mastocitos

Los mastocitos juegan un papel importante en la inflamación periodontal, la defensa del huésped y la reparación de tejidos. Cuando se activan por citocinas producidas localmente o productos bacterianos, por ejemplo, lipopolisacáridos, las células pueden liberar una gran cantidad de mediadores almacenados previamente, pudiendo contribuir con la degradación crónica del tejido periodontal. Uno de los factores biológicos y bioquímicos es la histamina, que rompe la barrera tisular, provoca edema y ayuda a la infiltración celular. Además, se cree que los mastocitos

contienen la mayor parte de la histamina del cuerpo. Otra razón es que la expresión de MMP 1, 2 y 8 es más fuerte en los mastocitos (28). Las MMP son cruciales en la degradación de los componentes principales de las matrices extracelulares (MEC). Además, la triptasa puede escindir el tercer componente del colágeno y activar la colagenasa latente que puede participar en la destrucción de tejidos en la periodontitis (1).

2.5.2.2 Macrófagos

En la enfermedad periodontal, los macrófagos son los principales contribuyentes a la degradación de los tejidos. Los estudios han demostrado que la interleucina 1 (IL-1) se expresa predominantemente por macrófagos en tejido aislado de pacientes periodontales (1). Los patógenos periodontales, como *Porphyromonas gingivalis* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans* activan a monocitos y macrófagos y estimulan la secreción de mediadores proinflamatorios y destructores de tejidos como IL-1, TNF- α , IL-6, y prostaglandina E2 (PGE2). Estos estudios demuestran que una de las respuestas de los macrófagos a la invasión bacteriana del tejido periodontal es la producción de mediadores inflamatorios que contribuyen a la destrucción de los componentes del tejido, incluido el hueso, cuando la respuesta inflamatoria se vuelve crónica (29,30).

2.5.2.3 Células dendríticas

Como células centinelas de la mucosa oral, las células dendríticas capturan microorganismos orales y luego migran al ganglio linfático donde regulan la diferenciación de las células T CD4+. En el curso de la periodontitis, las células dendríticas son de gran importancia, ya que contienen las señales inmunológicas entregadas por el patógeno y el entorno circundante, lo que les permite inducir una inmunidad destructiva (31,32) .

2.5.2.4 Neutrófilos

Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en los seres humanos y la importancia de estas células en cavidad oral es mantener la salud periodontal. Una pequeña proporción (1% a 2%) de los espacios intercelulares en el epitelio de unión sano está ocupada por neutrófilos (y otros leucocitos en diversas etapas de diferenciación), pero esto puede aumentar al 30% incluso con una inflamación modesta (1).

En estado inflamatorio, se producen cambios en la circulación local de la encía lo que facilita la emigración de leucocitos y aumento del flujo de GCF hacia la bolsa y esto ha sido observado en los tejidos gingivales, donde a través de estudios de inmunohistoquímica se indica la existencia de IL-8 y de la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), que dirigen los neutrófilos desde la circulación hacia los tejidos y hacia el epitelio de unión (33). La migración de neutrófilos contribuye a la ruptura del epitelio de unión por la degradación de la membrana basal a través de la liberación de proteasa y la acción de las especies reactivas del oxígeno (ROS) (10).

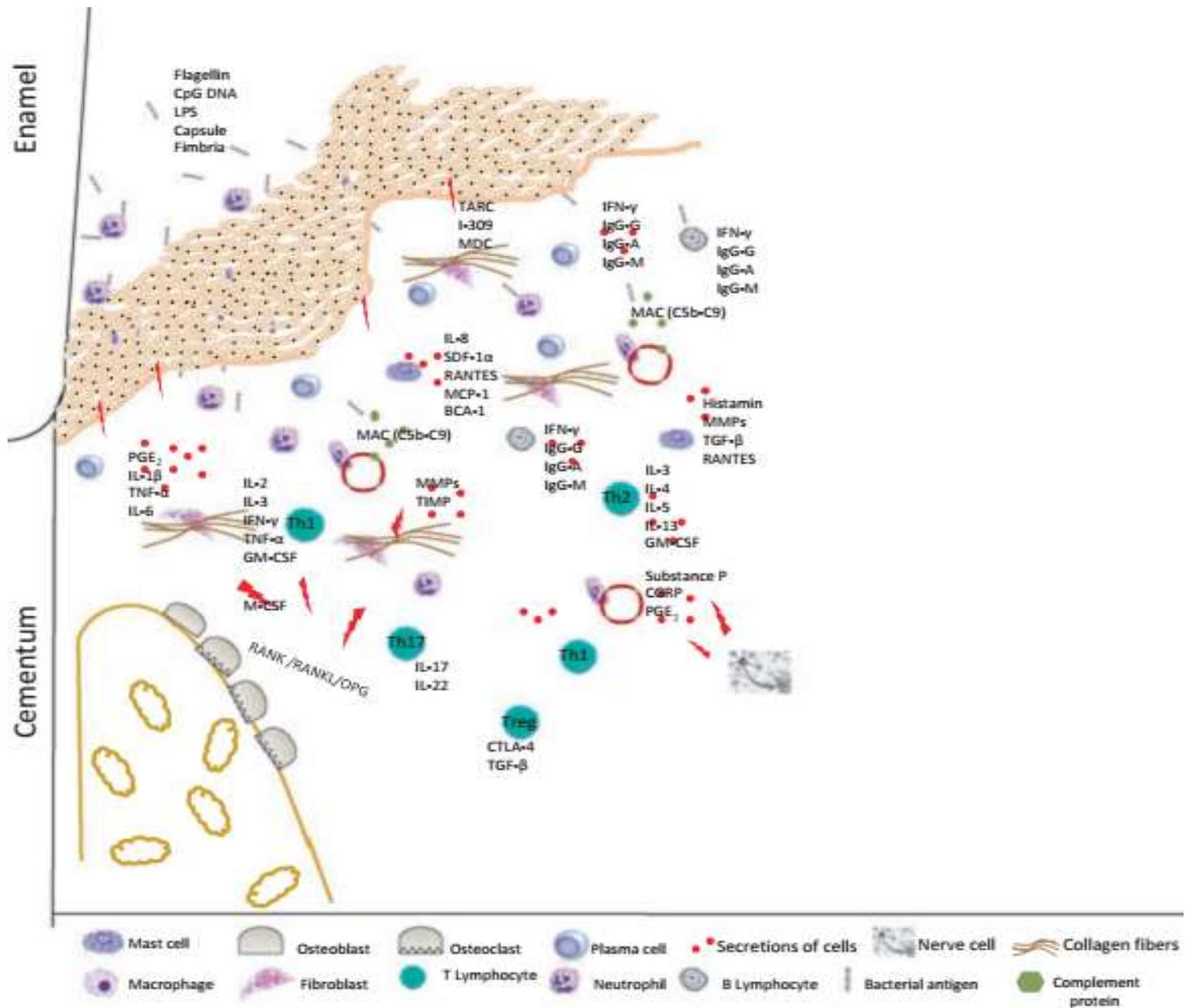


Fig.10 Células inmunológicas implicadas en la inflamación periodontal. La respuesta inmunitaria inflamatoria en la periodontitis es compleja e implica tanto la inmunidad innata como la adquirida. Este esquema presenta una descripción general de las moléculas y las células efectoras en la patogénesis de la periodontitis según nuestro conocimiento actual de las vías de la enfermedad. BCA-1, quimiocina 1 que atrae células B; CGRP, péptido relacionado con el gen de la calcitonina; CTLA-4, antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; IFN- γ , interferón gamma; Ig-A, inmunoglobulina A; Ig-G, inmunoglobulina G; Ig-M, inmunoglobulina M; IL-1 β , interleucina-1beta; IL-2, interleucina-2; IL-3, interleucina-3; IL-4, interleucina-4; IL-5, interleucina-5; IL-6, interleucina-6; IL-8, interleucina-8; IL-13, interleucina-13; IL-17, interleucina-17; IL-22, interleucina-22; LPS, lipopolisacárido; M-CSF, factor estimulante de colonias de macrófagos; MAC, complejo de ataque a la membrana; MCP-1, proteína quimiotáctica de macrófagos 1; MDC, quimiocina derivada de macrófagos; MMP, metaloproteinasas de matriz; OPG, osteoprotegerina; PGE₂, prostaglandina E₂; RANTES, células T reguladas y normales expresadas y secretadas; SDF-1 α , factor 1 alfa derivado de células estromales; TARC, timo y quimiocina regulada por activación; TGF- β , factor de crecimiento transformante beta; Th1, célula T colaboradora 1; Th2, célula T auxiliar 2; Th17, célula T colaboradora 17; TIMP, inhibidor tisular de metaloproteinasas de matriz; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; Célula reguladora Treg (15).

2.6 Reconocimiento de patógenos y activación de respuestas innatas celulares

Si la biopelícula y sus productos penetran en los tejidos periodontales, las “células centinelas” especializadas del sistema inmunológico reconocen su presencia y señalan respuestas inmunitarias protectoras. Estas células incluyen macrófagos, células dendríticas y neutrófilos, las cuales expresan una variedad de receptores que reconocen patrones (PRRs) que interactúan con patrones moleculares asociados a microorganismos o patógenos (MAMPs) (34).

La activación de los PRRs activa las respuestas inmunitarias innatas para proporcionar protección inmediata, y la inmunidad adaptativa también se activa con el objetivo de establecer una defensa específica de antígeno sostenida. Las respuestas inmunitarias excesivas y desreguladas conducen a una inflamación crónica y la destrucción tisular concomitante asociada con la enfermedad periodontal (1,34).

Además de esta capacidad de reconocimiento innato, el periodonto contiene varias células presentadoras de antígeno profesionales (APCs), que incluyen células B, macrófagos y células dendríticas (14, 34) y recientemente descritos los neutrófilos (34). Las APC detectan y fagocitan microorganismos y sus antígenos, después de lo cual pueden migrar a los ganglios linfáticos e interactuar con las células T para presentar el antígeno. Sin embargo, se reconoce cada vez más que la participación de PRR (y en particular receptores tipo toll (TLRs) en el reconocimiento de MAMPs de los microorganismos patógenos no solo es fundamental para señalar la inmunidad innata en forma de regulación positiva de citocinas, sino también un elemento crítico para mejorar la captación y procesamiento de antígenos, la activación de APC y las funciones efectoras de las células T asociadas a esta activación (1,14,34).

3. CAPÍTULO III: NEUTRÓFILOS

3.1 Neutrófilo

Los neutrófilos son los leucocitos más abundantes en los seres humanos y representan entre el 50-70% de todos los leucocitos en la médula ósea que comprende precursores de granulocitos (7,35). Desempeñan un papel clave en la defensa del hospedero contra infecciones bacterianas, virales y fúngicas, estas células intrigantes no solo son vitales para la eliminación de patógenos durante la infección temprana, sino que también vinculan las respuestas inmunes innatas y adaptativas para promover la resolución de la inflamación y la cicatrización de heridas (36).

3.2 Origen (Ontogenia)

Todos los elementos celulares de la sangre, incluso las células del sistema inmunitario, surgen a partir de células primordiales hematopoyéticas pluripotenciales en la médula ósea (37). Los neutrófilos derivan de un progenitor mieloide, son producidos por la médula ósea a un ritmo de 10^8 células/minuto en adultos. Después de entrar al torrente circulatorio, estas células se dividen en 2 grupos: uno circulante y otro marginal que se encuentra adherido al endotelio; estos compartimientos permanecen en un equilibrio dinámico que es importante en la respuesta ante cualquier lesión. Después de 1.5 y 8 horas en la circulación, los neutrófilos pasan a los tejidos, donde tienen una vida media aproximada de 5.4 días (38,39) .

3.3 Funciones

Las funciones principales de los neutrófilos son fagocitosis, producción de ROS, degranulación y NETosis. Sin embargo en los últimos años se les han atribuido funciones de presentación antigénica (40) y regulatorias (7,40,41), lo cual se explicará de manera más clara en los capítulos siguientes.

3.3.1 Fagocitosis

Es un proceso de ingestión de partículas mayores de 0,5 μm de diámetro. La fagocitosis se potencia exponencialmente por opsonización a través de IgG y proteína del complemento C3b (20).

Después del reconocimiento de los patógenos opsonizados, el neutrófilo forma vesículas fagocíticas y luego fagosomas, que finalmente se fusionan con los lisosomas para formar vacuolas digestivas (fagolisosomas) donde las moléculas antimicrobianas oxidativas y proteolíticas se liberan en un medio ácido (42,43) .

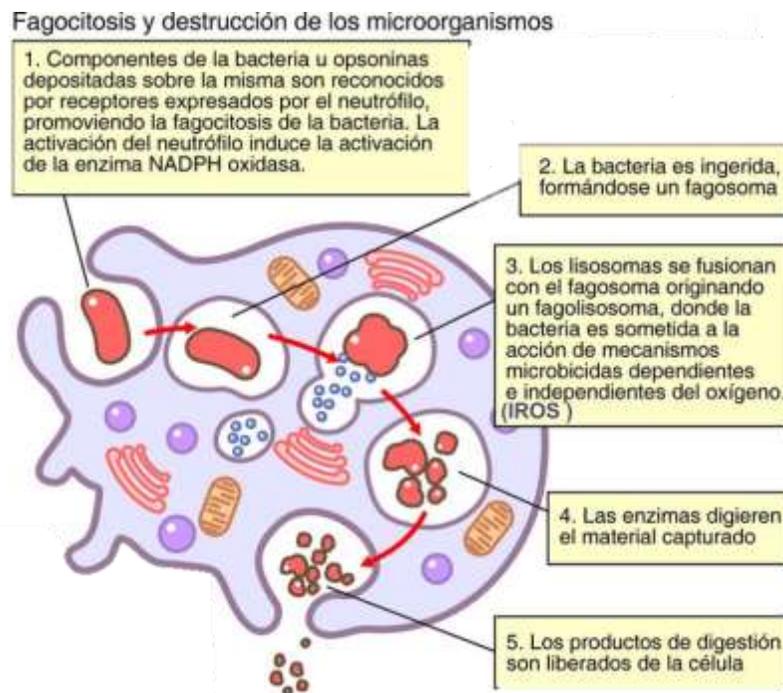


Fig.11 Pasos secuenciales de la fagocitosis (20) .

Los neutrófilos se activan cuando son capturados por células endoteliales activadas en sitios de inflamación y/o infección y se activan aún más durante su paso a los tejidos, donde pueden comenzar una nueva ronda de transcripción de genes que codifican moduladores de la respuesta inflamatoria, como IL-8, ligando 3 (motivo C-C) de quimiocina (CCL3), proteína inflamatoria de macrófagos 2-alfa (MIP2- α), factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) e IL-1 β (44), liberan sus gránulos por exocitosis y provocan un estallido respiratorio, todo lo cual contribuye

a optimizar las condiciones para erradicar los microorganismos infecciosos (45). Los interferones de tipo I generados durante la infección microbiana estimulan el reclutamiento de neutrófilos y mejoran la fagocitosis mediante la inducción de la producción de la quimiocina CXCL10 (46).

3.3.2 Las especies reactivas de oxígeno (ROS)

ROS se refiere a un gran grupo de derivados altamente reactivos de oxígeno generados como consecuencia de los procesos metabólicos o durante la respuesta al estrés de un acto. La mayoría de los ROS en neutrófilos se generan mediante la activación de la enzima generadora de superóxido, la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa (47).

Los neutrófilos circulantes existen en un estado relativamente inactivo. Su activación está regulada dinámicamente y progresa desde un estado inactivo a un estado intermedio "cebado" a medida que transmigran al sitio de infección o lesión y encuentran niveles bajos de citocinas inflamatorias (TNF- α , factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) , IL - 1 β , quimioatrayentes (C5a, fMLF PAF, LTB4) o agonistas de TLR (Lipopolisacárido (LPS), flagelina, lipopéptidos) (47,48) .

El cebado aumenta la capacidad microbicida de los neutrófilos al mejorar la producción de O₂, las respuestas de degranulación, la producción de mediadores inflamatorios y la capacidad fagocítica (49). Sin embargo, el cebado por sí solo no causa el ensamblaje previo del complejo NADPH oxidasa. Los agentes de cebado pueden inducir la fosforilación parcial de las subunidades citosólicas de NADPH oxidasa con exocitosis parcial de vesículas secretoras y gránulos secundarios.

Independientemente de su función antimicrobiana, ROS derivadas de NADPH oxidasa han surgido como reguladores clave de las respuestas inmunes del huésped y la inflamación neutrofílica; también es esencial para la presentación de antígenos, la autofagia, la quimiotaxis y la señalización redox en otras células inmunes (47).

3.3.3 NETosis

NETosis es la muerte celular programada de neutrófilos activados, que depende de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la descondensación del ADN nuclear catalizada por peptidil arginina deiminasa-4, en esta función del neutrófilo se liberan fibras de ADN extracelular llamadas trampas extracelulares de neutrófilos con actividad antimicrobiana contra varios patógenos (50).. La formación de NETs puede ocurrir a través de una forma independiente o dependiente de NADPH oxidasa. Una amplia gama de estímulos, como patógenos bacterianos y fúngicos, ionóforos de calcio, citocinas inflamatorias, ácido forbol mirístico (PMA) y complejos inmunes, pueden inducir NETosis *in vitro*. En la vía dependiente de NADPH oxidasa de la generación de NET, el O₂ se convierte en H₂O₂, que es el sustrato de la proteína mieloperoxidasa (MPO). La activación de MPO mediada por ROS y la movilización de gránulos azurófilos provocan la liberación de elastasa de neutrófilos en el citosol. Una vez en el citosol, la elastasa de neutrófilos escinde la F-actina para degradar la integridad de la membrana plasmática y también se transloca al núcleo para escindir las histonas, lo que promueve la descondensación de la cromatina y su posterior extrusión (47,50).

Es importante destacar que NETosis se diferencia de los mecanismos clásicos de muerte celular como la necrosis y la apoptosis por la evidencia de rotura de la membrana nuclear, la posterior mezcla de componentes nucleares y granulares y su liberación combinada en el medio extracelular de la célula (50,51).

Las NET son liberados por neutrófilos maduros por una señalización molecular apropiada, que incluye múltiples receptores para la transducción de señales (p. Ej., TLR, receptores de citocinas y FcγR) y la posterior extrusión de ADN. Fuchs y col. (2007) informaron inicialmente que las NET se producían durante un proceso de muerte celular programada, distinto de la apoptosis y la necrosis, y se denominó NETosis. Sin embargo, en 2009, Yousefi y sus colegas demostraron que los neutrófilos también pueden tener la capacidad de permanecer viables después de la liberación de NETs (52).

Los cambios siguen un patrón particular que se inicia por la pérdida de la segregación nuclear. Simultáneamente, también se pierde la forma lobular característica del núcleo y las membranas nucleares comienzan a separarse entre sí, pero la morfología del citoplasma y los orgánulos parecen intactos. En momentos posteriores, la envoltura nuclear se desintegra en vesículas y las membranas granulares desaparecen, lo que permite la mezcla de componentes nucleares, citoplasmáticos y granulares. A lo largo de este proceso, la membrana celular está intacta, y solo después de que se mezclan el cromatina y los componentes granulares se rompe, lo que permite la extrusión de los NETs (Fig. 12) (51,53).

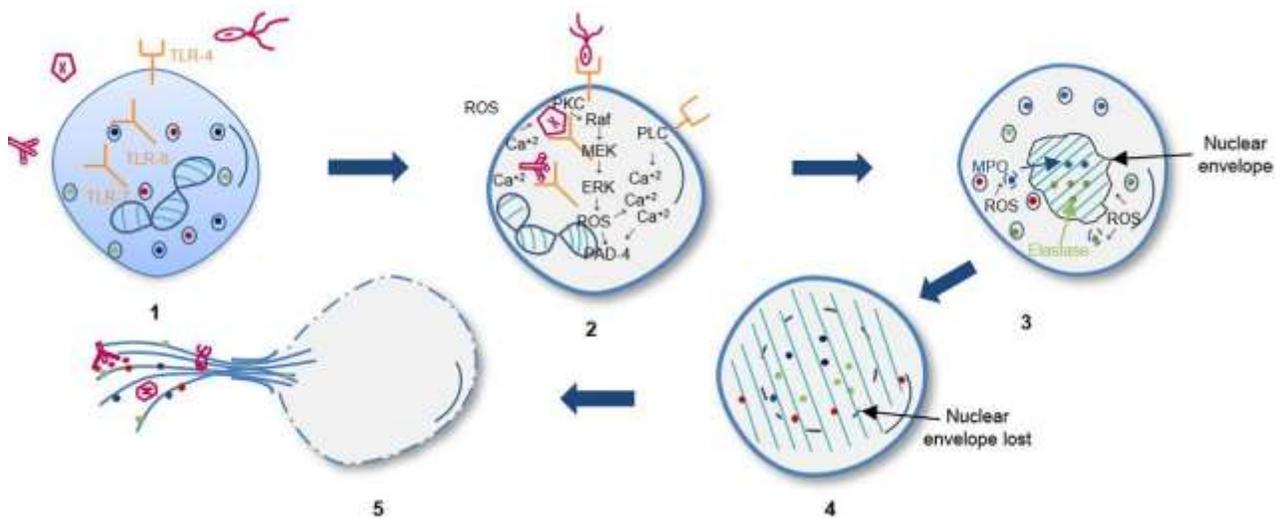


Fig.12 Pasos secuenciales de la NETosis. (1) Reconocimiento de estímulos a través de receptores. (2) Activación de la ruta de la RAF / MEK / ERK Kinasas y el aumento del calcio citosólico que conduce a la fosforilación de GP91PHOX para la activación del complejo de NADPH Oxidasa y la producción de oxígeno reactivos posteriores (ROS). (3) La elastasa y la mieloperoxidasa (MPO) la translocación al núcleo de los gránulos azurófilos promovidos por ROS y otros factores aún desconocidos. Decondensación de la cromatina y la pérdida de la forma lobular del núcleo. (4) Pérdida de membrana nuclear y granular, asociación de cromatina decondensada a componentes citoplasmáticos. (5) Pérdida de membrana plasmática y liberación de ADN como trampas extracelulares (121).

3.3.4 Degranulación

Es el proceso por el cual los gránulos citoplasmáticos de las células son liberados durante la respuesta inflamatoria (54). Los neutrófilos liberan mediadores derivados de los gránulos unidos a la membrana por degranulación o exocitosis, la liberación de gránulos de los neutrófilos depende de la activación de las vías de señalización intracelular, incluidas las arrestina beta 1 (ARRB1), la Rho guanosina trifosfatasa

(Rho GTPasas) Rac2, los receptores de proteína de unión NSF soluble (SNAP), la familia Tirosina quinasa c-SRC y la tirosina fosfatasa MEG2. Algunas de estas observaciones sugieren que la degranulación de los neutrófilos es selectiva y depende de vías de señalización (55).

La degranulación excesiva de neutrófilos es una característica común de muchos trastornos inflamatorios, como episodios de asma, lesión pulmonar aguda, artritis reumatoide y shock séptico (50,55).

El mecanismo principal por el cual los neutrófilos regulan la actividad de estos efectores es a través del secuestro en múltiples tipos de gránulos citosólicos, y cada tipo de gránulo contiene un subconjunto único de efectores y se exocita en respuesta a umbrales de señalización únicos (56). Al empaquetar los mediadores en gránulos, los neutrófilos controlan la actividad de estas moléculas aislándolas dentro de la luz del gránulo y permiten la administración selectiva de estas moléculas efectoras en momentos específicos durante la extravasación de neutrófilos, la infiltración en los sitios infectados y la participación de patógenos microbianos. Sin embargo, si bien esta pre-síntesis equipa a los neutrófilos con un arsenal completo de proteínas antimicrobianas listas para su despliegue inmediato, también necesita un control estricto sobre la liberación de estos efectores para evitar daños no deseados al huésped (57).

3.4 Gránulos de los neutrófilos

Se han identificado cuatro tipos principales de gránulos de neutrófilos en neutrófilos humanos, de conejo y de ratón (58). Los gránulos azurófilos son principalmente antimicrobianos; los gránulos específicos y de gelatinasa son gránulos de usos múltiples necesarios para la migración a través de los tejidos y tienen algunas funciones antimicrobianas; y la clase final de gránulos de neutrófilos, vesículas secretoras, están especializadas para el reclutamiento de neutrófilos y están enriquecidas en proteínas necesarias para la extravasación de la circulación (59).

Tipos de gránulos:

a. Gránulos azurófilos (primarios)

Son los principales gránulos microbicidas de los neutrófilos, se caracterizan por la presencia de múltiples proteínas antimicrobianas, incluidas enzimas productoras de oxidantes como MPO, proteasas como azurocidina, catepsina G, elastasa y proteinasa 3 (PR3), permeabilizantes de membrana, lisozima, proteínas que aumenta la permeabilidad bacteriana y defensinas (60). Estos gránulos provienen de la fase del promielocito, que son reconocidos por sus gránulos citoplasmáticos largos y prominentes ($>0.4\mu\text{m}$) y representan el 5% del peso seco total del neutrófilo (37). Los gránulos primarios sirven exclusivamente para desarrollar acciones intracelulares. El contenido molecular de los gránulos azurófilos tiene 3 clases de moléculas en su interior:

- Células MPO+: catalizan la producción de metabolitos oxidantes, principal mecanismo para la destrucción de microorganismos.
- Proteínas catiónicas (defensinas): que son capaces de destruir un amplio espectro de microorganismos bacterianos, así como también hongos y virus.
- Enzimas destructoras de tejido: que son moléculas muy dañinas y que permiten al neutrófilo la digestión del microorganismo.
- Catalizan la destrucción de un amplio número de moléculas de los tejidos que son: Hidrolasas acidas, esterases, elastasas, capticina G, lisozimas y glicoproteínas que contienen manosa 6-fosfato (pero no contiene LAMPs (proteínas de membrana asociadas a lisosomas) (61).

b. Los gránulos específicos (secundarios)

Son ricos en sustancias antibióticas que participan en las actividades microbicidas de los neutrófilos, ya sea por movilización con el fagosoma o por liberación en el medio extracelular. Estos gránulos tienen un doble propósito: llevan varias proteínas necesarias para la extravasación y migración de neutrófilos, y contienen proteínas que hacen que el tejido circundante sea menos susceptible al crecimiento de

microorganismos (59). Son pequeños ($< 0.3\mu\text{m}$), translúcidos y representan el 80% de los gránulos de los neutrófilos. Se sintetizan durante el estado de mielocito y sirven para acciones intracelulares y extracelulares, pero son más exclusivos para desarrollar acciones extracelulares de secreción (37). Estos gránulos contienen molecularmente:

- Enzimas que degradan la MEC, que son la colagenasa y plasmina.
- Moléculas reguladoras de disponibilidad de Fe (Apo-lactoferrina) y Cu (proteína transportadora de vit. B₁₂) para el metabolismo de las bacterias
- En su membrana hay receptores para el C3bi (C3b inactivado), FMLP (Formil Metionil Leucil Fenilalanina), laminina (proteína de la matriz extracelular relacionada con la adherencia, la migración y la opsonización).

La ausencia congénita de gránulos específicos es un trastorno poco común que se caracteriza por una estructura y función atípicas de los neutrófilos, así como por infecciones bacterianas frecuentes y graves (37) .

c. Gránulos de gelatinasa (gránulos terciarios):

Al igual que los secundarios, los gránulos de gelatinasa se movilizan cuando el neutrófilo establece un contacto rodante primario con el endotelio activado y son morfológicamente similares a los gránulos específicos, de lo que se diferencian es por su densidad levemente menor (62). Los gránulos de gelatinasa se forman durante la transición de metamielocitos a neutrófilos. Una vez que el neutrófilo madura y se convierte en metamielocito, ya no puede proliferar, lo que marca el comienzo de la diferenciación terminal de los neutrófilos. Estos gránulos contienen enzimas que degradan la MEC, como gelatinasa, y receptores de membrana que incluyen CD11b/CD18, CD67, CD177, receptor quimioatrayente del péptido N-formilo (fMLF-R), proteína de membrana secretora asociada a transportador (SCAMP) y Proteína de membrana asociada a vesículas 2 (VAMP2), que son importantes en las primeras fases de las respuestas inflamatorias y extravasación de neutrófilos en tejidos inflamados (62).

d. Gránulos ricos en Ficolin-1:

Rørvig y sus colegas, describieron recientemente un cuarto tipo de gránulo de neutrófilos, el gránulo rico en ficolin-1, que se origina durante la transición de mielocitos a metamielocitos, pero se empaqueta en gránulos de formas segmentadas entre el comienzo del desarrollo de los gránulos de gelatinasa y de las vesículas secretoras (59). Este nuevo tipo de gránulos se identificó cuantificando la concentración de ficolin-1 en gránulos humanos fraccionados en medios de densidad de alta resolución. Este fraccionamiento subcelular reveló que ficolin-1 podría encontrarse en tres compartimentos celulares distintos en los neutrófilos no estimulados: gránulos de gelatinasa, la membrana plasmática y una tercera población de gránulos no descrita previamente que tenía movilidad en los medios de separación intermedios a los de los gránulos de gelatinasa y vesículas secretoras (56). Ficolin-1 se sintetiza en los neutrófilos que maduran durante la transición de mielocitos a metamielocitos, pero se localiza en gránulos muy movilizados que se forman en las células segmentadas durante las etapas muy tardías de la granulopoyesis terminal. Al igual que los gránulos secretores, los gránulos de ficolin-1 se exocitan fácilmente del neutrófilo tras una estimulación mínima y contienen principalmente albúmina sérica humana, CR1, vanina-2 (VFN2), antígeno asociado a la función linfocitaria (LFA-1), actina y varias proteínas de unión al citoesqueleto (63). Los componentes de estos gránulos intervienen principalmente en la locomoción de los neutrófilos, la adhesión firme y la migración transendotelial (63).

e. Vesículas secretoras (VS):

Las VS son únicas entre los tipos de gránulos de neutrófilos porque su producción continúa después de que los neutrófilos maduros salen de la médula ósea. La formación de VS se da a través de la endocitosis de la superficie celular y las proteínas séricas a través de un proceso endocítico aún no caracterizado y es paralela a la endocitosis en la captación de la membrana plasmática y los componentes extracelulares solubles en las vacuolas citosólicas derivadas de la

membrana plasmática; pero, a diferencia de la endocitosis canónica, las proteínas endocitosis en VS no se degradan o reciclan posteriormente, sino que se retienen para su posterior liberación, y a diferencia de los otros gránulos, estas no parecen adquirir proteínas directamente del Golgi, sino que parecen depender completamente de la endocitosis para su formación (64).

Las VS están enriquecidas por proteínas transmembrana necesarias para la extravasación y para la fagocitosis, específicamente el receptor formilpéptido 1 (fPR1), la integrina Mac-1, los receptores fagocíticos CD16 y CR1, y los receptores de quimiocinas y citocinas, incluido receptor 2 de quimiocinas con motivo C-X-C (CXCR2). También contienen proteínas séricas en su luz, aunque no está claro si estas proteínas tienen un propósito o simplemente están presentes debido a que se co-endocitosan junto con las proteínas transmembrana que se almacenan en los VS (56,64). Al igual que los gránulos específicos y de gelatinasa, la liberación de la VS está restringida a la membrana plasmática. Las VS tienen el umbral de señalización más bajo para la liberación de todos los tipos de gránulos y, como consecuencia, se exocitan en respuesta a estímulos inflamatorios débiles y transitorios. Este bajo umbral de liberación es un aspecto crítico de la función del VS, ya que permite que estas vesículas sean exocitadas cuando los neutrófilos se encuentran con las quimiocinas y las citocinas inmovilizadas en las células endoteliales durante el reclutamiento intravascular (64). La liberación resultante aumenta rápidamente la concentración de integrinas y receptores quimiotácticos en la superficie del neutrófilo, permitiendo la firme adhesión al endotelio vascular y extravasación al tejido inflamado. Curiosamente, las resolvinas antiinflamatorias pueden afectar la exocitosis de los VS para limitar la infiltración de neutrófilos (65).

3.4.1 Mecanismos de degranulación en neutrófilos

El proceso de degranulación ocurre en un proceso escalonado, con la liberación de cada tipo de gránulo dependiente de eventos de señalización específicos (66).

- Primero, las vías de señalización dependientes del calcio y dependientes de la quinasa son activadas por receptores quimiotácticos o fagocíticos en respuesta a la ligadura del receptor.
- En segundo lugar, la actina y la reorganización de los microtúbulos transportan los gránulos desde el citosol a la membrana plasmática o, en el caso de los gránulos azurófilos no secretores, al fagosoma.
- En el tercer paso, el gránulo se acopla a la membrana objetivo, lo que permite que las proteínas fusogénicas del gránulo y la membrana objetivo interactúen.
- En cuarto lugar, se forma un complejo proteico competente para la fusión entre las proteínas t-SNARE en la membrana diana y las proteínas v-SNARE (VAMP) en el gránulo.
- Finalmente, este poro de fusión se expande, se fusiona la membrana del gránulo con la membrana objetivo y se libera el contenido del gránulo. Este proceso puede ser iniciado por una variedad de receptores de la superficie celular (incluidos los acoplados a proteína G, de quimiocinas o receptores de formilpéptidos, integrinas y receptores Fc). (67).

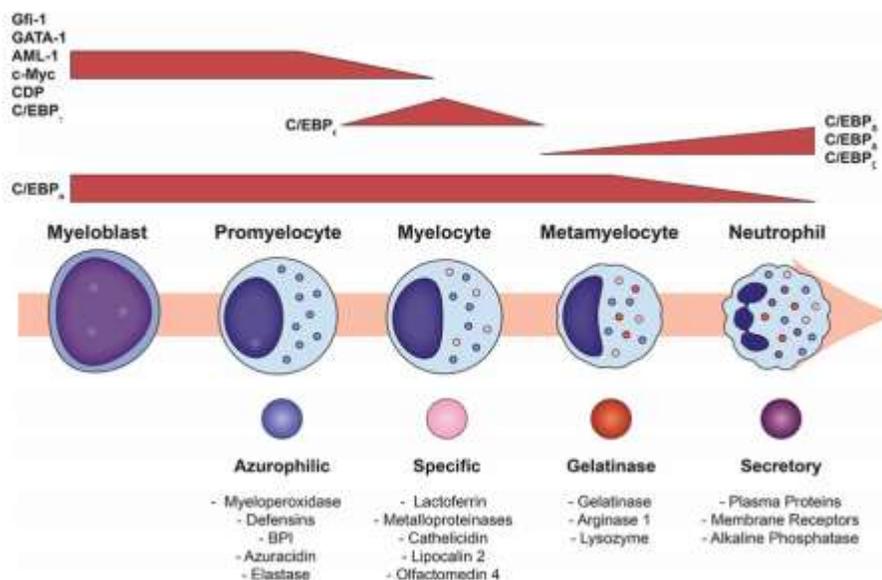


Fig. 13 Granulopoiésis y factores de transcripción asociados. La maduración del neutrófilo terminal se caracteriza por la formación secuencial de los tres gránulos de neutrófilos diferentes y las vesículas secretoras, así como la segmentación nuclear. Granulopoiésis comienza con el desarrollo de gránulos azurófilos en mieloblastos y prometelocitos tempranos y termina después de la creación de vesículas secretoras en células maduras y segmentadas. La formación de gránulos de neutrófilos es jerárquica y dependiente de la sincronización de la biosíntesis de proteínas constituyentes, mientras que la exocitosis se produce en la secuencia inversa pero ordenada (37).

4. CAPÍTULO IV: MICROBITA ORAL Y NEUTRÓFILOS EN SALUD Y ENFERMEDAD PERIODONTAL

4.1 Microbiota oral y neutrófilos en salud y enfermedad periodontal

Los estudios recientes de microbiomas clínicos y las investigaciones en modelos preclínicos han demostrado que la periodontitis es una enfermedad disbiótica en lugar de una infección bacteriana atribuida a pocas especies bacterianas únicas o seleccionada (históricamente conocidas como “periodontopatógenas”) (68,69).

Cerca de 700 especies bacterianas habitan en la boca humana. Sin embargo, alrededor del 50% de estas especies o filotipos aún no se han cultivado, y en este contexto, Wade (2013) destaca el tema de las "bacterias orales incultivables". Esta discusión aún sigue vigente y se ha llevado más de un siglo con respecto a la viabilidad de las bacterias (12).

La disbiosis implica alteraciones en la cantidad o la influencia de las especies individuales dentro de una comunidad polimicrobiana que interrumpen la homeostasis de los microorganismos del hospedero y conducen a una inflamación que involucra elementos de inmunidad innata y adaptativa.(68,70).

La función de los neutrófilos es fundamental para el mantenimiento del equilibrio de la biopelícula del hospedero y la homeostasis del tejido periodontal. A medida que avanza el conocimiento del papel central de los neutrófilos en la enfermedad periodontal, se impulsó la idea de que puede desempeñar un papel crucial en el progreso de la salud periodontal a la enfermedad. Los informes iniciales en estos aspectos informaron que ciertos trastornos asociados con la deficiencia de neutrófilos primarios, tales como el síndrome de Chediak-Higashi y el síndrome de leucocitos perezosos (Lazy leukocyte syndrome), se asociaron con infección periodontal temprana y severa, pérdida ósea, movilidad dental y pérdida de dientes. Además, los trastornos que involucran directamente el funcionamiento de los neutrófilos, como la deficiencia de adherencia de leucocitos, del tipo I y II demuestra la destrucción severa de tejidos (71).

Se ha observado que la neutropenia inducida y las anomalías primarias de los neutrófilos pueden llevar a una infección periodontal rápida. Estas observaciones destacaron la importancia que la función de neutrófilos alterada puede desempeñar en la patogénesis de la enfermedad periodontal (71).

4.2 Microbiota oral en salud

La microbiota oral es una de las comunidades más complejas y dinámicas del cuerpo humano, comprendiendo varios cientos de diferentes especies que incluyen virus, protozoos, hongos, arqueas y bacterias. Este ecosistema en salud tiene una función importante para proteger al hospedero contra la colonización de bacterias extrínsecas que podrían afectar la salud sistémicamente (14,70) .

Comúnmente, se piensa que los microorganismos son perjudiciales para nuestra salud, pero existen muchos de ellos que viven armoniosamente en nuestro cuerpo y forman nuestra propia microbiota. La homeostasis entre el hospedero y la microbiota simbiótica es un factor clave para comprender y mantener nuestra salud (36) .

El número de bacterias que colonizan la cavidad oral es bastante pequeño en comparación con el número total de bacterias conocidas, y el número que causa la enfermedad es aún menor (36,73) .

El ecosistema oral es complejo porque tiene varios nichos que posee una variedad de superficies, como la mucosa bucal y vestibular, paladar, lengua, piso de la boca, incluida la saliva y las superficies de los tejidos duros. Diferentes superficies atraen distintas comunidades microbianas porque cada nicho proporciona hábitats únicos para la colonización microbiana y existen consideraciones en los parámetros ambientales orales, como la temperatura, la disponibilidad de oxígeno, pH, la variabilidad en la composición y la dieta (14). Por lo tanto, existe un balance delicado entre el hospedero y su microbiota para mantener la homeostasis y la salud periodontal (13).

Gram-positive bacteria	Gram-negative bacteria
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>S. sanguinis</i>	<i>F. periodonticum</i>
<i>S. oralis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
<i>S. mitis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>S. gordonii</i>	<i>P. endodontalis</i>
<i>S. parasanguinis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>S. salivarius</i>	<i>P. loescheii</i>
<i>S. anginosus</i>	<i>P. denticola</i>
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>P. melaninogenica</i>
<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>P. nigrescens</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
<i>A. gerencseriae</i>	<i>Bacteroides odontolyticus</i>
<i>A. odontolyticus</i>	<i>Neisseria subflava</i>
<i>A. oris</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Filifactor alocis</i>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>C. gingivalis</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
<i>Bifidobacterium dentium</i>	<i>C. ureolyticus</i>
<i>Eubacterium nodatum</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>Parvimonas micra</i>	<i>T. socranskii</i>
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>T. vincentii</i>
<i>Propionibacterium acnes</i>	

Tabla IV | Microorganismos Gram positivos y negativos de la cavidad en salud (14).

A pesar de que la cavidad oral es un ejemplo de un área de nuestro cuerpo que está fuertemente colonizado por una comunidad microbiana diversa, su interacción con el sistema inmune es esencial (12,14,73).

La interacción entre la microbiota oral y los neutrófilos es un determinante clave del estado de salud oral, ya que la interacción entre los neutrófilos y la comunidad microbiana simbiótica autóctona o comensal está estrictamente controlada para prevenir el daño tisular. Se sabe que los neutrófilos están presentes en condiciones de salud y que patrullan en el epitelio de unión (74). Sin embargo, cuando existe inflamación, la tasa de migración y el porcentaje de los neutrófilos incrementa (74) debido a la alta porosidad del epitelio de unión y la liberación del gradiente

quimiotáctico de IL-8, lo que genera localmente una guía para un alto número de neutrófilos hacia los vasos sanguíneos y después hacia el GFC. Aquí, los neutrófilos formarán una pared protectora entre la comunidad oral, colonizando el diente y el epitelio de unión. Los neutrófilos son en su mayoría responsables de garantizar la salud periodontal manteniéndose al margen de la biopelícula (73,75,76) .

Durante la gingivitis se genera una respuesta inflamatoria moderada, sin embargo, si esta inflamación no se controla, por ejemplo, en situaciones de higiene oral deficiente, la gingivitis puede llevar a la periodontitis. En esta condición, los patógenos microbianos no pueden ser eliminados o controlados por neutrófilos. En respuesta, se reclutan más neutrófilos al tejido periodontal y la acumulación de neutrófilos, en lugar de proteger, induce el daño periodontal del tejido e incluso la pérdida ósea. Por lo tanto, se debe mantener un equilibrio entre la función de los neutrófilos y la microbiota para garantizar la salud periodontal (73) .

4.3 Microbiota oral en enfermedad

Una microbiota disbiótica o alterada de la cavidad oral es responsable del desarrollo de las enfermedades orales más comunes; caries, gingivitis y periodontitis (12,14). La progresión de la salud a la periodontitis se explica ahora como la transición de una comunidad microbiana simbiótica que, debido a varios factores de riesgo, como el tabaquismo, cambios en la dieta, un huésped inmunodeprimido, lesión tisular o la colonización de la cavidad oral por bacterias patógenas como *P. gingivalis*, puede modificar el ecosistema oral dando como resultado una comunidad polimicrobiana disbiótica (73). El crecimiento de bacterias simbióticas seleccionadas induce vías inflamatorias del huésped. En particular, se ha demostrado que la infección polimicrobiana para la enfermedad periodontal están involucradas bacterias como *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Fusobacterium nucleatum* (14,76) .

Pacientes con periodontitis agresiva (como la periodontitis agresiva localizada) parece muy diferente a la periodontitis crónica. En la biopelícula asociada con la periodontitis agresiva localizada predominan cocoides Gram negativos.

Los hallazgos microbiológicos clínicos indican que el patógeno primario asociado con esta enfermedad es *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (12).

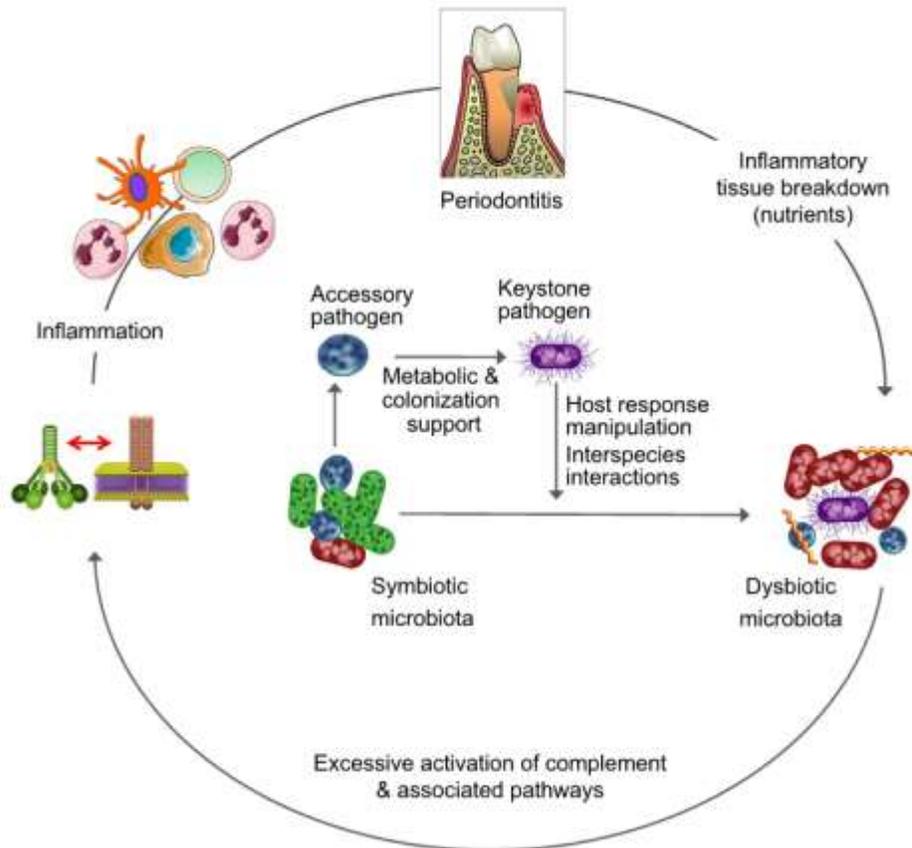


Fig. 16 Sinergia polimicrobiana y disbiosis en periodontitis. La colonización de los patógenos específicos "Keystone" (por ejemplo, *Porfiromonas gingivalis*) ayudada por los patógenos accesorios (por ejemplo, *Streptococcus gordonii*) causa alteraciones en la composición y número de la microbiota periodontal que contribuyen a la aparición de la disbiosis en individuos susceptibles. La microbiota disbiótica resultante exacerba la inflamación al activar las vías sinérgicas asociadas con el complemento. El entorno inflamatorio no solo promueve la periodontitis si no también mayor crecimiento bacteriano al proporcionar nutrientes en forma de productos. De hecho, el GFC tiene proteínas de huésped degradadas y compuestos que contienen hemo (fuentes de aminoácidos y hierro, respectivamente) que cumplen las necesidades nutricionales de la comunidad microbiana disbiótica. Por lo tanto, estos cambios ambientales favorecen a las especies inflamófilas (organismos proteolíticos y asacárolíticos con capacidad de adquisición de hierro que prosperan en la inflamación). La disbiosis da como resultado una inflamación periodontal aún mayor y la reabsorción ósea, perpetuando así un ciclo recíproco reforzado de la destrucción de

La microbiota disbiótica polimicrobiana tiene un arsenal de mecanismos de autodefensa con los que se puede atacar a los neutrófilos. Esta tiene una comunicación intermicrobiana llamada detección de *Quórum Sensing* (QS), que permite a la microbiota disbiótica optimizar las condiciones de la biopelícula y garantizar el suministro de nutrientes. Las moléculas de detección de QS son

capaces de controlar la respuesta ROS de los neutrófilos y la entrada de *P. aeruginosa*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *S. aureus* para producir toxinas bacterianas que inducen la lisis y degranulación de los neutrófilos (14).

Los neutrófilos ahora se aprecian cada vez más como los principales actores en la periodontitis crónica y otros trastornos inflamatorios crónicos, incluida la artritis reumatoide, la psoriasis, la aterosclerosis, la enfermedad inflamatoria del intestino, la diabetes y el cáncer. La evidencia clínica indica que los neutrófilos son responsables de una porción sustancial de la destrucción inflamatoria del tejido y sus números se correlacionan positivamente con la severidad de la periodontitis. Además, debido a los estímulos proinflamatorios persistentes, los pacientes con periodontitis crónica tienen neutrófilos en los tejidos orales que se viven durante más tiempo en comparación con los neutrófilos en los tejidos orales de individuos sanos (77,78).

Los neutrófilos supernumerarios, hiperactivos o desregulados pueden causar daño a los tejidos conectivos a través de la liberación de moléculas inflamatorias y tóxicas (por ejemplo, especies de oxígeno reactivas) o MMP, incluida la colagenasa, la cual también contribuye a la iniciación de la resorción ósea. También algunas bacterias orales han desarrollado estrategias para alterar la función de los neutrófilos con el fin de estimular el estado de inflamación y promover su persistencia en periodontitis (68,76).

Finalmente, la inflamación y la destrucción de tejidos mediados por los neutrófilos evocan el sangrado gingival frecuente, a partir del cual, estas bacterias pueden usarlo como fuente adicional de nutrientes (como el hierro y la vitamina K); por lo que se ha observado que la presencia de neutrófilos parece ser necesaria para funciones inmunomoduladoras importantes (36).

El éxito de los nuevos enfoques terapéuticos que se dirigen a estos mecanismos identificados, atestigua la relevancia y la importancia funcional que presentan los neutrófilos en el mantenimiento de la salud o en el desarrollo de enfermedad periodontal (68).

5. CAPÍTULO V. HETEROGENEIDAD DE LOS NEUTRÓFILOS EN CAVIDAD ORAL

5.1 Heterogeneidad de los neutrófilos

Anteriormente se consideraba que los neutrófilos eran una población celular relativamente homogénea (79). Recientemente los datos de las últimas décadas han revelado que los neutrófilos también pueden ejercer funciones inmunorreguladoras, además de mostrar plasticidad fenotípica y funcional. Se han descrito poblaciones heterogéneas de neutrófilos circulantes basándose en parámetros como marcadores de superficie celular, flotabilidad, madurez, funciones y localización tanto en condiciones sanas como patológicas que incluyen cáncer, infecciones y trastornos autoinmunes e inflamatorios (80). También se ha descrito que los neutrófilos son clave en la destrucción de los tejidos y han sido descritas como espadas de doble filo; ya que tanto como su ausencia y su hiperactividad y conduce a una inflamación periodontal con daño de tejido grave y pérdida dental (81). Por lo tanto, la investigación hacia los posibles roles pro y antiinflamatorios de los subconjuntos de neutrófilos se han estudiado y demostrado en modelos recientes de lesiones, traumas, cáncer, sepsis y enfermedades inflamatorias relacionadas con la isquemia dentro de la cavidad oral, también se han propuesto diferentes subconjuntos de neutrófilos y fenotipos de neutrófilos proinflamatorios en la periodontitis (74). Hay datos que confirman la participación del neutrófilo en la activación directa de otras células en respuesta inespecífica, así como de células especializadas en respuesta específica. Por ejemplo, se han realizado observaciones de neutrófilos con diferentes niveles de actividad en relación con los linfocitos, y se identificó una población que tenía características similares a las de las células que son capaces de presentar antígenos. También existen reportes de neutrófilos que demuestran diferentes tiempos de supervivencia o capacidad para la quimiotaxis, e incluso se ha observado en otros estudios que la respuesta de los neutrófilos frente a *Staphylococcus aureus* es diversa, sugiriendo la existencia de diferentes subpoblaciones (82).

5.2 Primeros informes sobre subpoblaciones de neutrófilos

La búsqueda de la heterogeneidad de los neutrófilos comenzó entre los años 70s y 90s. En ese momento, la investigación se centró en evaluar las diferencias funcionales de los neutrófilos, su densidad y la biosíntesis de proteínas/ARN. Autores como Ramsey encontró en 1972 que los diferentes grupos de estas células varían en su capacidad de quimiotaxis. Además, Pember y Kinkade demostraron en 1983 que los neutrófilos demuestran una actividad variada de MPO.

El uso de anticuerpos monoclonales permitió confirmar la hipótesis sobre la existencia de subpoblaciones de neutrófilos. Esto se demostró detectando un 5% de población de neutrófilos sin antígeno común de la leucemia linfoblástica aguda (CD10). Un poco más tarde, Chollet-Martin et al. Identificaron en 1992 una subpoblación hiperreactiva de neutrófilos en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda.

El Grupo de Trabajo de Antígeno de Granulocitos de la Sociedad Internacional de Transfusión de Sangre en 1998 estableció una nomenclatura de antígenos de granulocitos que consta de cinco sistemas de antígenos. Los antígenos de neutrófilos humanos (HNA) comprenden un grupo de glicoproteínas expresadas en neutrófilos humanos: HNA-1 (FccRIIIb, CD16), HNA-2 (CD177), HNA-3 (CTL2), HNA-4 (CD11b / CD18; Mac-1 , CR3), HNA-5 (CD11a / CD18) (82).

5.2.1 Subpoblaciones con diferente actividad en la inflamación

Se han descrito 141 marcadores de diferenciación (CD) de los neutrófilos aislados de diferentes sitios y en diferentes estados de salud y activación. A continuación se mencionan algunos.

Tabla III | Descripción de subconjuntos de neutrófilos tanto por sus expresiones de marcadores como sus funciones celulares específicas en el contexto de la salud oral y la inflamación(74).

Poblaciones de prueba de neutrófilos, estado de salud oral y muestras de control.		Marcadores de neutrófilos descritos en la población de pruebas.	Propiedades funcionales de la población.
Neutrófilos de GFC de donantes saludables vs. neutrófilos de sangre Wilton et al. / (1977)		CD35 defectuoso o bajo en neutrófilos de GFC de donantes saludables	Fagocitosis deteriorada
Neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis agresiva vs. donantes periodontalmente saludables Van Dyke et al. / (1987)		CD11b ^{low} En neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis agresiva	Fagocitosis deteriorada
Neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis agresiva frente a donantes periodontalmente saludables Nemoto et al. / 1997		CD16 ^{low} , CD11a ^{high} , CD11b ^{high} en neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis agresiva	Fagocitosis deteriorada
Neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis crónica vs neutrófilos de sangre Miyazaki et al. / 1997		CD16 ^{low} , CD32 ^{low} en neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis crónica	Fagocitosis deteriorada
Neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis crónica vs donantes periodontalmente saludables Kobayashi et al. / 2000		CD16b alotipo NA2 ^{low} en neutrófilos de sangre de pacientes con periodontitis crónica	Fagocitosis deteriorada y liberación de ROS en respuesta a las bacterias opsonizadas por IgG
Neutrófilos de GFC de pacientes con periodontitis crónica vs. neutrófilos de sangre Kobayashi et al. / 2001		CD89 ^{high} , CD64 ^{high} , CD16b ^{low} , CD32a ^{low} en neutrófilos de GFC de pacientes con periodontitis crónica	Fagocitosis deficiente de bacterias opsonizadas por IgG
Neutrófilos orales de pacientes con periodontitis crónica vs. Para1 y neutrófilos Para 2 Fine et al. / 2016		CD10 ^{high} , CD63 ^{high} , CD64 ^{high} , CD66a ^{high} , CD11b ^{high} , CD18 ^{high} , CD55 ^{high} en Para1 y neutrófilos Para 2	Mayor fagocitosis, formación neta, liberación de ros y degranulación.
Neutrófilos orales (Para2) de donantes sanos vs. Para1 neutrófilos Fine et al. / 2016	CD55 ^{high} , CD63 ^{high} , CD170 ^{low} , CD16 ^{low} , FSC-A ^{low} , SSC-A ^{low} En neutrófilos orales (Para2) de donantes sanos	Aumento de la fagocitosis, la formación de NETosis y la liberación de ROS no estimulados.	
Neutrófilos orales de donantes sanos vs. neutrófilos de sangre		CD16 ^{high} , CD11b ^{high} , CD63 ^{high} , CD66b ^{high}	Aumento de la liberación de ROS no estimulada.

Rijkschroeff et al. / (2016)		
Neutrófilos de donantes edentulos vs. donantes dentados con formas leves de periodontitis Rijkschroeff et al. / 2017	CD16 ^{high} CD11b ^{low} , CD63 ^{low} , CD66b ^{low} En neutrófilos de donantes edentulos	Disminución de la liberación de ROS no estimulada.
Neutrófilos orales de donantes sanos vs. neutrófilos de sangre Moonen et al./ 2019	fMLPR ^{low} En neutrófilos orales de donantes sanos	Quimiotaxis deteriorada, aumento de la fagocitosis y liberación de NETosis no estimulada

Los marcadores descritos anteriormente no son exclusivos de los neutrófilos también se han reportado en otras células, como macrófagos, linfocitos B y T.

Witko-Sarsat et al. Demostraron en 1999 que poblaciones de neutrófilos circulantes asociados con la inflamación crónica forman dos poblaciones de células en función de la presencia o ausencia de la expresión en la membrana de proteinasa 3 (mPR3). La mPR3 con CD177 ayuda a la activación celular. CD177 es un marcador específico para los neutrófilos expresado en la membrana plasmática de neutrófilos, así como en la membrana de sus gránulos específicos. CD177, en humanos, se expresa exclusivamente en la superficie de los neutrófilos y regula la trans migración a través del endotelio (83). La expresión de CD177 es necesaria para la presentación superficial de PR3, lo que facilita la trans migración de neutrófilos CD177+ (84,85). La expresión de CD177 puede variar en neutrófilos y en diferentes individuos (por ejemplo, expresión alta, baja, negativa) (86). La implicación de las poblaciones CD177 + o CD177– en la vasculitis derivada de ANCA u otras enfermedades inflamatorias sigue siendo desconocida (87). La ausencia de CD177 no afectó la capacidad migratoria de los neutrófilos, pero provocó la muerte celular (83,87).

Otra glicoproteína detectada dentro de gránulos específicos de neutrófilos es Olfactomedina 4 (OLFM4) esta actúa como un supresor de tumores y se ha identificado recientemente que el 25% de esta glicoproteína se encuentra en gránulos específicos de los neutrófilos humanos en circulación, donde inhibe la activación de varios granulares como proteasas, incluyendo catepsina C, elastasa, catepsina G y PR3. Esto indica que la expresión de OLFM4 podría regular negativamente la eficiencia de la muerte bacteriana en un subconjunto de neutrófilos (81).

El reconocimiento de que los neutrófilos son fenotípicamente heterogéneos en los tejidos sanos es reciente y su diversidad en condiciones de inflamación, infección y enfermedad crónica ha sido apreciada durante décadas. Varias propiedades fenotípicas y funcionales de los neutrófilos cambian rápidamente en condiciones de inflamación estéril o infecciosa. Por ejemplo, los neutrófilos pueden adoptar diferentes formas de migración a través de las paredes vasculares, expresan una matriz de receptores de reconocimiento de patrones y secretar diferentes tipos de citoquinas durante las infecciones, o pueden dotarse, o no, con la capacidad de impedir la activación de las células T (88).

5.2.2 Subpoblaciones de neutrófilos en salud y enfermedad periodontal.

El fenotipo para-inflamatorio se definió como neutrófilos en un estado intermedio que les permite interactuar con la microflora oral sin obtener una respuesta inflamatoria marcada, contribuyendo así a la homeostasis.

Los marcadores que estaban regulados en los neutrófilos orales de los pacientes con periodontitis se colocaron en tres categorías: marcadores de activación y degranulación (CD10, CD63, CD64 y CD66A), receptores de adherencia (CD11B y CD18) e inhibidores de complemento (CD55) (74).

El fenotipo proinflamatorio de los neutrófilos orales de la periodontitis se confirmó mediante una degranulación elevada, fagocitosis, producción de ROS y formación de NETs. En salud oral, los autores observaron dos poblaciones diferentes de

neutrófilos orales. Estos diferían en su tamaño de tamaño y granularidad, en su expresión de marcadores de diferenciación específicos, producción de ROS y formación de NETs.

De acuerdo a estudios realizados mediante citometría de flujo y correlación de genes, los histogramas y mapas de calor (Heat map) muestra que el fenotipo oral del neutrófilo presente solo en salud tenía un perfil de dispersión hacia adelante y un perfil de dispersión lateral similar a los neutrófilos de la sangre, y estas células estaban en un estado inferior de activación (Fig.14). Al mismo tiempo, la otra población más activada mostró una expresión más alta de CD55 y CD63, mientras que había disminuido niveles de receptor inhibitorio CD170 y CD16 (74,89).

Recientemente, en 2018, un grupo de investigadores informó que la expresión de la superficie de CD63, CD11b, CD16 y CD14 indica un estado de activación en neutrófilos orales, ya que la presencia de estos marcadores implica procesos de reconocimiento de la degranulación, adhesión y reconocimiento de antígenos. Encontraron que la activación oral de neutrófilos se redujo en la gingivitis experimental a pesar de los números de células más altos, en comparación con los observados en la salud y durante la fase de resolución. Los neutrófilos circulatorios, por otro lado, se demostraron que se activaron durante la gingivitis, como lo muestra los marcadores CD55, CD63, CD11b y CD66a.

Otro grupo de investigadores dirigido por Nicu y Loos, también han estado investigando los neutrófilos orales por sus marcadores de superficie. Ellos describieron que los neutrófilos orales de los donantes en salud sin estimulación adicional estaban más activadas que los neutrófilos circulatorios, como lo indica una mayor expresión de CD11b, CD63 y CD66b, y una activación elevada de ROS de manera constitutiva. Los autores concluyeron que los neutrófilos orales están en una etapa más madura de su ciclo de vida en comparación con los neutrófilos de la sangre periférica, pero que todavía son capaces de responder a la estimulación. Posteriormente fueron publicados datos sobre neutrófilos orales de pacientes con periodontitis e informaron que CD11b se elevó en estos neutrófilos en comparación con los de los controles saludables (74,88)

Se está volviendo cada vez más evidente que lejos de ser una población celular homogénea, los neutrófilos muestran un vasto grado de plasticidad y heterogeneidad dentro de una amplia gama de escenarios fisiológicos y patológicos (81). En futuros estudios, estas directrices pueden ayudar a que los datos de diferentes grupos de investigación sean más comparables e informar sobre los nuevos fenotipos y subconjuntos de neutrófilos que pueden ayudar a utilizarse como objetivos en la investigación universal y plantear nuevas posibilidades terapéuticas (74,77) .

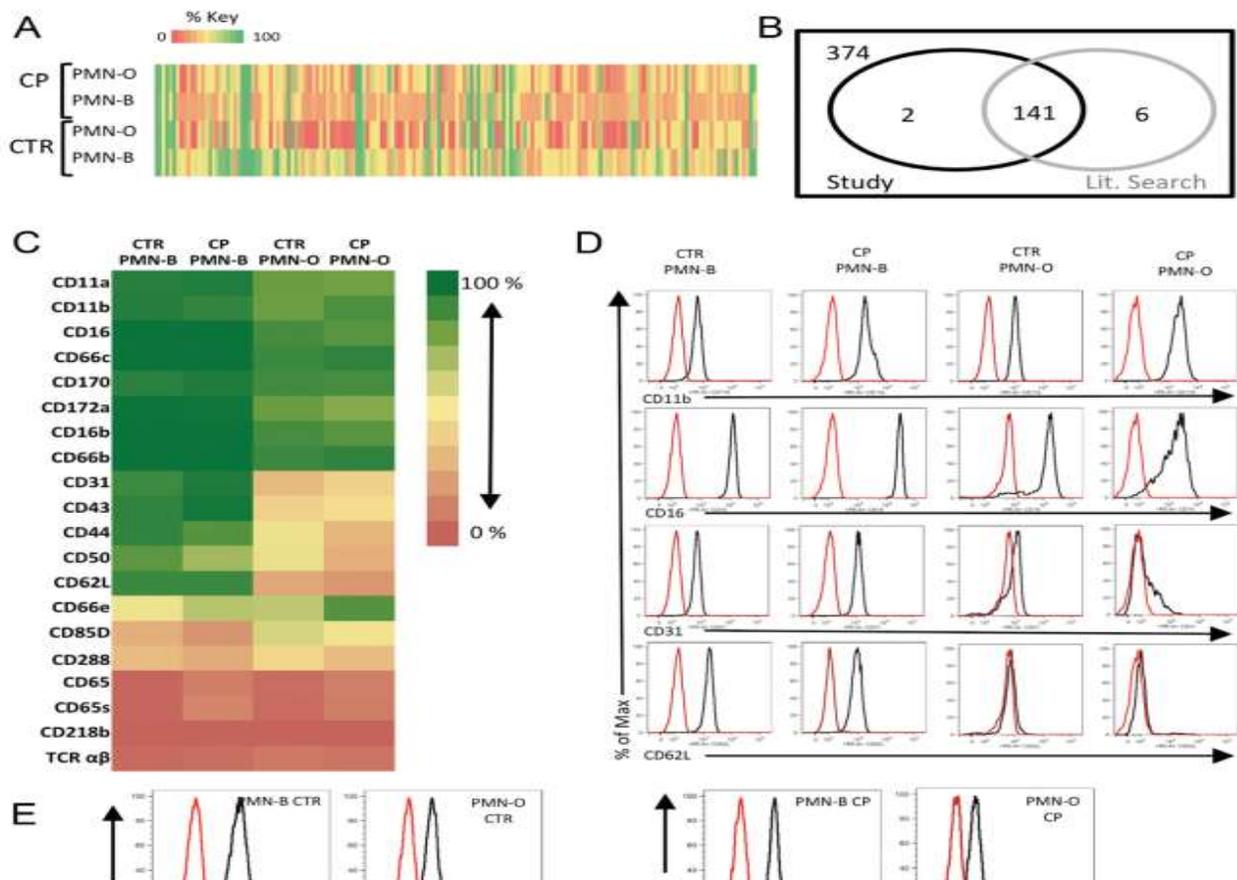


Fig.14 La diversidad de marcadores de superficie de neutrófilos depende de la fuente y la salud del tejido. (A) El mapa de calor (Heat map) de la pantalla inicial de los 374 marcadores de CD conocidos usando HTS – FLUJO Citometría de sangre y neutrófilos orales Aislados de pacientes sanos y CP. (B) Podríamos confirmar la expresión de 145 marcadores de superficies en neutrófilos en circulación o muestras de enjuague oral; Una extensa búsqueda de literatura revela que los marcadores de CD se informaron anteriormente que se expresaron anteriormente en neutrófilos en diferentes estados de activación. (C) por ciento Los perfiles de expresión de marcadores positivos se muestran en un formato de mapa de calor para un conjunto representativo de 20 marcadores de superficie en neutrófilos de sangre y enjuague oral en salud y CP Los pacientes revelan el grado de diferencias entre las fuentes de neutrófilos. (D) Ejemplos de histogramas de marcadores de superficie celular utilizados comúnmente para aislar los neutrófilos (119).

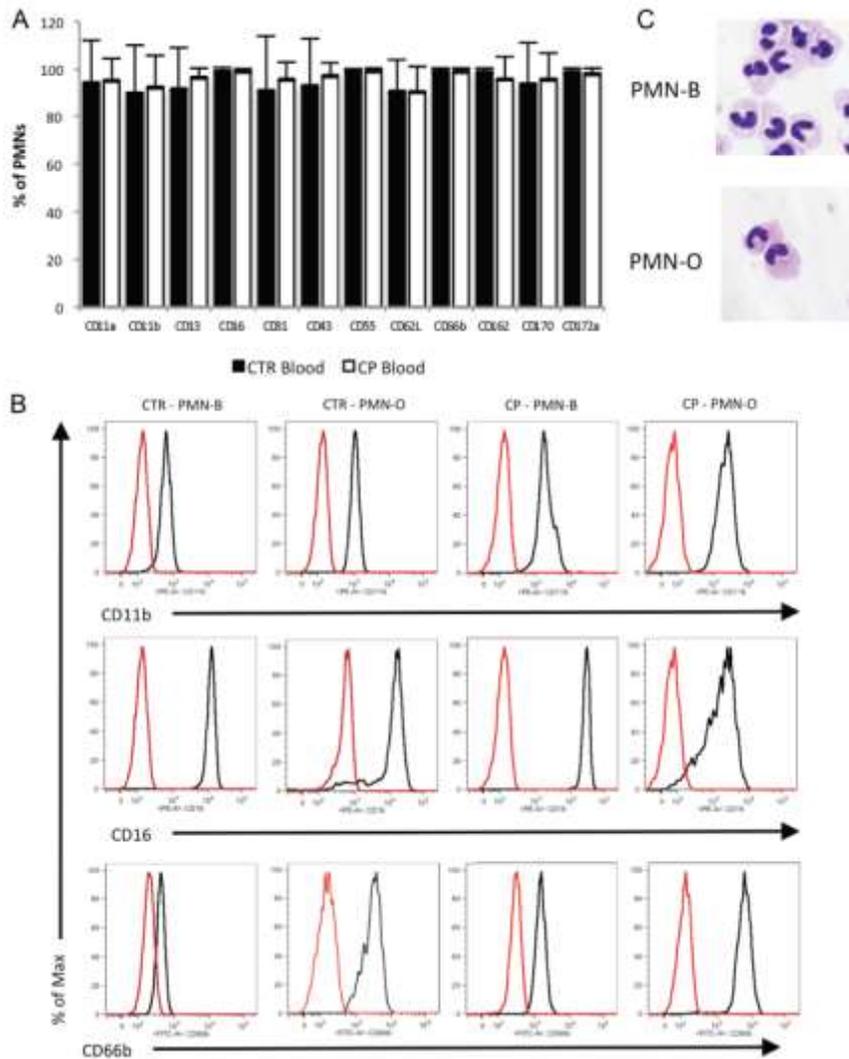


Fig.15 Clasificación de células con un anticuerpo contra CD11B, CD16 y CD66B permitió el enriquecimiento de neutrófilos maduros altamente puros en la sangre (a) cuantificación de la evaluación citométrica de flujo de los neutrófilos de la sangre de pacientes de periodontitis sano y crónica (expresadas como% de las células XVI) (B) Flujo de parcelas citométricas de un análisis representativo de la sangre y neutrófilos orales de pacientes sanos y CP después del aislamiento celular. Los marcadores seleccionados se expresan altamente en los neutrófilos independientemente de las condiciones inflamatorias. La expresión CD11b, CD16 y CD66B (NEGH) se superponen en mAbs de control de isotipo (en rojo). (C) Preparaciones de citospina de cada células clasificadas basadas en la expresión de CD11b β , CD16 β and CD66B β para que cada compartimento se visualizaron con la tinción diff-quiet para confirmar la pureza de las muestras (119).

5.2.3 Subpoblaciones de neutrófilos con diferentes tiempos de supervivencia

Una vida útil más prolongada de los neutrófilos puede dar inicio a que los neutrófilos experimenten cambios fenotípicos y funcionales que pueden explicar la heterogeneidad de los neutrófilos (90). Se encontró que existen subpoblaciones de

neutrófilos humanos con un fenotipo característico, que muestran la expresión de moléculas HLA-DR (antígeno leucocitario humano DR), CD80 y CD49d, que se caracterizan por una supervivencia prolongada de hasta 72 horas. Estas células componen del 8 al 17% de los neutrófilos no apoptóticos que producen cantidades significativas de aniones superóxido y leucotrienos. Los neutrófilos que sobreviven durante mucho tiempo muestran un índice fagocítico elevado y una mayor adhesión, así como una capacidad limitada para la quimiotaxis y exocitosis de los gránulos primarios y secundarios. (82)

La investigación ha demostrado que la estimulación de neutrófilos (aislados de sangre humana) con GM-CSF, TNF- α e IL-4, los cuales existen en la inflamación, conduce a la generación de subpoblaciones de neutrófilos de larga vida. Esto da como resultado que estas subpoblaciones produzcan cantidades significativas de IL-8, antagonista del receptor de IL-1 e IL-1b (91). Esta subpoblación recién descubierta de neutrófilos humanos se caracteriza por un perfil único de fosforilación de moléculas de señalización intracelular. Las investigaciones demostraron una participación de las quinasas de la vía PI3K en la extensión de la supervivencia de las subpoblaciones de neutrófilos identificadas. Los resultados de estos estudios sugieren que los neutrófilos son capaces de cambiar de un fenotipo "clásico" a un "neutrófilos de larga vida" según las condiciones ambientales del huésped (91).

5.2.4 Subpoblaciones de neutrófilos con funciones antigénicas y regulatorias

Los neutrófilos son un elemento importante del sistema inmunológico innato, aunque recientemente también se reconoce su papel como células reguladoras y efectoras en los mecanismos de inmunidad innata (7,92).

Las propiedades originales y preexistentes del neutrófilo lo convierten en una célula esencial en la transición entre la inmunidad innata y adquirida. Por ejemplo, aproximadamente un 5 a 8% de la subpoblación de neutrófilos sanguíneos porta inmunorreceptores similares a TCR cuya activación aumenta su supervivencia y

estimula la producción de IL-8 (93). La utilidad de esta función del neutrófilo frente a un antígeno específico es su rapidez de respuesta, lo que permite esperar el relevo de la respuesta clásica de los linfocitos T frente a los antígenos. El neutrófilo también puede, a través de la producción de quimiocinas específicas como CCL3, CCL4, CCL5 (RANTES), CCL20 (MIP-3 α) o factores como defensinas, facilitar el reclutamiento local y la activación de células dendríticas y linfocitos T, permitiendo así una respuesta inmune completa y adaptativa (94–96)

5.2.4.1 Neutrófilos como células presentadoras de antígenos (APCs)

Estas funciones de presentación antigénica ya no son exclusivas de células dendríticas, sino también de los neutrófilos, ya que se ha demostrado que tienen la capacidad para transformarse, transdiferenciarse y reprogramarse a sí mismos, lo cual muestra su notable flexibilidad de adaptación y su eficacia.

La fagocitosis de un microorganismo por neutrófilos activa fuertemente el metabolismo celular, las quimiocinas y citocinas liberadas por las células en el sitio inflamatorio activarán al neutrófilo que permitirá preparar un péptido antigénico específico gracias al sistema endosomal de esta célula (97).

El neutrófilo en reposo expresa solo moléculas de MHC de clase I, mientras que el neutrófilo activado en presencia de IFN- γ , GM-CSF, TNF- α , IL-4 cambiará y expresará MHC de clase II en su superficie, además de CD83, CD40 y CCR6, así como moléculas de coestimulación CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2); criterios que definen una célula dendrítica (40).

La subpoblación de neutrófilos que expresan el coestimulador B7-1 (CD80) depende de los linfocitos CTL ya que están involucradas en la movilización de estos neutrófilos. Esta subpoblación de neutrófilos demostró participar en la maduración de CTL, la cual está mediada por IL-12 y que es expresada después de la inmunización con células tumorales alogénicas (98). Mescher y col. han informado de que se requieren al menos tres señales para que se induzca la respuesta de

CTL: la señal específica del antígeno (a través de la interacción TCR / MHC), la activación de moléculas coestimuladoras de contacto (CD28 / CD80) y la producción de citocina IL-12 (99).

En la respuesta inmune ante los microorganismos patógenos, las tres señales se integran a nivel de APC especializadas que son, por regla general, células dendríticas; sin embargo, estas señales parecen ser generadas también por APCs similares a neutrófilos (98). Además, también se ha descrito que los neutrófilos también conservan la capacidad de adquirir las funciones y marcadores de las células dendríticas hasta las etapas finales de diferenciación (100).

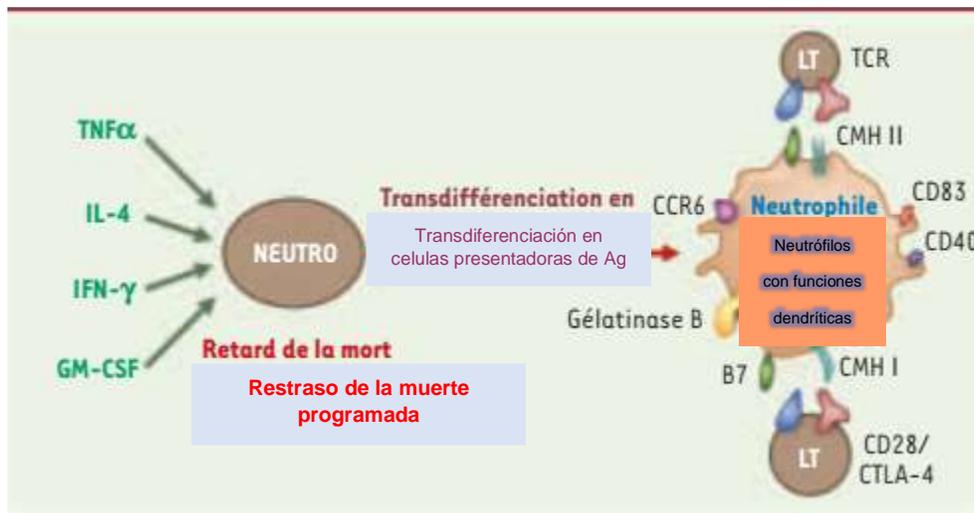


Fig. 16 Tomada y modificada de (40) La imagen muestra la transdiferenciación del neutrófilo en una célula presentadora de antígeno. La estimulación del neutrófilo por diferentes citocinas, como GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos / macrófagos), TNF α (factor de necrosis tumoral α), IL-4 (interleucina-4) e IFN- γ (interferón γ), permitirá, por un lado, el retraso en la muerte programada del neutrófilo y, por otro lado, la desviación del fenotipo funcional del neutrófilo hacia el de una célula presentadora de antígeno (Ag). Este cambio de fenotipo está asociado a la expresión, por parte de los neutrófilos afectados, de marcadores de tipo "dendrítico" como las moléculas MHC II (complejo principal de histocompatibilidad de clase II) HLA-DR, CD40, CD83, CCR6 y el B7-1 y moléculas coestimuladoras B7-2 (CD80 y CD86). Esta célula "transdiferenciada" puede activar directamente los linfocitos T a través de la interacción de TCR (receptor de células T) con MHC y moléculas coestimuladoras. Además, puede expresar y secretar gelatinasa B, cuyo beneficio es disolver la matriz extracelular, facilitando así la migración de otras células.

5.2.4.2 Neutrófilos inmunorreguladores

Se ha descubierto que los neutrófilos son capaces de producir IL-10 y que tienen un papel supresor insospechado durante la infección microbiana aguda y crónica durante una infección bacteriana, micótica o parasitaria (101). Estos neutrófilos supresores controlan la respuesta inflamatoria de las células dendríticas, los monocitos, los macrófagos y células Th (102,103).

La identificación de este subconjunto de neutrófilos humanos productores de IL-10 presentes en el sitio de inflamación es inducida por LPS que induce activación de células Treg específicas y promueven la generación de neutrófilos productores de IL-10. Las células Treg con LPS o mAbs anti-CD3/CD28 da como resultado la regulación positiva de la molécula de adhesión 1(ICAM-1); sin embargo, la activación de TCR tiene un efecto mayor. La posterior incubación de células Treg pretratadas con neutrófilos dio como resultado una expresión superficial diferencial de CD11b. La regulación a la baja de CD11b en neutrófilos incubados con células Treg estimuladas con LPS podría ser el resultado de la inducción de la apoptosis de neutrófilos (104). Los experimentos de bloqueo confirman que tanto CD11b en neutrófilos como ICAM-1 en células Treg estimuladas con LPS están involucradas en interacciones entre células Treg y neutrófilos que contribuyen a la inducción de la producción de IL-10 y la apoptosis (105).

También es útil recordar que el neutrófilo inflamatorio también es un importante proveedor de lípidos bioactivos (ejemplo: LTB₄, PAF) directamente asociados con la regulación de las funciones inmunes (94,106). La maduración dendrítica provocada por el neutrófilo dirige la proliferación de linfocitos T hacia Th1 (106). Además, la interacción neutrófilo-célula endotelial permite limitar la adhesión de los linfocitos y su papel en la respuesta inmune avanzada, este efecto está ligado a la inhibición por el neutrófilo de la expresión de VCAM-1 por la célula endotelial. Finalmente, el contacto neutrófilo-linfocito T en el sitio inflamatorio estimula al neutrófilo y podría participar en la regulación de la reacción local (107).

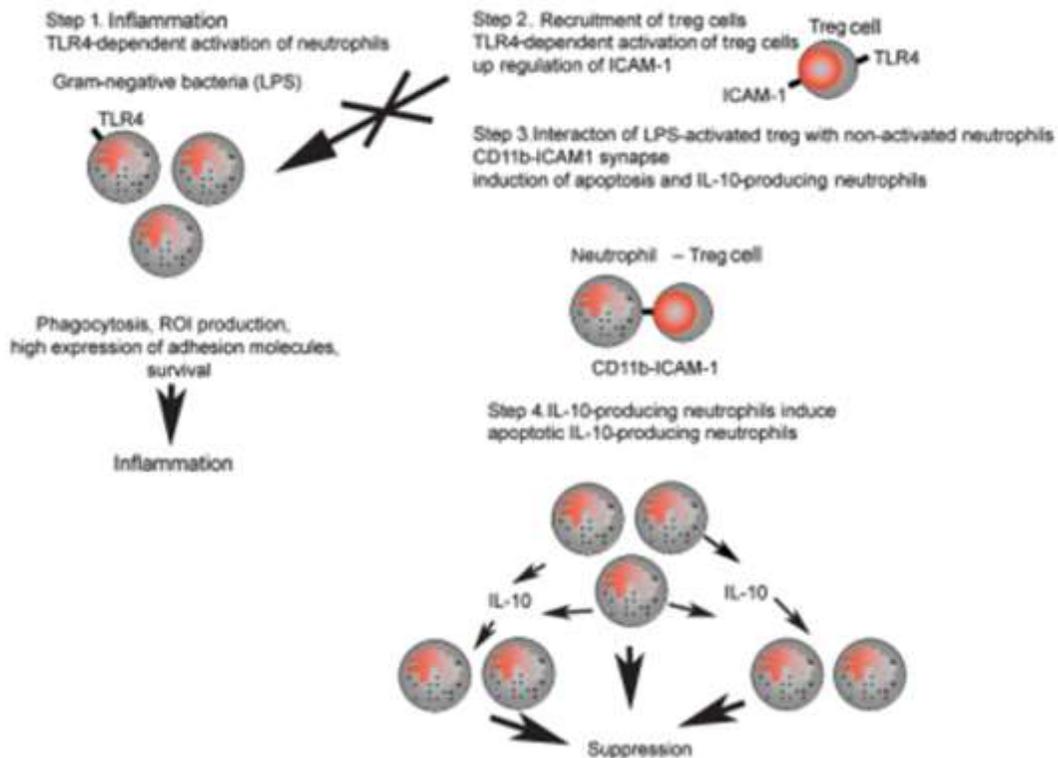


Fig. 17 El papel de los neutrófilos y las células T reguladoras (Treg) en la inflamación inducida por lipopolisacáridos (LPS) y su posterior supresión. Al principio, el LPS induce las funciones efectoras y la supervivencia de los neutrófilos facilitando la eliminación de bacterias. A continuación, las células Treg reclutadas en el sitio de la inflamación son activadas por LPS y posteriormente interactúan con los neutrófilos recién migrados proporcionando una señal inhibitoria. Como consecuencia, los neutrófilos producen interleucina (IL) -10 y sufren apoptosis. La IL-10 liberada por los neutrófilos, en forma de bucle de retroalimentación positiva, induce la producción de IL-10 y la apoptosis en otros neutrófilos. La reacción podría continuar hasta que todos los neutrófilos se transformen en cuerpos apoptóticos, facilitando la posterior fagocitosis por macrófagos y la resolución de la inflamación. Es importante señalar que las células Treg estimuladas con LPS tienen un efecto inhibitorio solo cuando interactúan con neutrófilos no activados. La activación previa de neutrófilos con LPS los insensibiliza a la influencia de las células Treg. ICAM-1, molécula de adhesión intercelular 1; ROI, intermedios de oxígeno reactivo; TLR, receptor tipo Toll ⁽⁹⁶⁾.

5.2.5 Subpoblaciones de neutrófilos de baja densidad

La centrifugación de sangre en el gradiente de densidad permite el aislamiento de dos fracciones de neutrófilos: neutrófilos de baja densidad y neutrófilos de mayor densidad. Los neutrófilos de baja densidad (LDN) sedimentan dentro de la fracción de célula mononuclear de sangre periférica (PBMC) obtenida después de la centrifugación en gradiente de densidad de sangre en pacientes con cáncer o inflamación (108). Los LDN muestran una morfología similar a la de los neutrófilos y expresan CD66b, pero pueden ser heterogéneas. Durante la condiciones

inflamatorias, pueden estar compuestos por poblaciones mixtas de CD11b⁺ CD16⁺ CD11b^{low} / - y / o CD16^{low} / - maduros e inmaduros y su frecuencia a menudo se correlaciona con la gravedad de la enfermedad y / o la respuesta al tratamiento. Se desconoce por qué solo un grupo de neutrófilos maduros de densidad normal se convierte en LDN tras la activación (109–111).

Los LDN inmunosupresores, conocidos como células supresoras granulocíticas derivadas de mieloides (G-MDSC), se han descubierto dentro de la fracción de PBMC de pacientes con tumores sólidos, neoplasias hematológicas y enfermedades inflamatorias (112–114).

Los LDN/G-MDSCsG suprimen la proliferación de células T y/o la producción de interferón (IFN)- γ y se describen como células CD66b⁺ CD15⁺ CD14^{- / dim} CD33^{dim} HLA-DR⁻ (115,116). También pueden expresar niveles elevados o reducidos de marcadores de maduración (CD11b, CD16, CD124 / IL-4R), marcadores de activación (CD66b, CD16, CD11b, CD62L, CD54 / ICAM-1 [molécula de adhesión intercelular 1], CD63, CD274 / PD-L1 [ligando de muerte programada 1]), marcadores funcionales (arginasa 1) o receptores de quimiocinas (CXCR2, CXCR4) (108).

También hay neutrófilos inmaduros derivados de la médula ósea, revelados como células CD10^{low} / -CD16^{low}, movilizados durante infecciones sistémicas graves (117). Otras pruebas identificaron una subpoblación de neutrófilos humanos maduros con una capa de anticuerpos CD11c^{bright} / CD62L^{dim} / CD11b^{bright} / CD16^{bright} como una población circulante única de células mieloides (MDSC) capaz de suprimir la proliferación de células T humanas. Estas células se encontraron en pacientes con inflamación. Algunos investigadores afirman que el mecanismo de inhibición de la proliferación de linfocitos T depende de la expresión de la integrina Mac-1 (antígeno del macrófago 1) y ROS liberada a la sinapsis inmunitaria entre los neutrófilos y las células T, que pueden ser el objetivo de las estrategias de modulación de este fenómeno (118).

VI. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿De qué manera contribuyen los neutrófilos a la salud periodontal?
2. ¿De qué manera contribuyen los neutrófilos en el desarrollo de la enfermedad periodontal a la salud periodontal?
3. ¿Existen distintas subpoblaciones de neutrófilos que estén presentes en tejidos sanos y tejidos con enfermedad periodontal?

VII. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

El periodonto está compuesto por encía, cemento radicular, hueso alveolar y ligamento periodontal y brinda soporte al diente permitiéndole llevar a cabo sus funciones.

Los tejidos periodontales se encuentran constantemente expuestos a diversos microorganismos, tales como bacterias, parásitos, hongos y virus; y cuando éstos se observan clínicamente sanos se debe una homeostasis entre microorganismos simbióticos y las células del sistema inmunológico innato, principalmente neutrófilos.

Los neutrófilos son las primeras células de defensa en entrar en contacto con los microorganismos presentes en la biopelícula dental y son capaces de mantener el equilibrio entre estos elementos. Sin embargo, cuando la respuesta inflamatoria es excesiva y crónica debido a especies periodontopatógenas, existe un incremento en el reclutamiento y activación de los diferentes mecanismos de defensa del neutrófilo; lo que además alarga la vida media de esta célula generando producción y secreción de moléculas proinflamatorias y otras enzimas capaces de degradar los elementos de la MEC del periodonto y destruyéndolos gradualmente conforme progresa la EP.

Recientemente se han descrito diferentes tipos de neutrófilos en condiciones de salud y enfermedad. Por esta razón, es importante describir las diferentes funciones que presentan los neutrófilos en las diferentes etapas de la EP (periodonto sano,

gingivitis y periodontitis) y analizar las diferentes subpoblaciones de neutrófilos con base en la expresión de diversos marcadores de superficie, y así, este trabajo pueda brindar una visión general sobre la heterogeneidad de los neutrófilos y los posibles mecanismos de diversificación y funcionalidad de éstas importantes células en la mucosa oral.

VIII. HIPÓTESIS

Existen diferentes subpoblaciones de neutrófilos en el periodonto. Cada subpoblación presenta diferentes funciones y expresión de marcadores de acuerdo al estado de salud periodontal que presenten los tejidos.

VII. OBJETIVOS

General:

El objetivo de este trabajo es analizar de manera exhaustiva la heterogeneidad de los neutrófilos y las diferentes funciones y mecanismos de respuesta inmunológica que presentan estas células polimorfonucleares (PMN) o neutrófilos en la etiopatogénesis de la enfermedad periodontal, específicamente en gingivitis y periodontitis.

Específicos:

- Describir las características generales de un periodonto sano y con enfermedad periodontal.
- Describir los componentes inmunológicos del periodonto en salud y enfermedad.
- Describir las funciones generales de los neutrófilos y analizar los mecanismos de defensa activados durante el desarrollo de la enfermedad periodontal.

- Analizar la respuesta de los neutrófilos ante la presencia de una microbiota simbiótica y disbiótica en el periodonto.
- Describir y comparar las diferentes subpoblaciones de neutrófilos presentes en pacientes con salud y enfermedad periodontal, de acuerdo con la expresión de marcadores de superficie y moléculas de activación.

X. METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO: Corresponde a un diseño de investigación descriptivo y retrospectivo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de Inclusión:

- Tipos de estudio: Estudios experimentales *in vitro* e *in vivo*.
- Tipos de participantes: Humanos sistémicamente sanos con salud periodontal, gingivitis o periodontitis; y modelos murinos.
- Tipos de tejidos analizados: Tejido periodontal y sangre periférica.
- Periodo: Estudios realizados entre el año 2000 y 2021.

Criterios de Exclusión:

- Tipos de estudios: Revisiones (Reviews and Overviews) y Reporte de casos.
- Tipos de participantes: Humanos con alguna enfermedad sistémica como diabetes, hipertensión, enfermedades autoinmnes u otras.
- Periodo: Estudios realizados antes del año 2000.

ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA:

La metodología que se utilizó en este trabajo es la Revisión Narrativa de literatura, en el que se describieron los resultados y estimaciones subjetivas de un grupo de expertos para apoyar y discutir sus conclusiones.

Se efectuó una amplia búsqueda de literatura científica publicada sobre el tema en revistas indexadas. Todos los artículos se consultaron con fuentes de información bibliográfica electrónicas en PUDMED, WILEY y ScientDirect, utilizando las siguientes palabras clave; "(Periodontal disease) AND (Neutrophils) AND (Neutrophil Heterogeneity)".

GENERACIÓN DE EVIDENCIA:

La descripción y análisis de los datos fue de manera cualitativa, con el fin de resumir y comparar los resultados reportados. No se realizó metaanálisis debido al objetivo de incluir estudios *in vitro* e *in vivo*, y en especial a que el tipo de revisión corresponde a Revisión Narrativa.

IX. RESULTADOS (TABLAS)

Se realizó la búsqueda en Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), Wiley (<https://onlinelibrary.wiley.com/>) y ScienDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) y a través de las siguientes palabras clave obtuvimos lo siguiente:

Buscador	Palabras clave	Numero de resultados
Pubmed (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/)	((Periodontal disease) AND (Neutrophils)) AND (Neutrophil Heterogeneity)	19 resultados
Wiley (https://onlinelibrary.wiley.com/)	((Periodontal disease) AND (Neutrophil heterogeneity))	23 resultados
ScienDirect (https://www.sciencedirect.com/)	(neutrophils) AND (heterogeneity) AND (periodontal disease)	26 resultados (se seleccionaron los siguientes parámetros: "Research Articles" y "Immunology and Microbiology")

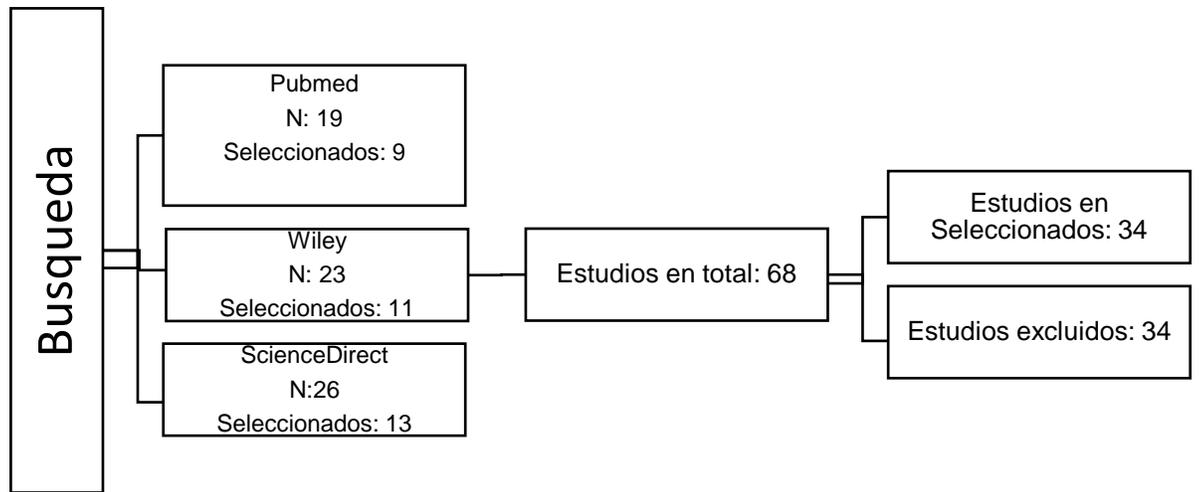


Fig.18 Diagrama de flujo con la descripción de la estrategia de búsqueda, revisión e inclusión de artículos.

Tras la revisión inicial de título y resumen, y con exclusión de duplicados y estudios no experimentales (reviews, protocolos de investigación, carta al editor) se obtuvieron 68 documentos para continuar con la lectura de texto completo, etapa donde se excluyeron 34 estudios. Es importante mencionar que para los primeros dos capítulos también se revisó bibliografía básica y actualizada del área de Periodoncia e Inmunología, los cuales no se consideraron dentro de los resultados de la búsqueda que mencionamos en el diagrama anterior.

De acuerdo a los objetivos de este trabajo, se resumirá la información más relevante en las siguientes tablas.

Características clínicas e histológicas de un periodonto sano y enfermo			
	Características clínicas	Características histológicas	Tratamiento
Periodonto sano	<ul style="list-style-type: none"> • Encía libre es de color rosado coral, de superficie lisa, brillante, de consistencia blanda y móvil. • Margen de la encía libre se ubica sobre la superficie adamantina aproximadamente 0,5-2 mm en dirección coronal del límite cemento-esmalte. • Encía adherida es de color rosado pálido, de consistencia firme y aspecto rugoso. 	<ul style="list-style-type: none"> • Epitelio paraqueratinizado y ortoparaqueratinizado • Escaso vasos sanguíneos en tejido conectivo • Presencia de células poliformonucleares cercanas al epitelio del surco 	FASE 1
Gingivitis	<ul style="list-style-type: none"> • Inflamación • Enrojecimiento • Tumefacción • Hemorragia • Exudado • Dolor (poco frecuente) • Halitosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cambio vasculares (dilatación de vasos) • Aumento de células como macrófagos y neutrófilos • Fluido crevicular es más abundante 	FASE 1, 2 y 3
Periodontitis	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida de inserción clínicamente detectable • Inflamación del ligamento periodontal • Perdida de hueso alveolar • Exudado • Epitelio ulcerado • Presencia de bolsas subgingivales • Movilidad dentaria • Mayor número de ausencias dentarias 	<ul style="list-style-type: none"> • El tejido conectivo es edematoso y se infiltra células plasmáticas (aproximadamente el 80%), linfocitos y una dispersión de neutrófilos • El tejido conectivo muestra diversos grados de degeneración. • El epitelio de unión en la base de la bolsa suele ser mucho más corto que el de un surco normal 	FASE 1, 2 y 3

Componentes inmunológicos en el periodonto			
	Tipo de respuesta (innata/adaptativa)	Funciones en el periodonto sano	Funciones en enfermedad periodontal
Saliva	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Ph neutro (7) • Previene la unión de bacterias en la dentición y las superficies de la mucosa oral • Inhibición de: factores de virulencia específicos, crecimiento de células bacterianas y enzimas destructivas • Neutraliza el peróxido de hidrógeno bacteriano 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la cantidad de proteínas plasmáticas, eritrocitos y leucocitos • Liberación de diferentes enzimas relacionadas con destrucción celular • Cambio en la población microbiana en la placa dentobacteriana
Fluido gingival crevicular	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Ph neutro (7) • Mantenimiento de la integridad oral y de los tejidos • Defensa contra patógeno y enfermedad periodontal. • Protección y adhesión • Mantiene la homeostasis entre las bacterias y el huésped • Fuerzas de desplazamiento que tienden a “barrer” el surco, bajando la población microbiana 	<ul style="list-style-type: none"> • Ph alcalino • Aumento de la producción de fluido crevicular • Liberación de diferentes enzimas relacionadas con destrucción celular • Lleva a una mayor deposición de biopelícula en la bolsa periodontal • Activa la cascada de complemento
Tejidos Epiteliales	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Protege el tejido periodontal • Actúa como barrera contra las bacterias y sus productos • Contiene péptidos antimicrobianos 	<ul style="list-style-type: none"> • El epitelio de unión es permeable y permite el movimiento hacia adentro de los microorganismos. • Hay aumento de GCF. • Se producen citocinas y estimulan a los neutrófilos para que produzcan neuropéptidos, que provocan la vasodilatación. • La necrosis de las células epiteliales que se encuentra más distantes de los tejidos conectivos puede provocar hendidura y divisiones intraepiteliales, que contribuyen a las primeras etapas de la formación de la bolsa periodontal.

Células del sistema inmune en tejidos periodontales			
Tipo de célula	Tipo de respuesta (innata/adaptativa)	Funciones en el periodonto sano	Funciones en enfermedad periodontal
Linfocitos T	Inmunidad adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Son responsables del sistema inmunitario mediado por células • Controlan el crecimiento de células tumorales y proveen una auto-tolerancia • Respuesta frente a un antígeno o sustancia extraña particular 	<ul style="list-style-type: none"> • Existe un desbalance entre células Treg y células efectoras tipo Th17 • Aumento de Linfocitos T • Aumenta la pérdida ósea alveolar
Linfocitos B	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Son responsables del sistema inmunitario mediado por anticuerpos • Reconocen las moléculas antigénicas de los patógenos. • Fagocitosis • Producen exocitosis de mediadores y citotoxinas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Los linfocitos B son predominantes en infecciones orales. • Promueven la inflamación en la periodontitis • Contribuyen a la destrucción ósea periodontal.
Células Plasmáticas	Inmunidad adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Procesan moléculas bioactivas, (citoquinas, las hormonas, las defensas, las moléculas de adherencia y los factores de crecimiento) • Producen anticuerpos. • Combaten infecciones. 	<ul style="list-style-type: none"> • Las células plasmáticas son más predominantes. • Contribuye a la degradación de las estructuras de tejido conectivo en la periodontitis • Destrucción del tejido mediada por MMP contribuya a la degradación de la matriz en la periodontitis • Alteran la homeostasis
Mastocito	Inmunidad innata	<ul style="list-style-type: none"> • Defensa del huésped • Reparación de tejidos • Juegan un papel clave en el control de la inflamación local • Cicatrización de heridas • Reacciones a cuerpos extraños 	<ul style="list-style-type: none"> • Liberan una gran cantidad de mediadores • Asociados con la degradación crónica del tejido periodontal • Expresión de MMP que puede participar en la destrucción de tejidos en la periodontitis

Macrofago	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Fagocitosis de microorganismos y algunas células. • Eliminación de células viejas, detritus y cuerpos extraños. • Regulación de hematopoyesis. • Interacción bidireccional con linfocitos. • Presentación de antígenos para la respuesta inmune específica. • Secreción de más de 100 productos biológicamente activos. • Actividad antitumoral 	<ul style="list-style-type: none"> • Los principales contribuyentes a la degradación de los tejidos • Producción de mediadores inflamatorios que contribuyen a la destrucción del hueso. • Pueden ser proinflamatorios
Células dendríticas	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Presenta antígenos e induce a los linfocitos a iniciar la respuesta inmune. • Capturan y procesan antígenos. • Elimina el patógeno y repara el daño tisular • Alta capacidad fagocítica 	<ul style="list-style-type: none"> • Capturar antígenos y aumentando la expresión de moléculas de superficie, con lo que adquieren la posibilidad de activar linfocitos T • Los patógenos periodontales afectan la función de las CD gingivales y su capacidad para preservar la homeostasis
Neutrófilo	Inmunidad innata y adaptativa	<ul style="list-style-type: none"> • Primera línea de defensa • Mantenimiento de la homeostasis • Vinculan las respuestas inmunes innatas y adaptativas para promover la resolución de la inflamación y la cicatrización de heridas 	<ul style="list-style-type: none"> • Contribuye a la ruptura del epitelio de unión • Neutrófilos supernumerarios, hiperactivos o desregulados pueden causar daño a los tejidos conectivos • Evocan el sangrado gingival frecuente • Contribuye a la iniciación de la resorción ósea • Estimulan el estado de inflamación y promover su persistencia en periodontitis

Tipo de gránulos en neutrófilos		
	Contenido	Funciones
Gránulos azurófilos (primarios)	<ul style="list-style-type: none"> Múltiples proteínas antimicrobianas, incluidas enzimas productoras de oxidantes como MPO, proteasas como azurocidina, catepsina G, elastasa y proteinasa 3 (PR3), y permeabilizantes de membrana Proteínas como la lisozima, la proteína que aumenta la permeabilidad bacteriana y las defensinas 	<ul style="list-style-type: none"> Principal gránulo microbicida de los neutrófilos. Lisis y digestión del microorganismo.
Gránulos específicos (secundarios)	<ul style="list-style-type: none"> Enzimas que degradan MEC, que son la colagenasa y plasmina. Moléculas reguladoras de disponibilidad de Fe (Apo-lactoferrina) y Cu (proteína transportadora de vit. B₁₂) para el metabolismo de las bacterias En su membrana hay receptores para el C3bi (C3b inactivado), FMLP (Formil Metionil Leucil Fenilalanina), laminina (relacionada con la adherencia, la migración y la opsonización) 	<ul style="list-style-type: none"> Estos gránulos presentan un doble propósito: <ul style="list-style-type: none"> a) Transportar proteínas necesarias para la extravasación y migración de neutrófilos b) Función antimicrobiana que evita el crecimiento de microorganismos en los tejidos.
Gránulos de gelatinasa (gránulos terciarios)	<ul style="list-style-type: none"> Enzimas que degradan MEC, como la gelatinasa, y receptores de membrana que incluyen CD11b / CD18, CD67, CD177, receptor quimioatrayente del péptido N-formilo (fMLF-R) Proteína de membrana secretora asociada a transportador (SCAMP) Proteína de membrana asociada a vesículas 2 (VAMP2) 	<ul style="list-style-type: none"> Importantes en las primeras fases de las respuestas inflamatorias y extravasación de neutrófilos en tejidos inflamados
Gránulos ricos en Ficolin-1	<ul style="list-style-type: none"> Albúmina sérica humana, CR1, vanina-2 (VVN2) Antígeno asociado a la función linfocitaria (LFA-1) Varias proteínas de unión al citoesqueleto 	<ul style="list-style-type: none"> Intervienen principalmente en la locomoción de los neutrófilos Adhesión firme y la migración transendotelial
Vesículas secretoras (VS)	<ul style="list-style-type: none"> Proteínas transmembranales necesarias para la extravasación y para la fagocitosis, específicamente el receptor formilpéptido 1 (fPR1) Integrina Mac-1, los receptores fagocíticos CD16 y CR1 Receptores de quimiocinas y citocinas, incluido receptor 2 de quimiocinas con motivo C-X-C (CXCR2). 	<ul style="list-style-type: none"> Extravasación Quimiotaxis Fagocitosis.

Marcadores de superficies de neutrófilos

Marcadores de superficies de neutrófilos	Tipo de marcador	Función del marcador de superficie.	Origen de los neutrófilos	Referencia
CD10	Membrana metalo-endopeptidasa	<ul style="list-style-type: none"> • Escinde péptidos • Inactiva varias hormonas peptídicas. • Involucrado en la degranulación de neutrófilos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,119)
CD11a, CD11b	Subunidades de integrina Alpha L y Alpha M	<ul style="list-style-type: none"> • Media la adherencia de los neutrófilos a la fagocitosis del endotelio estimulada de partículas recubiertas de complemento • Degranulación. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos murinos • Neutrófilos humanos 	(80,105,119)
CD11c	Subunidad de integrina a y X, CR4	<ul style="list-style-type: none"> • Funciones análogas a las del CD11b. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,100,106,119)
CD13	Aminopeptidasa N, APN, gp150	<ul style="list-style-type: none"> • Modula la eficacia de la apoptosis inducida por TNF-α en neutrófilos. • Esta involucrado en la migración de neutrófilos y / o agregación homotípica. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,119)
CD14	Receptor de LPS	<ul style="list-style-type: none"> • Actúa como un correceptor que se une LPS • Recluta neutrófilos a los complejos CD14-LPS en las células epiteliales mamarias. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos bovinos 	(20,33)
CD16	FC Fragmento de receptores de baja afinidad IgG IIIA	<ul style="list-style-type: none"> • Fagocitosis • aclaramiento de complejos antígeno-anticuerpo. • FcγRIIIb se expresa en neutrófilos y IIIb 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos • Eosinófilos activados 	(79,119)
CD18	Subunidad de integrina beta 2	<ul style="list-style-type: none"> • Se combina con múltiples cadenas alfa diferentes para permitir la adhesión celular • Señalización mediada por la superficie celular durante las respuestas inmunitarias • Migración celular. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos murinos 	(20,106,119)

CD31	Molécula de adherencia celular plaquetaria/ endotelial 1 [PECAM-1]	<ul style="list-style-type: none"> Regulación de las interacciones neutrófilo-endoteliales. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos murinos 	(20,83,84,119)
CD32, CD32a	Fragmento FC de los receptores de baja afinidad IgG II	<ul style="list-style-type: none"> Fagocitosis Aclaramiento de complejos antígeno-anticuerpo Se encuentra en células fagocíticas y (general) Ila co-regula la degranulación Se expresa en células B y FcγRIIc en una variedad de células inmunes. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,119)
CD33	Proteína transmembrana tipo I de 67 KD	<ul style="list-style-type: none"> Inhibición del flujo de Ca²⁺ Crecimiento celular Apoptosis Liberación de citocinas. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos Neutrófilos murinos 	(111,112,116)
CD35	Complemento C3B / C4B Receptor 1	<ul style="list-style-type: none"> Receptores de activación del complemento Unión celular a partículas y complejos inmunes que tienen complemento activado Degranulación de neutrófilos 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,65)
CD43	95-135 kD; sialomucina	<ul style="list-style-type: none"> Regula la interacción neutrófilo endotelio 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,119)
CD44	De 80 a >100 kD, muy glucosilada	<ul style="list-style-type: none"> Se une al hialuronano Regula la interacción neutrófilo endotelio 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos (inflamación) 	(20,119,122)
CD46	Membrana de proteólisis (MCP)	<ul style="list-style-type: none"> Regula la interacción neutrófilo endotelio Activación del complemento 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,119)
CD50	ICAM-3	<ul style="list-style-type: none"> Regula la interacción neutrófilo endotelio 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos murinos 	(22,119)
CD55	Factor de aceleración de decadencia para el complemento	<ul style="list-style-type: none"> Regula la cascada del complemento. Unión a las proteínas del complemento acelera su descomposición, interrumpiendo así la cascada y reduciendo el daño a las células huésped. Involucrado en la degranulación de neutrófilos 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,119)

CD62L	Molécula de adherencia de leucocito (LAM)	<ul style="list-style-type: none"> • Se une a CD34, GlyCAM • Media interacciones rodantes con el endotelio 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,22, 119)
CD63	Tetraspanin-30	<ul style="list-style-type: none"> • Media la transducción de señales en la regulación del desarrollo celular • Crecimiento, motilidad, y la activación • Degranulación • Forma complejos con integrinas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(22)
CD64	FcγRI	<ul style="list-style-type: none"> • Receptor de afinidad alta por IgG, • Se une a IgG3 > IgG1 > IgG4 >>> IgG2 • Media fagocitosis 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(22)
CD66a	Glucoproteína biliar-1 (BGP-1)	<ul style="list-style-type: none"> • Es el homólogo humano de Cell-CAM • Célula relacionada con antígeno carcinoembrionario • Media interacciones intercelulares homofílicas • Activación de células inmunitarias 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos • Neutrófilos murinos 	(22)
CD66b	CGM6	<ul style="list-style-type: none"> • Célula relacionada con antígeno carcinoembrionario • Regulación de la actividad adhesiva de CD11/CD18 mediante la transducción de señales en neutrófilos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(22)
CD85a	LILRB3	<ul style="list-style-type: none"> • Marcador de activación 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos (inflamación) 	(119)
CD88	Receptor C5A	<ul style="list-style-type: none"> • Función en inflamación inducida por el complemento 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,22, 119)
CD89	Fragmento FC del receptor IgA	<ul style="list-style-type: none"> • Interactúa con objetivos opsonizados con IgA • desencadena la fagocitosis • Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos • Liberación de mediadores inflamatorios y la degranulación de neutrófilos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,22, 119)
CD114	Receptor del factor estimulante de colonias-3 (CSF 3)	<ul style="list-style-type: none"> • Implicado en todos los estadios de diferenciación de granulocitos 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,22, 119)
CD116	GM-CSFRα	<ul style="list-style-type: none"> • Receptor de quimiocinas 	<ul style="list-style-type: none"> • Neutrófilos humanos 	(20,22, 119)

CD122 + CD132	Subunidades funcionales de IL-15r	<ul style="list-style-type: none"> Fagocitosis 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(119)
CD132	Subunidad del receptor de interleucina-2 gamma / cadena gamma del receptor de citocina común	<ul style="list-style-type: none"> Receptor de quimiocinas 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)
CD147	M6, neuropelina, EMMPRIN, basigina, OX-47	<ul style="list-style-type: none"> Mejora la quimiotaxis y función del neutrófilo 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)
CD162	PSGL-1	<ul style="list-style-type: none"> Regula la interacción neutrófilo endotelio 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos (inflamación) 	(20,22,19)
CD170	Ajuste de ácido siálico Ig-Lectina 5	<ul style="list-style-type: none"> Inhibe la activación de varios tipos de células incluidos los neutrófilos, que participan en la adhesión celular Degranulación de los neutrófilos. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)
CD177	NB1, PRV-1, HNA-2a	<ul style="list-style-type: none"> Marcador de activación Indicador de los PMN orales incorporados en biopelículas orales. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(83,86)
CD181	Receptor tipo 1 de IL-8	<ul style="list-style-type: none"> Mejora la quimiotaxis y función del neutrófilo 	Neutrófilos humanos	(20,22,19)
CD182	Receptor tipo 2 de IL-8	<ul style="list-style-type: none"> Receptor de quimiocinas 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)
CD217	IL-17R, CTLA-8	<ul style="list-style-type: none"> Receptor de quimiocinas 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos (inflamación) 	(20,22,19)
CD147	M6, neuropelina, EMMPRIN, basigina, OX-47	<ul style="list-style-type: none"> Mejora la quimiotaxis y función del neutrófilo 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)
CD282	Toll like receptor 2, TIL4	<ul style="list-style-type: none"> Receptor tipo Toll 2 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos murinos 	(20,22,19)
fMLPR (FPR)	Receptor de péptidos de formilo	<ul style="list-style-type: none"> Mejora la migración y degranulación de neutrófilos. 	<ul style="list-style-type: none"> Neutrófilos humanos 	(20,22,19)

X. DISCUSIÓN

El periodonto normal es un conjunto de componentes que proporciona el soporte necesario para mantener los dientes en función. Consta de cuatro componentes principales: encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. Cada uno de estos componentes periodontales es distinto en su ubicación, tejido, arquitectura, composición bioquímica y composición química, pero funcionan juntos como una sola unidad.(1)

En un periodonto sano la encía libre es de color rosado coral, de superficie lisa, brillante, de consistencia blanda y móvil y el surco gingival mide de 0.5 a 3 mm. La encía consiste histológicamente en un revestimiento continuo de epitelio escamoso estratificado con algunas áreas del epitelio externo gingival ortoqueratinizadas y otras áreas paraqueratinizado, además de una membrana basal y tejido conectivo o lámina propia. (3) En estos tejidos encontramos a los diferentes componentes tisulares y celulares responsables de mantener la homeostasis con los microorganismos presente en la biopelícula oral.

La cavidad oral es una área de nuestro cuerpo que está fuertemente colonizada por una microbiota formada por más de 700 especies, por lo que su interacción con el sistema inmune es esencial (12,14,73). La interacción entre la microbiota simbiótica oral y los neutrófilos es un determinante clave del estado de salud oral, ya que esta interacción está estrictamente controlada y regulada para prevenir daño tisular; sin embargo, cuando existe una microbiota disbiótica o alterada en la cavidad oral, esta será responsable del desarrollo de las enfermedades orales más comunes: caries, gingivitis y periodontitis (14).

Los neutrófilos están presentes en condiciones de salud periodontal y patrullan en el epitelio de unión de manera constante, por lo que histológicamente, siempre observaremos la presencia de presencia de neutrófilos cercanos al epitelio del surco. Sin embargo, cuando existe inflamación, la tasa de migración hacia los tejidos gingivales y el porcentaje de los neutrófilos incrementa (74)

La enfermedad periodontal comienza con gingivitis, donde se observa inflamación localizada de la encía que es iniciada por bacterias de la biopelícula y si esta no es diagnosticada y tratada adecuadamente progresa a una periodontitis que se define como “una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos específicos o grupos de microorganismos específicos, que da como resultado la destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con una mayor formación de profundidad de sondaje, recesión o ambos”

Histológicamente la enfermedad periodontal se desarrolla en diferentes fases (lesión inicial, temprana, establecida y avanzada) (1), donde se inicia la formación de una hendidura intraepitelial por el aumento de la permeabilidad del epitelio del surco y trae consigo una migración de neutrófilos, células plasmáticas, células T y B. En la lesión inicial y temprana la respuesta inmune debe establecer una relación simbiótica entre el hospedero y la microbiota, que sea capaz de proporcionar una secuencia ordenada de eventos coordinados para proteger de infecciones y minimizar el daño a los tejidos.

Dentro de los principales componentes celulares, tenemos a los neutrófilos, uno de los leucocitos responsables de mantener dicha homeostasis. Las funciones principales de los neutrófilos son fagocitosis, producción de ROS, degranulación y NETosis. Sin embargo, en los últimos años se les han atribuido funciones de presentación antigénica e inmunorregulatorias.(40)

Es importante recordar que los neutrófilos presentan diferentes estados de maduración y activación si éstos se encuentran circulando en torrente sanguíneo o dentro de los tejidos. Los neutrófilos circulantes existen en un estado relativamente inactivo y su activación está regulada dinámicamente y progresa desde un estado inactivo a un estado intermedio "cebado" a medida que transmigran al sitio de infección o lesión y encuentran niveles bajos de citocinas inflamatorias (TNF - α , GM - CSF, IL - 1β), quimioatrayentes (C5a, fMLF PAF, LTB4) o agonistas de TLR (LPS, flagelina, lipopéptidos). El cebado aumenta la capacidad microbicida de los neutrófilos al mejorar la producción de ROS que genera la activación de la enzima

generadora de superóxido, la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa. (79)

Otra de las maneras de activación de los neutrófilos ocurre con la formación de NET, la cual puede ocurrir a través de una forma independiente o dependiente de NADPH oxidasa; en la vía dependiente de NADPH oxidasa el O_2 se convierte en H_2O_2 , que es el sustrato de la mieloperoxidasa. La activación de MPO mediada por ROS y la movilización de gránulos azurófilos provocan la liberación de elastasa de neutrófilos en el citosol, la cual escinde la F-actina para degradar la integridad de la membrana plasmática y también se transloca al núcleo para escindir las histonas, lo que promueve la descondensación de la cromatina y su posterior extrusión. Un dato interesante es que inicialmente la NETosis se consideraba un proceso de muerte celular programada distinto de la apoptosis y la necrosis. Sin embargo, en 2009, Yousefi y sus colegas demostraron que los neutrófilos también pueden tener la capacidad de permanecer viables después de la liberación de NETs. (37,50)

La degranulación representa un mecanismo muy importante de los neutrófilos. Cuando la degranulación en neutrófilos es excesiva una característica común es la presencia de muchos trastornos inflamatorios, como la periodontitis. El mecanismo principal por el cual los neutrófilos regulan la actividad de estos efectores es a través del secuestro en múltiples tipos de gránulos citosólicos, y cada tipo de gránulo contiene un subconjunto único de efectores, y se excita en respuesta a umbrales de señalización únicos. (55)

Hasta el momento, se han identificado cuatro tipos principales de gránulos de neutrófilos en neutrófilos humanos, de conejo y de ratón. Los gránulos azurófilos son principalmente antimicrobianos; los gránulos específicos y de gelatinasa son gránulos de usos múltiples necesarios para la migración a través de los tejidos y tienen algunas funciones antimicrobianas; y la clase final de gránulos de neutrófilos, las vesículas secretoras, están especializadas para el reclutamiento de neutrófilos y están enriquecidas en proteínas necesarias para la extravasación de la circulación.(58)

De esta manera los neutrófilos fueron considerados durante mucho tiempo como una población homogénea de células innatas de vida corta y limitada a las funciones descritas anteriormente. Sin embargo, los datos de las últimas décadas han revelado que los neutrófilos también pueden ejercer funciones de presentación antigénica (40), e inmunorreguladoras, además de mostrar plasticidad fenotípica y funcional. (80)

Las poblaciones heterogéneas de neutrófilos circulantes se basan en parámetros como marcadores de superficie celular, flotabilidad, madurez, funciones y localización tanto en condiciones sanas como patológicas, los neutrófilos son clave en la destrucción de los tejidos, tanto su ausencia o su hiperactividad conducen a una inflamación periodontal con daño de tejido grave y pérdida dental. (81)

Los marcadores de diferenciación (CD) individualmente o en combinación ayudan para la identificación de poblaciones de neutrófilos humanos. Principalmente CD11b, CD14, CD15, CD16 y CD62L. Además, varios receptores en la superficie de los neutrófilos inician la vía de señalización fagocítica. Los receptores específicos para la región Fc de los anticuerpos incluyen CD64, CD32, CD16 y CD89. (119)

Los neutrófilos reconocen los microorganismos opsonizados por el complemento utilizando los receptores del complemento (CR) CD35 (CR1), CD11b/CD18 (CR3) y CD11c/CD18 (CR4). También se han informado varios marcadores de degranulación de neutrófilos. Los marcadores de superficie son CD63 (gránulos primarios / azurófilos), CD15 y CD66b (gránulos secundarios / específicos) así como CD11b (gránulos terciarios / gelatinasa) y CD13, CD14, CD18, CD45 (gránulos cuaternarios / secretores). (74)

Los marcadores descritos anteriormente no son exclusivos de los neutrófilos también se han reportado en otras células, como macrófagos, linfocitos B y linfocitos T, sin embargo, la combinación de varios de estos marcadores han ayudado a caracterizar mejor a los neutrófilos.

Las subpoblaciones de neutrófilos circulantes asociados con la inflamación crónica forman dos poblaciones de células en función de la presencia o ausencia de la

expresión en la membrana de proteinasa 3 (mPR3). mPR3 con CD177 ayuda a la activación celular. La expresión de CD177 es necesaria para la presentación superficial de PR3, lo que facilita la trans migración de CD177+ de neutrófilos. La expresión de CD177 puede variar en los neutrófilos en diferentes individuos, por lo que este marcador por sí solo no es determinante para asumir esta activación celular.(83,87) Otra glicoproteína detectada dentro de gránulos específicos de neutrófilos es la Olfactomedina 4 (OLFM4), la cual actúa como un supresor de tumores y se ha identificado recientemente que el 25 % de esta glicoproteína se encuentra en gránulos específicos de los neutrófilos humanos en circulación, donde inhibe la activación de varios granulares como proteasas, incluyendo catepsina C, elastasa, catepsina G y proteinasa 3 (PR3). Esto indica que la expresión de OLFM4 podría regular negativamente la eficiencia de la muerte bacteriana en un subconjunto de neutrófilos (81) .

Otras subpoblaciones de neutrófilos reportados en enfermedad periodontal son los que expresan marcadores de activación y degranulación (CD10, CD63, CD64 y CD66A), receptores de adherencia (CD11b y CD18) e inhibidores de complemento (CD55). Son neutrófilos que tienen una expresión alta de CD55 y CD63, mientras que había disminuido niveles de receptor inhibitorio CD170 y CD16. La expresión de las moléculas de superficie CD63, CD11b, CD16 y CD14 indica un estado de activación en neutrófilos orales, ya que la presencia de estos marcadores implica procesos de reconocimiento, degranulación, adhesión y reconocimiento de antígenos. Durante la gingivitis existe una activación de marcadores CD55, CD63, CD11b y CD66 en neutrófilos circulatorios.(74,89)

Otras subpoblaciones de neutrófilos con diferentes tiempos de supervivencia son los neutrófilos que muestran la expresión de moléculas HLA-DR (antígeno leucocitario humano DR), CD80 y CD49d. Esta subpoblación se caracteriza por una supervivencia prolongada de hasta 72 horas que producen cantidades significativas de aniones superóxido y leucotrienos. Los neutrófilos que sobreviven durante mucho tiempo demuestran un índice fagocítico elevado y una mayor adhesión, así como una capacidad limitada para la quimiotaxis y exocitosis de los gránulos

primarios y secundarios. También se ha demostrado que la estimulación de neutrófilos aislados de sangre humana con factor estimulante de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF)- α e interleucina -4 conduce a la generación de subpoblaciones de neutrófilos de larga vida. Esto da como resultado que estas subpoblaciones produzcan cantidades significativas de IL-8, antagonista del receptor de IL-1 e IL-1 β . (91)

Las subpoblaciones de neutrófilos con funciones antigénicas son otro grupo de neutrófilos llamados neutrófilos auxiliares de células B, que se encuentran en la zona marginal del bazo, expresan la molécula coestimuladora B7-1 (CD80) y dependen de los linfocitos T CD8+ ya que están involucradas en la movilización de estos neutrófilos. Esta subpoblación de neutrófilos demostró participar en la maduración de CTL, la cual está mediada por IL-12 y que es expresada después de la inmunización con células tumorales alogénicas. Estos neutrófilos manifiestan una capacidad para producir cantidades significativas de citocinas, por ejemplo, proteínas de la superfamilia de TNF, como el factor activador de células B y un ligando inductor de la proliferación, que tienen un fuerte efecto sobre la proliferación de linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas. (98)

Otra subpoblación de neutrófilos descrita es aquella con funciones inmunoregulatoras, que son capaces de producir IL-10, capaz de controlar la respuesta inflamatoria de las células dendríticas, los monocitos, los macrófagos y las células T cooperadoras. Este subconjunto de neutrófilos humanos productores de IL-10 presentes en el sitio de inflamación es inducido por LPS que induce activación de células Treg específicas y promueven la generación de neutrófilos productores de IL-10. Las células Treg con LPS o mAbs anti-CD3/CD28 da como resultado la regulación positiva de ICAM-1.(105)

Por último, otros estudios han descrito subpoblaciones de neutrófilos de “baja densidad” (LDN), los cuales muestran una morfología similar a la de los neutrófilos y expresan CD66b, pero también pueden ser heterogéneas. Durante condiciones inflamatorias, estas células pueden estar compuestas por poblaciones mixtas de células CD11b+/CD16+/CD11b^{low} /- y/o CD16^{low}/- maduros e inmaduros, y su

frecuencia a menudo se correlaciona con la gravedad de la enfermedad y/o la respuesta al tratamiento. Los neutrófilos LDN / G-MDSCsG suprimen la proliferación de células T y/o la producción de interferón (IFN)- γ y se describen como células CD66b⁺/CD15⁺/CD14^{- / dim} /CD33^{dim} /HLA-DR⁻. Así mismo, éstas células pueden expresar niveles incrementados o disminuidos de marcadores de maduración (CD11b, CD16, CD124 / IL-4R), marcadores de activación [CD66b, CD16, CD11b, CD62L, CD54 / ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), CD63, CD274 / PD-L1 (ligando de muerte programada 1)], marcadores funcionales (arginasa 1) o receptores de quimiocinas (CXCR2, CXCR4), y todas estas múltiples combinaciones de marcadores parecen estar asociados a la gravedad de la enfermedad o al estado de salud presente en el hospedero.(118)

Toda esta información abre nuevos conceptos sobre la inmunobiología del neutrófilo y su importancia en el desarrollo de la enfermedad periodontal, sin embargo, aún es necesario generar mayor conocimiento sobre estas células teniendo claro que la heterogeneidad que muestra es sinónimo de complejidad funcional que aún falta por comprenderse más claramente.

XI. CONCLUSIONES

La enfermedad periodontal es un grupo de enfermedades inflamatorias de los tejidos de soporte de los dientes que es iniciada principalmente por bacterias de la biopelícula con el desarrollo de gingivitis, lo cual genera inflamación clínica, eritema y sangrado al sondaje pero sin pérdida de inserción periodontal. Conforme progresa la enfermedad, el proceso inflamatorio persistente da como resultado la destrucción progresiva del ligamento periodontal y hueso alveolar.

La cavidad oral es un área fuertemente colonizada por una microbiota de más de 700 especies bacterianas y la homeostasis está fuertemente regulada por el sistema inmune, por lo que la interacción de la microbiota simbiótica con los neutrófilos es esencial y determinante clave del estado de salud oral y está estrictamente controlada para prevenir el daño tisular.

Los neutrófilos o células polimorfonucleares son los leucocitos más abundantes en el torrente sanguíneo y las primeras en ser reclutadas al sitio de infección o daño. Los neutrófilos presentan varias funciones innatas y adaptativas: fagocitosis, producción de ROS, degranulación, formación de redes de ADN (NETosis), procesamiento y presentación de antígenos a las células T (a través del repertorio de moléculas MHC-I y MHC II), así como funciones inmunorregulatorias.

En cavidad oral, podemos encontrar a los neutrófilos en saliva, fluido gingival crevicular y patrullando en el epitelio gingival, donde en este último, se localizan de manera numerosa cercanas al epitelio del surco gingival y escaso en tejido conectivo en condiciones de salud, incrementando la tasa de migración y el porcentaje de los neutrófilos en condiciones inflamatorias.

Los neutrófilos, una vez activados, liberan mediadores derivados de los gránulos y se han identificado cuatro tipos principales en neutrófilos humanos, de conejo y de ratón: los gránulos azurófilos (primarios) que son principalmente antimicrobianos; los gránulos específicos (secundarios) y de gelatinasa (terciarios) que son necesarios para la migración a través de los tejidos y algunas funciones antimicrobianas; y la clase final de gránulos de neutrófilos, las vesículas secretoras, las cuales están especializadas para el reclutamiento de neutrófilos.

Hasta ahora se han descrito numerosos marcadores de diferenciación (CD) individualmente o en combinación, lo que ha ayudado a la identificación de poblaciones de neutrófilos y los principales marcadores son: CD11b, CD14, CD15, CD16 y CD62L.

Los neutrófilos reconocen los microorganismos opsonizados por el complemento utilizando los receptores del complemento (CR) CD35 (CR1), CD11b/CD18 (CR3) y CD11c/CD18 (CR4). Los receptores de superficie que inician la vía de señalización fagocítica son CD64, CD32, CD16 y CD89 y los marcadores de degranulación son CD63 (gránulos primarios/azurófilos), CD15 y CD66b (gránulos secundarios/específicos) así como CD11b (gránulos terciarios/gelatinasa) y CD13, CD14, CD18, CD45 (gránulos cuaternarios/secretores).

La expresión de las moléculas de superficie CD63, CD11b, CD16 y CD14 indica un estado de activación en neutrófilos orales, al ser moléculas implicadas en procesos de reconocimiento, degranulación, adhesión y reconocimiento de antígenos.

Los neutrófilos orales reportados en gingivitis expresan marcadores de activación y degranulación (CD10, CD63, CD64 y CD66A), receptores de adherencia (CD11b y CD18) e inhibidores de complemento (CD55). Presentan una alta expresión de CD55 y CD63 y baja expresión de los receptores inhibitorio CD170 y CD16. Los neutrófilos circulatorios de pacientes con gingivitis presentan una activación de marcadores CD55, CD63, CD11b y CD66.

Otra subpoblación de neutrófilos caracterizada por una supervivencia prolongada de hasta 72 horas, son los que expresan moléculas HLA-DR, CD80 y CD49d; producen cantidades significativas de aniones superóxido y leucotrienos, muestran un índice fagocítico elevado, mayor adhesión y una capacidad limitada para la quimiotaxis y exocitosis de los gránulos primarios y secundarios.

Las subpoblaciones de neutrófilos con funciones antigénicas son también llamados neutrófilos auxiliares de células B, expresan la molécula coestimuladora B7-1 (CD80) y participan en la maduración de linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTL).

La subpoblación de neutrófilos humanos con funciones inmunorreguladoras son capaces de producir IL-10 y de controlar la respuesta inflamatoria de las células dendríticas, los monocitos, los macrófagos y las células T cooperadoras. Este

subconjunto de neutrófilos humanos presentes en el sitio de inflamación es inducido por LPS que induce activación de células Treg específicas y promueven la generación de neutrófilos productores de IL-10.

Otra subpoblación de neutrófilos son los llamados “de baja densidad” (LDN o G-MDSCsG) que muestran una morfología similar a la de los neutrófilos y expresan CD66b, pero son heterogéneas. Durante condiciones inflamatorias, se pueden encontrar poblaciones mixtas de CD11b+/CD16+ o CD11b^{low} y/o CD16^{low}, maduras e inmaduras y suprimen la proliferación de células T y/o la producción de IFN- γ y se describen como células CD66b+/CD15+/CD14⁻ / ^{dim} /CD33^{dim} /HLA-DR⁻ . Esta subpoblación puede expresar niveles incrementados o disminuidos de marcadores de maduración, de activación, funcionales o receptores de quimiocinas, donde todas estas múltiples combinaciones están asociadas a la gravedad de la enfermedad o al estado de salud presente en el hospedero.

De este modo, podemos concluir que los neutrófilos son las primeras células de defensa que juegan un papel importante en la salud y en la enfermedad periodontal, y cada vez es más evidente que, lejos de ser una población celular homogénea, los neutrófilos muestran un gran grado de flexibilidad, plasticidad y heterogeneidad. El papel de los neutrófilos en la inmunidad innata tanto adaptativa es crucial para procesos infecciosos e inflamatorios y la evidencia de la existencia de marcadores que caracterizan los subconjuntos de los neutrófilos nos brinda una mayor comprensión de nuevas funciones de neutrófilos en condiciones de enfermedad y homeostasis.

La investigación nos ha llevado hasta este punto de conocimiento sobre las funciones y distintas moléculas de superficie del neutrófilo, sin embargo, varios aspectos de la fisiopatología de la hiperreactividad de los neutrófilos y su papel en los trastornos inmunitarios e inflamatorios siguen siendo en gran parte desconocidos, por lo que hace falta mayor investigación de las diferentes subpoblaciones existentes en los tejidos orales para lograr una mejor comprensión de sus mecanismos de acción asociados con la inflamación que pudieran representar un blanco terapéutico en algún futuro.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. Carranza FA, Elangovan S, Freire M, Jepsen S, Klokkevold PR, Newman MG, et al., editors. Los Angeles, California: Elsevier Inc.; 2019. 5032 p.
2. Boletín UNAM-DGCS-476. EN MÉXICO, LA ENFERMEDAD PERIODONTAL TIENE UNA PREVALENCIA DE 70 POR CIENTO [Internet]. Ana María Fernández Presas. p. 1. Available from: https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016_476.html
3. Casillas APV, Ocampo BRY, Arrieta CAM. Periodontología e Implantología. 1era ed. CDMX, México: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA; 2016. 426 p.
4. Quinn MT, Frank R Deleo. Neutrophil. In: Mark T. Quinn Department of Microbiology and Immunology, editor. Neutrophil Methods and Protocols. 3th ed. New York, NY: Springer Science+Business Media; 2020. p. 4–8.
5. Lindhe J, Lang NP. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 6 ed. Argentina: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA; 2017.
6. Eley BM, Soory M, Manson JD. Periodoncia. 6th ed. Periodoncia. Barcelona, España: Elsevier; 2012. 421 p.
7. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity , inflammation , and beyond. J Exp Med. 2013;210(7):1283–99.
8. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nat Publ Gr [Internet]. 2017;3:1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
9. Hasan A, Palmer RM. A clinical guide to periodontology : Pathology of periodontal disease. Br Dent J. 2014;216(8):457–61.
10. Bosshardt DD. The periodontal pocket : pathogenesis , histopathology and consequences. Periodontol 2000. 2017;0:1–8.
11. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. J Periodontol. 2018;89:1–8.
12. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. In: Schwartz A, editor. Microbiota of the Human Body,. 1st ed. Marburg , Germany: Springer International; 2016. p. 45–60.
13. Ebersole JL, Dawson DRI, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology : “double indemnity” in protecting the host. Periodontol 2000. 2013;62:163–202.

14. Lamont RJ, Hajishengallis GN, Jenkinson HF. ORAL IMMUNOLOGY AND MICROBIOLOGY. 2nd ed. Lamont RJ, Hajishengallis GN, Jenkinson HF, editors. Washington, DC; 2014. 504 p.
15. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57–80.
16. Fábíán TK, Hermann P, Beck A, Fejérdy P, Fábíán G. Salivary Defense Proteins : Their Network and Role in Innate and Acquired Oral Immunity. *Int J Mol Sci*. 2012;(13):4295–320.
17. Pedersen MAL, Belstrøm D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. *J Dent [Internet]*. 2018;80:3–12. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.08.010>
18. J.J. T, P.M. P. Gingival crevicular fluid and saliva. *Periodontol 2000 [Internet]*. 2016;70(1):7–10. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L615930039%0Ahttp://dx.doi.org/10.1111/prd.12118>
19. Vitkov L, Klappacher M, Hannig M, Krautgartner WD. Neutrophil fate in gingival crevicular fluid. *Ultrastruct Pathol*. 2010;34(1):25–30.
20. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología básica*. 4ta ed. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. España: Elsevier Inc.; 2014. 319 p.
21. Ara T, Kurata K, Hirai K, Uchihashi T, Uematsu T, Imamura Y, et al. Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *J Periodontal Res*. 2009;44(1):21–7.
22. Murphy K, Travers P, Walport M. *JANEWAY: Inmunobiología*. 7th ed. Murphy K, Travers P, Walport M, editors. McGRAW-HILL INTERAMERICANA; 2009. 887 p.
23. González JR. T- and B-cell subsets in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015;69(87):181–200.
24. Campbell L, Millhouse E, Malcolm J, Culshaw S. T cells, teeth and tissue destruction – what do T cells do in periodontal disease? *Mol Oral Microbiol*. 2015;1–12.
25. Saravia J. Helper T cell differentiation. *Cell Mol Immunol [Internet]*. 2019;(February). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-019-0220-6>
26. Berglundh T, Donati M, Zitzmann N. B cells in periodontitis - Friends or enemies? *Periodontol 2000*. 2007;45(1):51–66.
27. Zouali M, Zouali M. The emerging roles of B cells as partners and targets in periodontitis. *Autoimmunity [Internet]*. 2016;18(9):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/08916934.2016.1261841>

28. Lagdive SS, Lagdive SB, Mani A, Anarthe R, Pendyala G, Pawar B, et al. Correlation of mast cells in periodontal diseases. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(1):63–7.
29. Kayal RA. The Role of Osteoimmunology in Periodontal Disease. *Hindawi.* 2013;2013:1–12.
30. Garaicoa-Pazmino C, Fretwurst T, Squarize CH, Berglundh T, Giannobile W V., Larsson L, et al. Characterization of macrophage polarization in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2019;46(8):830–9.
31. Wilensky A, Segev H, Mizraji G, Shaul T, Capucha Y, Shacham M, et al. Dendritic cells and their role in periodontal disease. *Oral Dis.* 2014;20:119–26.
32. Cutler CW, Jotwani R. Dendritic Cells at the Oral Mucosal Interface. *Crit Rev ORAL Biol Med.* 2006;85(8):678–89.
33. Nemoto E, Sugawara S, Tada H, Takada H, Shimauchi H, Horiuchi H. Cleavage of CD14 on Human Gingival Fibroblasts Cocultured with Activated Neutrophils Is Mediated by Human Leukocyte Elastase Resulting in Down-Regulation of Lipopolysaccharide-Induced IL-8 Production. *J Immunol.* 2000;165(10):5807–13.
34. Chu H, Mazmanian SK. Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. *Nat Rev Immunol.* 2013;14(7):668–75.
35. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol* [Internet]. 2010;31(8):318–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2010.05.006>
36. Rosales C, Uribe-Querol E. Neutrophil Role in Periodontal Disease. In: Khajah M, editor. *Role of Neutrophils in Disease Pathogenesis.* InTech; 2017. p. 68–88.
37. Lawrence SM, Corriden R, Nizet V. The Ontogeny of a Neutrophil: Mechanisms of Granulopoiesis and Homeostasis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2018;82(1):1–22.
38. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology.* 13th ed. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM, editors. UK: Wiley; 2015. 556 p.
39. Pillay J, Den Braber I, Vrisekoop N, Kwast LM, De Boer RJ, Borghans JAM, et al. In vivo labeling with 2H2O reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. *Blood.* 2010;116(4):625–7.
40. Chakravarti A, Allaey I, Poubelle PE. Neutrophile et immunité Est-ce inné ou acquis? *Medecine/Sciences.* 2007;23(10):862–7.
41. Chen Q, Ross AC. All-trans-retinoic acid and CD38 ligation differentially regulate CD1d expression and α -galactosylceramide-induced immune

- responses. *Immunobiology* [Internet]. 2015;220(1):32–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.imbio.2014.09.008>
42. Sima C, Glogauer M. Neutrophil Dysfunction and Host Susceptibility to Periodontal Inflammation: Current State of Knowledge. *Curr Oral Heal Reports*. 2014;1(2):95–103.
 43. Lee WL, Harrison RE, Grinstein S. Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect*. 2003;5(14):1299–306.
 44. Theilgaard-mo K. The Transcriptional Activation Program of Human Neutrophils in Skin Lesions Supports Their Important Role in Wound Healing. 2015;
 45. Borregaard N. Review Neutrophils , from Marrow to Microbes. *Immunity* [Internet]. 2010;33(5):657–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2010.11.011>
 46. Kelly-scumpia KM, Scumpia PO, Delano MJ, Weinstein JS, Cuenca AG, Wynn JL, et al. Type I interferon signaling in hematopoietic cells is required for survival in mouse polymicrobial sepsis by regulating CXCL10. 2010;207(2).
 47. Zeng MY, Miralda I, Armstrong CL, Uriarte SM, Bagaitkar J. The roles of NADPH oxidase in modulating neutrophil effector responses. *Mol Oral Microbiol*. 2019;34(2):27–38.
 48. Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity : macrophages , mast cells and neutrophils. *Nat Publ Gr* [Internet]. 2011;12(11):1035–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ni.2109>
 49. El-benna J, Dang PM. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation : role of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane. 2008;279–89.
 50. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. 2004;303(March):1532–5.
 51. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. 2007;176(2):231–41.
 52. White PC, Chicca IJ, Cooper PR, Milward MR, Chapple ILC. Neutrophil Extracellular Traps in Periodontitis: A Web of Intrigue. *J Dent Res*. 2016;95(1):26–34.
 53. Seper A, Hosseinzadeh A, Gorkiewicz G, Lichtenegger S, Roier S, Grutsch A, et al. *Vibrio cholerae* Evades Neutrophil Extracellular Traps by the Activity of Two Extracellular Nucleases. 2013;9(9).
 54. Abul K. Abbas AHL, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. Vol. 53,

Kemampuan Koneksi Matematis (Tinjauan Terhadap Pendekatan Pembelajaran Savi). 2019. 1689–1699 p.

55. Papers JBC, Doi M, Martinelli S, Urosevic M, Daryadel A, Oberholzer PA, et al. Induction of Genes Mediating Interferon-dependent Extracellular Trap Formation during Neutrophil Differentiation *. *J Biol Chem.* 2004;279(42):44123–32.
56. Rørvig S, Østergaard O, Heegaard NHH, Borregaard N. Proteome profiling of human neutrophil granule subsets , secretory vesicles , and cell membrane : correlation with transcriptome profiling of neutrophil precursors. *J of Leukocyte Biol.* 2013;94(October):711–21.
57. Sahoo M, Barrio L, Miller MA, Re F. Neutrophil Elastase Causes Tissue Damage That Decreases Host Tolerance to Lung Infection with Burkholderia Species. *PLOS Pathog |.* 2014;10(8):8–11.
58. Cowland JB, Borregaard N, Ha M. Neutrophil granules in health and disease. 2010;25–34.
59. Rørvig S, Honore C, Larsson L, Ohlsson S, Pedersen CC, Jacobsen LC, et al. Ficolin-1 is present in a highly mobilizable subset of human neutrophil granules and associates with the cell surface after stimulation with fMLP. 2009;86(December):1439–49.
60. Feuk-lagerstedt E, Movitz C, Dahlgren C, Karlsson A. Lipid raft proteome of the human neutrophil azurophil granule. 2007;194–205.
61. Marchal G, Bosmans H, Van Hecke P, Speck U, Aerts P, Vanhoenacker P, et al. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Am J Roentgenol.* 2016;273(2):11–28.
62. Elstak ED, Neeft M, Nehme NT, Callebaut I, Basile D Saint, Sluijs P Van Der. Munc13-4*rab27 complex tethers secretory lysosomes at the plasma membrane. *Commun Integr Biol.* 2012;0889(1):64–7.
63. Clemmensen SN, Udby L, Borregaard N. Subcellular Fractionation of Human Neutrophils and Analysis of Subcellular Markers. In: *Neutrophil Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology.* Springer Science+Business Media; 2014. p. 53–76.
64. Uriarte SM, Powell DW, Luerman GC, Merchant ML, Cummins TD, Neelakshi R, et al. Comparison of Proteins Expressed on Secretory Vesicle Membranes and Plasma Membranes of Human Neutrophils. *J Immunol.* 2008;180:5575–5581.
65. Norling L V, Dalli J, Flower RJ, Serhan CN, Perretti M. Resolvin D1 Limits Polymorphonuclear Leukocyte. *J Am Heart Assoc.* 2012;1970–8.
66. Yin C, Heit B. Armed for destruction: formation, function and trafficking of neutrophil granules. *Cell Tissue Res.* 2018;371(3):455–71.

67. Freeman SA. Phagocytosis : receptors , signal integration , and the cytoskeleton. *Immunol Rev.* 2014;262:193–215.
68. Hajishengallis G. New developments in neutrophil biology and periodontitis. *Periodontol 2000.* 2020;82(1):78–92.
69. Lamont RJ, Hajishengallis G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med [Internet].* 2015;21(3):172–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.004>
70. Deng Z, Szafranski SP, Jarek M, Bhujju S, Wagner-döbler I. Dysbiosis in chronic periodontitis : Key microbial players and interactions with the human host. *Sci Rep.* 2017;7(3703):1–13.
71. Mealey PRK, L. B. Influencia de las condiciones sistémicas en el periodonto. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR CF, editor. *PERIODONTOLOGÍA CLÍNICA DE CARRANZA.* 11th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2012. p. 416–45.
72. Rucha Shah, Raison Thomas DSM, Department. Neutrophil priming: Implications in periodontal disease. *Indian Soc Periodontol.* 2017;21(3):180–5.
73. Uriarte SM, Edmisson JS, Jimenez-Flores E. Human neutrophils and oral microbiota: a constant tug-of-war between a harmonious and a discordant coexistence. *Physiol Behav.* 2017;273(1):2–32.
74. Hirschfeld J. Neutrophil Subsets in Periodontal Health and Disease: A Mini Review. *Front Immunol.* 2020;10(3001):1–7.
75. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol [Internet].* 2013;13(3):159–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3399>
76. Ricarda Cortés-Vieyra CR and EU-Q. Neutrophil Functions in Periodontal Homeostasis. *Immunol Res.* 2016;1–9.
77. Hajishengallis G. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nat Rev Immunol [Internet].* 2021;1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-00488-6>
78. Hajishengallis G, Chavakis T, Hajishengallis E, Lambris JD. Neutrophil homeostasis and inflammation: novel paradigms from studying periodontitis. *J Leukoc Biol.* 2014;98(4):539–48.
79. Pillay J, Ramakers BP, Kamp VM, Loi ALT, Lam SW, Hietbrink F, et al. Functional heterogeneity and differential priming of circulating neutrophils in human experimental endotoxemia. *J Leukoc Biol.* 2010;88(1):211–20.
80. Tsuda Y, Takahashi H, Kobayashi M, Hanafusa T, Herndon DN, Suzuki F. Three different neutrophil subsets exhibited in mice with different susceptibilities to infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

- Immunity. 2004;21(2):215–26.
81. Beyrau M, Bodkin JV, Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: A revitalized avenue in inflammation and immunity. *Open Biol.* 2012;2(120134):2–10.
 82. Garley M, Jabłońska E. Heterogeneity Among Neutrophils. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2018;66(1):21–30.
 83. Sachs UJH, Andrei-selmer CL, Maniar A, Weiss T, Paddock C, Orlova V V, et al. The Neutrophil-specific Antigen CD177 Is a Counter-receptor for Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 (CD31) *. *J Biol Chem.* 2007;282(32):23603–12.
 84. Kuckleburg CJ, Tilkins SB, Santoso S, Newman PJ. Proteinase 3 Contributes to Transendothelial Migration of NB1-Positive Neutrophils. *J Immunol.* 2015;2420–5.
 85. Vietinghoff S Von, Tunnemann G, Eulenberg C, Wellner M, Cardoso MC, Luft FC, et al. NB1 mediates surface expression of the ANCA antigen proteinase 3 on human neutrophils. *Blood.* 2016;109(10):4487–94.
 86. Wu Z, Liang R, Ohnesorg T, Cho V, Lam W, Abhayaratna P, et al. Heterogeneity of Human Neutrophil CD177 Expression Results from CD177P1 Pseudogene Conversion. *PLOS Genet.* 2016;1–22.
 87. Xie Q, Klesney-tait J, Keck K, Parlet C, Borchering N, Kolb R, et al. Characterization of a novel mouse model with genetic deletion of CD177. *Protein&Cell.* 2015;6(2):117–26.
 88. Ng LG, Ostuni R, Hidalgo A. Heterogeneity of neutrophils. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(4):255–65.
 89. Silvestre-Roig C, Fridlender ZG, Glogauer M, Scapini P. Neutrophil Diversity in Health and Disease. *Trends Immunol.* 2019;40(7):565–83.
 90. Silvestre-roig C, Hidalgo A, Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity : implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood.* 2016;127(18):2173–82.
 91. Chakravarti A, Rusu D, Flamand N, Borgeat P, Poubelle PE. Reprogramming of a subpopulation of human blood neutrophils by prolonged exposure to cytokines. *Lab Investig [Internet].* 2009;89(10):1084–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2009.74>
 92. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev.* 2006;6(March):173–82.
 93. Puellmann K, Kaminski WE, Vogel M, Nebe CT, Schroeder J, Wolf H, et al. A variable immunoreceptor in a subpopulation of human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(39):14441–6.
 94. Bennouna S, Denkers EY. Microbial Antigen Triggers Rapid Mobilization of

TNF- α to the Surface of Mouse Neutrophils Transforming Them into Inducers of High-Level Dendritic Cell TNF- α Production. *J Immunol.* 2005;174(8):4845–51.

95. Wittamer V, Bondue B, Guillabert A, Vassart G, Parmentier M, Communi D. Neutrophil-Mediated Maturation of Chemerin: A Link between Innate and Adaptive Immunity. *J Immunol.* 2005;175(1):487–93.
96. Yang D, Chen Q, Chertov O, Oppenheim JJ. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2000;68(1):9–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10914484>
97. Ishikawa F, Miyazaki S. New biodefense strategies by neutrophils. 2005;226–33.
98. Maryukhnich E V, Zvezdova ES, Anfalova T V, Khromykh LM, Kazansky DB. The Functional Role of Spleen Neutrophil-Like Cells in the Immune Response to Allogeneic Tumor Cells. 2007;414(1):242–5.
99. Cytokine S, Curtsinger JM, Johnson CM, Matthew F, Cytokine S. CD8 T Cell Clonal Expansion and Development of Effector Function Require Prolonged Exposure to Antigen, Costimulation, and Signal 3 Cytokine. *J Immunol.* 2021;171:5165–71.
100. Pobezinskii LA, Pobezinskaya EL, Zvezdova ES, Petrishchev VN, Grinenko TS, Baturina IA, et al. Accumulation of neutrophils in the spleen of mice immunized with cells of allogenic tumors. *Dokl Biol Sci.* 2005;402(1–6):224–9.
101. Zhang X, Majlessi L, Deriaud E, Leclerc C, Lo-man R. Article Coactivation of Syk Kinase and MyD88 Adaptor Protein Pathways by Bacteria Promotes Regulatory Properties of Neutrophils. *Immunity* [Internet]. 2009;31(5):761–71. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2009.09.016>
102. Ocuin LM, Bamboat ZM, Balachandran VP, Cavnar MJ, Obaid H, Plitas G, et al. Neutrophil IL-10 suppresses peritoneal inflammatory monocytes during polymicrobial sepsis. 2011;89(March):423–32.
103. Greenblatt MB, Aliprantis A, Hu B, Glimcher LH. Calcineurin regulates innate antifungal immunity in neutrophils. 2010;207(5):923–31.
104. Atallah M, Krispin A, Trahtemberg U, Ben-hamron S, Grau A, Verbovetski I, et al. Constitutive Neutrophil Apoptosis : Regulation by Cell Concentration via S100 A8 / 9 and the MEK – ERK Pathway. *PLoS One.* 2012;7(2).
105. Lewkowicz N, Mycko MP, Przygodzka P, Ćwiklińska H, Cichalewska M, Matysiak M, et al. Induction of human IL-10-producing neutrophils by LPS-stimulated Treg cells and IL-10. *Mucosal Immunol.* 2016;9(2):364–78.
106. Gisbergen KPJM Van, Sanchez-hernandez M, Geijtenbeek TBH, Kooyk Y Van. Neutrophils mediate immune modulation of dendritic cells through

- glycosylation- dependent interactions between Mac-1 and DC-SIGN. 2005;201(8):1281–92.
107. Stone PCW, Lally F, Rahman M, Smith E, Buckley CD, Nash GB, et al. Transmigrated neutrophils down-regulate the expression of VCAM-1 on endothelial cells and inhibit the adhesion of flowing lymphocytes Abstract : As the first leukocytes recruited during inflammation , neutrophils are ideally situated to. 2005;
 108. Scapini P, Marini O, Tecchio C, Cassatella MA. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions. *Immunol Rev.* 2016;273(1):48–60.
 109. Deng Y, Ye J, Luo Q, Huang Z, Peng Y, Xiong G. Low-Density Granulocytes Are Elevated in Mycobacterial Infection and Associated with the Severity of Tuberculosis. *PLoS One.* 2016;1–13.
 110. Grayson PC, Carmona-rivera C, Xu L, Gao Z, Asare AL, Specks U, et al. Neutrophil-Related Gene Expression And Low-Density Granulocytes Associated with Disease Activity and Response to Treatment in ANCA-Associated Vasculitis F. *Arthritis Rheumatol.* 2014;2–37.
 111. Jiang J, Guo W, Liang X. Phenotypes , accumulation , and functions of myeloid-derived suppressor cells and associated treatment strategies in cancer patients. *Hum Immunol [Internet].* 2014;1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2014.09.025>
 112. Darcy CJ, Minigo G, Piera KA, Davis JS, Mcneil YR, Chen Y, et al. Neutrophils with myeloid derived suppressor function deplete arginine and constrain T cell function in septic shock patients. *Crit Care.* 2014;1–12.
 113. Favalaro J, Liyadipitiya T, Brown R, Yang S, Suen H, Woodland N, et al. Myeloid derived suppressor cells are numerically , functionally and phenotypically different in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma.* 2014;(December 2013):1–8.
 114. Giallongo C, Parrinello N, Brundo MV, Raccuia SA, Rosa M Di, Cava P La, et al. Myeloid derived suppressor cells in chronic myeloid leukemia. *Front Oncol.* 2015;5(May):1–7.
 115. Mandruzzato S, Brandau S, Britten CM, Bronte V, Damuzzo V, Gouttefangeas C, et al. Toward harmonized phenotyping of human myeloid - derived suppressor cells by flow cytometry : results from an interim study. *Cancer Immunol Immunother.* 2015;
 116. Solito S, Marigo I, Pinton L, Damuzzo V, Mandruzzato S. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity in human cancers. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;(The Year in Immunology):47–65.
 117. Manz MG, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Publ Gr [Internet].* 2014;(April):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3660>

118. Pillay J, Kamp VM, Hoffen E Van, Visser T, Tak T, Lammers J, et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1. *J Clin Invest*. 2012;122(1):327–36.
119. Lakschevitz FS, Hassanpour S, Rubin A, Fine N, Sun C, Glogauer M. Identification of neutrophil surface marker changes in health and inflammation using high-throughput screening flow cytometry. *Exp Cell Res* [Internet]. 2016;1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.03.007>
120. Tratamiento periodontal [Internet]. Available from: <https://indenta.es/tratamiento-periodontal/>
121. Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, García-Orozco A, Alvarado-Navarro A, Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: An overview. *Front Immunol*. 2017;8(81):1–20.
122. Benarafa C, Simon HU. Role of granule proteases in the life and death of neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2017;482(3):473–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.11.086>