

282
29.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EL PAPEL DE LOS NEUTRÓFILOS COMO
PRIMERA LINEA DE DEFENSA EN LA
PATOGENIA DE LA GINGIVITIS ASOCIADA A
PLACA DENTOBACTERIANA

T E S I S A

Que para obtener el título de
Cirujano Dentista
presenta:

ALMA INÉS OBREGÓN GARCÍA

Asesor:

Mtro. HORACIO CORDERO SOBERANES

Ciudad Universitaria, 1998.

269535



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

A LOS PROFESORES

AL SEMINARIO DE TITULACIÓN DE PERIODONCIA

AL DR. HORACIO CORDERO.

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A TÍO JOAQUÍN Y SU FAMILIA.

A MI ABUELITA Y A CHUMBI

A JUAN CARLOS Y A GERARDO.

INTRODUCCIÓN.

En el transcurso de la vida, el ser humano esta expuesto a agresiones biológicas, físicas y químicas del medio ambiente, gracias al sistema inmune el individuo logra sobrevivir a éstas.

El sistema inmune es el encargado de la defensa del organismo, por medio de la formación de complejos inmunocelulares.

Existen dos tipos básicos de respuesta inflamatoria: la respuesta específica y la respuesta no específica.

La primera tiene la capacidad de ser heterogénica y cuenta con memoria. La segunda. solo es heterogénica, carece de memoria y especificidad. Estos tipos de respuestas cuentan con procesos inflamatorios muy complejos, en donde existen cambios vasculares y celulares; dentro de los cambios celulares, el neutrófilo es el encargado de la primera línea de defensa para el organismo.

El neutrófilo gingival, es el principal responsable en el inicio de la destrucción de las estructuras del periodonto, al realizar un papel fundamental de defensa del organismo ante el ataque de microorganismos.

De acuerdo a las teorías evolutivas podemos imaginar que el neutrófilo apareció en forma rudimentaria, hace 1,500 millones de años, al mismo tiempo que la vida humana en nuestro planeta y en forma simultánea con las bacterias.

En un principio el neutrófilo aprendió a ingerir a la bacteria como un elemento nutritivo para él; con el tiempo fue evolucionado y especializándose para destruir a la

bacteria con mecanismos más sofisticados para su neutralización o eliminación dentro de los tejidos.

El neutrófilo continuó perfeccionando sus sistemas; aprendió a responder al mensaje quimiotáctico, a movilizarse y convertirse en la célula más ágil del organismo, utilizando su citoesqueleto para destruir a la bacteria; también aprendió a desempeñar actividades dentro del proceso de inflamación, que consiste, básicamente en la destrucción de las bacterias, y al mismo tiempo, causa daño al organismo en su afán por defenderlo. El ejemplo típico de la defensa del Neutrófilo (causando daño a los tejidos) contra la invasión de microorganismos dando como resultado un proceso inflamatorio, es la enfermedad periodontal.

El neutrófilo es una célula eucariótica, que cuenta con una membrana nuclear que separa el contenido de su núcleo de los demás organelos.

En éste trabajo, describimos el perfil y trayectoria del neutrófilo ante una agresión patogénica; y de que manera se involucra en la destrucción del huésped por llevar acabo sus mecanismos de defensa hacia éste. Describiendo origen, comportamiento, función y ciclo de vida.

El neutrófilo se activa ante la presencia de los microorganismos, que se acumulan, organizan y forman la placa dento bacteriana, en los tejidos periodontales, dando como resultado inicial, una inflamación clínica de la encía (gingivitis), con cambios de coloración, consistencia, textura, y pérdida de la arquitectura, que posteriormente, de no ser tratada a tiempo y adecuadamente, evolucionará causando destrucción de la adherencia epitelial y de la inserción del tejido conectivo, para finalizar con la migración patológica del epitelio de unión y la subsecuente resorción o pérdida ósea.

ÍNDICE.

INTRODUCCIÓN.

CAPÍTULO I. Patogenia de la Gingivitis asociada a Placa Dentobacteriana.

1.1-	Generalidades.	1
1.2-	Placa Dentobacteriana.	6
	1.2.1. Placa Supragingival	7
	1.2.2. Placa Subgingival	10
1.3-	Mecanismos de defensa del periodonto.	14
	1.3.1 Fluido crevicular	14
	1.3.2 Saliva	17
	1.3.3. Leucocito en el área dentogingival	20
1.4	Mecanismos de destrucción hística	23
	1.4.1. Lesión directa	24
	1.4.2. Lesión indirecta	25

CAPÍTULO. II. Estructura y Patogenia de la Gingivitis.

2.1-	Lesión Inicial.	29
2.2-	Lesión Temprana	32
2.3-	Lesión Establecida	35

CAPÍTULO III. Neutrófilo.

3.1-	Generalidades	40
3.2-	Origen	46
3.3-	Membrana	50

3.4- Componente granular	55
3.5- Lisosomas	60
3.6- Opsonización	63
3.7- Cinésis	65
3.8- Quimiotaxis	67
3.9- El neutrófilo en el proceso inflamatorio	69
3.10- Fibronectina	74
3.11- Pirógenos y endógenos	76
3.12- Mediadores químicos	78
3.13- Metabolismo del ácido araquidónico	80
3.14- Fagocitosis	82
3.15- Muerte/Necrosis del neutrófilo	89
3.16- Daño Tisular	92
DISCUSIÓN.	96
CONCLUSIONES.	97
BIBLIOGRAFÍA.	98

CAPÍTULO I

PATOGENIA DE LA GINGIVITIS

ASOCIADA A PLACA DENTO

BACTERIANA

1.1- GENERALIDADES.

La historia natural de la enfermedad estudia la secuencia de procesos desde salud hasta presentación de lesiones características, cuando las lesiones son avanzadas hay formación de bolsa periodontal, pérdida de la inserción de la encía y el tejido conectivo periodontal y resorción del hueso alveolar, que son características de enfermedad Periodontal. Las enfermedades Periodontales son infecciones, ya que el periodonto es invadido por microorganismos patógenos que penetran o invaden los tejidos u órganos del cuerpo, ocasionándoles daño. Las bacterias son los agentes causales primarios de la gingivitis y diversas formas de periodontitis¹.

La gingivitis (inflamación de la encía), es la forma más frecuente de enfermedad gingival; en todas sus formas está presente la inflamación, porque la placa dentobacteriana (PDB) que la produce y los factores irritantes que favorecen su acumulación, suelen presentarse en medio gingival¹.

La gingivitis se divide en:

- G. Asociada a PDB.
- G. Ulcero-necrosante aguda.
- G. Influenciada por hormonas esteroides.
- Agrandamiento gingival influenciado por medicamentos.
- G. Descamativa²³.

La PDB puede ser parte de la microflora nativa del lugar, que crece demasiado y que causa inflamación por su presencia en el margen de la encía. La gingivitis ulcero-necrosante aguda y las formas rápidas y graves de la enfermedad periodontal están relacionadas con bacterias específicas o combinadas. En la mayoría de los

pacientes con periodontitis de adulto hay un gran número de *Bacteroides gingivalis*, mientras que en la periodontitis Juvenil localizada predomina el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. En algunos pacientes con periodontitis del adulto se encuentran también *Bacteroides forsythus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, especies de *Eubacterium*, *Peptostreptococcus micros*, *Capnocytophaga*, y Espiroquetas.

Muchas respuestas del huésped son peculiares, pues en ellas participan anticuerpos o reacciones inmunitarias celulares dirigidas a antígenos bacterianos específicos, las bacterias específicas vinculadas con la enfermedad periodontal son anaerobias Gram -, las cuales, pueden causar destrucción periodontal.

La respuesta del huésped a los patógenos periodontales, desempeña una función importante para la localización de éstos microorganismos en el periodonto, previniendo su diseminación hacia otra parte del cuerpo donde pueden causar infecciones fulminantes y casi siempre mortales.

El efecto principal de la respuesta del huésped hacia los microorganismos que causan infecciones periodontales, es el de localizar la destrucción del tejido en el periodonto y proteger las infecciones sistémicas o locales extensivas con estos patógenos ^{1,2}.

Las infecciones y la inflamación son los rasgos característicos de la enfermedad periodontal.

La inflamación del tejido gingival protege contra el ataque local de los microorganismos y evita que estos se diseminen, pero también pueden causar daño a

las células y estructuras del tejido conectivo circundante, incluyendo el hueso alveolar, ésta es la causa de la mayor parte de las lesiones observadas en la gingivitis y enfermedad periodontal destructiva.

Las bacterias que provocan reacciones inflamatorias en la encía y el periodonto difieren de una u otra forma de enfermedad periodontal. Algunos microorganismos pueden no ser declaradamente patógenos, pero desempeñan un papel en el proceso de la enfermedad suministrando factores o estados que proveen la virulencia potencial de otros microorganismos.

Las enfermedades periodontales representan infecciones dinámicas causadas por combinaciones bacterianas que varían con el tiempo, estas contrastan con la mayoría de las enfermedades infecciosas clásicas (tuberculosis, sífilis); en la que el huésped lucha contra una especie y no contra una multitud de microorganismos.

La enfermedad periodontal puede ser un proceso episódico en lugar de ser un proceso continuo. El brote puede representar un deterioro transitorio de la respuesta inflamatoria para defender al huésped y con ello permite el avance de los microorganismos del área.

La respuesta del huésped al microorganismo es la que realmente causa daño tisular, pérdida de la inserción de las fibras y el hueso alveolar en lugar de la virulencia microbiana. El daño del tejido periodontal varía a menudo de un diente a otro y de una superficie dentaria a otra.

Los conceptos actuales referidos a la etiología y patogenia de la enfermedad periodontal, derivan principalmente de los resultados de los estudios epidemiológicos,

análisis de necropsias y biopsias, ensayos clínicos y experiencias en animales. Los hallazgos de los estudios han revelado el aumento de la frecuencia y la gravedad de la enfermedad periodontal con la edad y la higiene bucal incorrecta. A medida que el crecimiento de la placa se extiende sobre el cemento radicular, los tejidos adyacentes son afectados por un infiltrado celular inflamatorio.

La inflamación gingival puede ser evitada con el uso cotidiano de Gluconato de Clorhexidina al .12% (Compuesto antimicrobiano que impide la colonización bacteriana sobre las superficies dentales), como sustituto de la limpieza mecánica de los dientes²⁴.

Se puede detener el avance de lesiones periodontales mediante medidas juiciosas de eliminación de PDB de las áreas subgingivales. De ésta manera se mantiene el carácter destructivo y progresivo de la enfermedad periodontal, en áreas en que se sigue alojando placa subgingival^{2,12}.

PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

La enfermedad progresa con la edad, una vez iniciada, continúa destruyendo el periodonto durante toda la vida del individuo, de ésta manera, el tiempo y la higiene bucal incorrecta, aparecen como la variable principal de la determinación en la extensión de la enfermedad.

La enfermedad progresa con pequeños incrementos, los pacientes adultos experimentan una pérdida de inserción de aproximadamente 0.1 a 0.2mm por año, por superficie dentaria (o de 1 a 5 nm por día)⁸.

1.2- PLACA DENTOBACTERIANA (PDB).

Existen diversas definiciones del concepto de PDB:

La PDB se define como agregados microbianos a los dientes u otras estructuras bucales sólidas ¹²

El comité de terminología de la Academia Americana de Periodoncia, la define "placa": Sustancia pegajosa compuesta por secreciones mucosas que contienen colonias bacterias y sus productos, células muertas y restos epiteliales¹⁰. Es la agregación de bacterias que se adhieren a los dientes en forma organizada.

La cavidad bucal es estéril hasta el momento del nacimiento, de 6 a 10 horas se establece una flora facultativa. Las formas anaeróbicas aparecen en la boca en los 10 primeros días de nacimiento y se van organizando en los 5 o 10 primeros meses de vida. Cuando los dientes han erupcionado definitivamente se establece una flora anaeróbica¹³.

Los estudios microbianos recientes, las encuestas epidemiológicas y los experimentos en animales han confirmado el significado etiológico de la placa dentobacteriana en la patogenia de la gingivitis y periodontitis¹³.

La PDB es una acumulación blanquecina o amarillenta, de grosor variable, estrechamente relacionado con su ubicación, con el grado y frecuencia de la higiene bucal. Localizada en la superficie dentaria, encima y abajo del margen gingival⁴.

Esta compuesta por una multitud de bacterias de distinta morfología, algunas células del huésped, células epiteliales descamadas, células hemáticas; en PDB bien establecida puede encontrarse *Mycoplasma*, pequeñas cantidades de levaduras y protozoarios, y virus en diferentes proporciones^{4,12}.

Existe un estudio que desarrolló Løe y col. En 1967, en donde dividió la formación de PDB, en tres etapas:

- Primera fase: Con dos días aproximadamente después de suspendida la higiene bucal, en donde predominan colonias de cocos y bacilos Gram+, con un 30% restante de Gram-.
- Segunda fase: De uno a cuatro días, caracterizada por la aposición e incremento del número de Fusobacterias y filamentos.
- Tercera fase: Que va de cuatro a nueve días, caracterizada por la aparición de Espirilos y Espiroquetas.

De acuerdo con su relación al margen gingival la placa se diferencia en dos categorías:

1.2.1- PLACA SUPRAGINGIVAL.

Es una masa globular visible, una vez que alcanza cierto espesor; se localiza generalmente en el tercio gingival de los dientes; y se puede evidenciar con tinciones especiales (soluciones reveladoras), se adhiere aprovechando pequeñas rugosidades de

la superficie dentaria, márgenes de obturaciones y restauraciones protésicas lo mismo que bandas de ortodoncia ¹⁰.

La placa supragingival interviene fundamentalmente en la patogenia de la gingivitis y representa un requisito imprescindible para la colonización bacteriana del espacio subgingival¹³. Esta a su vez se divide en :

- **Coronal:** en contacto solo con la superficie dentaria.
- **Marginal:** relacionada con la superficie dentaria y el margen gingival.

Consiste principalmente en organismos proliferantes, junto con un pequeño número de células endoteliales, leucocitos y macrófagos, dentro de una matriz intercelular adherente, junto con un predominio mayor en número de bacterias en un 70 a 80% (1mm³ de PDB, con 1mg de peso, contiene 10⁸ bacterias); que se encuentran dispuestas en forma compleja con aproximadamente 200 a 400 especies diferentes en un sitio específico.

La matriz interbacteriana: es la porción no bacteriana de la placa, comprende del 20 al 30% de su volumen total, contiene:

- **Una porción orgánica.** Que consiste en un complejo proteínico polisacárido (30% polisacárido, 30% de proteína y 15% de lípidos); estos compuestos representan productos extracelulares de las bacterias de la placa, citoplasma y membrana de células remanentes, restos alimenticios y derivados de glucoproteínas salivales; también se encuentra dextrán, levan, galactosa, metilpentosas (ramnosa).

- Componentes inorgánicos. Calcio, fósforo, pequeñas cantidades de magnesio, potasio y sodio ⁴.

La formación de PDB Supragingival se inicia con la deposición de una película orgánica y amorfa llamada película adquirida, esta placa es de origen salival, químicamente esta formada por glucoproteínas, inmunoglobulinas y diferentes carbohidratos. Sobre la superficie totalmente limpia del diente, se adhieren inmediatamente a la película adquirida colonias bacterianas en contacto directo con el margen gingival. La PDB continua creciendo con la formación de colonias nuevas que van aumentando de tamaño y a medida que van madurando ocurren cambios estructurales en la misma. En un principio la población es cocoide, con pocas células epiteliales, leucocitos polimorfonucleares; y luego es reemplazada por filamentos, Fusobacterias y Espiroquetas. Paulatinamente la población aeróbica es reemplazada por la población anaeróbica ^{4,12}.

La PDB esta constituida por 70.4% de microorganismos y 29.6% de materia intercelular⁸.

Por lo tanto, la formación de PDB comprende dos procesos:

- La adherencia inicial de organismos salivales a la película adquirida.
- La proliferación de bacterias ligadas a las células ya unidas

En ambos procesos las dos determinantes ecológicas son la adherencia y el crecimiento bacteriano:

- Adherencia bacteriana: El primer proceso adhesivo se realiza, cuando la bacteria debe unirse a la superficie de la película, manteniéndose bien ligada para resistir las fuerzas de limpieza bucal; el segundo se efectúa cuando deben crecer y adherirse, unas con otras, para así permitir la acumulación de PDB. Los diferentes tipos de unión son:
 - Fuerzas electrostáticas.
 - Interacciones hidrofóbicas.
 - Solutos orgánicos.

- Crecimiento y proliferación bacteriana: Ya que la película queda saturada con sitios de uniones bacterianas, el crecimiento lleva a una acumulación bacteriana, aumentando la masa de la PDB. La acumulación requiere de multiplicación y cohesión de las células bacterianas, lo que se realiza por la formación de matriz de la PDB que está sujeta a las actividades metabólicas bacterianas, componentes salivales y derivados del huésped. Por ello, la última composición y patogenicidad de la PDB va a depender de los factores bacterianos, ambientales y del huésped.

La importancia clínica de la PDB supragingival es: que influye en el crecimiento, acumulación y capacidad patogénica de la placa subgingival, en especial en etapas iniciales de enfermedad periodontal ⁴.

1.2.2- PLACA SUBGINGIVAL.

Es aquella que se organiza ocupando la luz del surco gingival o de la bolsa periodontal ¹⁰. La PDB subgingival se adhiere en parte al diente y se comunica

parcialmente con el epitelio de la bolsa. La zona apical de la placa subgingival se sitúa aproximadamente a 0.5- 1mm de la inserción de tejido conectivo ¹³.

El medio subgingival influye en las condiciones de desarrollo de ésta zona. La composición bacteriana de la placa es distinta a la supragingival adyacente.

Con base a estudios en microscopía electrónica, la placa subgingival se describe de dos formas:

- Placa subgingival relacionada con el diente: Es similar a la supragingival. Bacterias densamente empacadas, se encuentran adyacentes al material cuticular que cubre la superficie del diente. En los estratos intermedios, de flora junto a la superficie del diente, dominan los bacilos y cocos Gram+ (Streptococcus mitis, sanguis, Eubacterium, Bifidibacterium, Actinomyces viscosus, A. naeslundii, Propioni bacterium, Bacterionema matruchotii, otras especies; además de cocos y bacilos Gram- en menor número. En el borde apical se encuentra por lo general: leucocitos interpuestos, entre la placa y la superficie epitelial, en menor número organismos filamentosos; y en los depósitos bacterianos dominan los bacilos Gram-.

- Placa subgingival relacionada con el epitelio: Teniendo dos porciones, una, en contacto directo con el epitelio; y la otra, adyacente a la abertura de la bolsa periodontal. Contiene bacilos y cocos Gram-, gran número de bacterias flageladas y Espiroquetas, mezclados con células blancas sanguíneas y células epiteliales; también se encuentran especies Bacteroides, Fusobacterium, Capnocytophaga, Selenomonas, Campyrobacter y especies de Actinobacillus pigmentadas de negro ⁴.

En general, las especies predominantes son *Streptococcus mitis*, *S. sanguis*, aproximadamente otro 25% de las bacterias subgingivales esta constituidas por diversas especies de *Actinomyces*. Los bacilos anaerobios Gram - contribuyen al otro 25% de la flora subgingival con predominio de *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Wolinella* y *Campyrobacter*¹².

En la enfermedad periodontal avanzada con bolsas patológicas profundas a lo largo de la superficie radicular, la flora de los depósitos subgingivales es algo diferente. La flora cultivable tiene un predominio de hasta el 90% de los microorganismos anaerobios. Las bacterias Gram- casi exclusivamente bacilos, constituyen el 75% de esta cifra con preeminencia de especies de *Bacteroides* y *Fusobacterium nucleatum*¹².

Se ha identificado mas de 300 tipos de bacterias en la placa dental, aunque solo muy pocas participan en el origen de la periodontitis.

Entre las bacterias patógenas para el periodonto se encuentran fundamentalmente en las bacterias gram-, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forcitus*, *Eikenella corrodans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Selenomonas sp.* y *Espiroquetas*, así como las bacterias gram+, el *Bacterium sp.* y *Peptrostreptococcus micros*.

La mayoría de las bacterias que contribuyen al origen y progresión de las enfermedades periodontales pertenecen a la flora fisiológica normal de la boca. Muy pocos microorganismos tienen un origen bucal. La mayoría de los gérmenes que producen la inflamación periodontal se limitan a la bolsa periodontal y no suelen

detectarse en el tejido gingival. Únicamente en la Periodontitis juvenil el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, penetra en el tejido gingival debido a los defectos funcionales de los neutrófilos y a la producción de una leucotoxina¹³.

La mayor parte de formas de enfermedad periodontal humana, son iniciadas por factores producidos y liberada por la flora microbiana subgingival¹². Algunas de esas sustancias pueden dañar directamente a las células y tejidos del huésped. Otros elementos microbianos pueden no lesionar efectivamente al huésped, en cambio activan sistemas inflamatorios endógenos celulares y humorales que afectan en forma secundaria la integridad del periodonto.

La combinación de ambas vías, la directa e indirecta es la responsable de la lesión periodontal¹².

1.3- MECANISMOS DE DEFENSA DEL PERIODONTO.

El tejido gingival , esta sujeto a agresiones mecánicas y bacterianas continuas. La saliva, la superficie epitelial, el líquido del surco gingival y los estadios iniciales de la respuesta inflamatoria proporcionan la resistencia a estas acciones ⁴.

1.3.1- FLUIDO CREVICULAR.

La estructura del epitelio de unión permite el paso del fluido crevicular al surco².

En estudios realizados por Brill se confirmó la presencia del líquido gingival en seres humanos y los consideró un trasudado; otros investigadores demostraron que el líquido gingival era un exudado inflamatorio y no un trasudado continuo ⁴.

Es un trasudado que se encuentra en el surco gingival, su flujo y composición sirven como medida de la intensidad de la inflamación ¹. Este fluido se incrementa dentro de la bolsa contiene la mayoría de los componentes del suero, los cuales están presentes en la circulación, y en la periodontitis se encuentran altamente enriquecidos, de ciertos componentes que pasan a través de las inmunoglobulinas, estas son secretadas localmente por células plasmáticas y contienen altos contenidos de productos metabólicos del neutrófilo.

Varios componentes del suero como los neutrófilos del huésped y la IgG aparecen en saliva gracias al fluido crevicular.⁵

Cuando la inflamación es leve: el líquido contiene las proteínas del plasma, así como elementos celulares como PMNs. Cuando la inflamación es grave: la composición del líquido surcal, contiene productos bacterianos (endotoxinas), productos de degradación del sistema inmunitario del huésped (conversión de C3 a C3c y C3d), mediadores de la inflamación (leucotrienos) y productos secundarios de la ruptura del tejido conectivo.

El fluido crevicular, también contiene ciertas sustancias que inhiben la quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares, este tipo de sustancias están relacionadas con el receptor f-Met-Leu-Phe.¹⁵

Clínicamente, la vigilancia del flujo del líquido del surco gingival y la calidad de sus componentes es útil en el diagnóstico para evaluar:

- La gravedad de la inflamación gingival.
- La eficacia de la higiene bucal.
- La respuesta del tejido al tratamiento periodontal.
- La eficacia de fármacos (antibióticos) como auxiliares en el tratamiento periodontal¹.

COMPOSICIÓN:

1. ELEMENTOS CELULARES: Incluye bacterias, células epiteliales descamadas y leucocitos (Neutrófilos, linfocitos y monocitos), los cuales migran a través del epitelio del surco.

2. **ELECTROLITOS:** En el líquido gingival se encuentra potasio, sodio y calcio. La mayor parte de estos estudios demuestran una correlación positiva entre las correlaciones de sodio y calcio; y la proporción de sodio y potasio con la inflamación.
3. **COMPOSICIÓN ORGÁNICA:** Se han encontrado carbohidratos y proteínas en el líquido surcal, se encuentra la hexosamina glucosa y el ácido hexurónico; así como las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM, componentes del complemento (C3 y C4), y proteínas plasmáticas (albúmina, fibrinógeno y otros).

En el líquido gingival se ha identificado productos metabólicos y bacterianos: Ácido Láctico, Urea, Hidroxiprolina, Endotoxina, Sustancia citotóxica, Sulfuro de Hidrógeno y Factores antibacterianos. También enzimas: Fosfatasa ácida, beta glucoronidasa, lisosima, catepsina D, proteasas, fosfatasa alcalina, y deshidrogenasa láctica.

ACCIÓN ANTIBACTERIANA.

El líquido crevicular, desempeña una función protectora:

1. Acción limpiadora; se basa en arrastre de bacterias y partículas.
2. Propiedades antibacterianas; se basa en el contenido de leucocitos viables que engloban y destruyen bacterias y anticuerpos contra las bacterias de la placa.
3. Propiedades adhesivas; se basa en la presencia de proteínas plasmáticas pegajosas que mejoran la adhesión del epitelio de unión al diente ⁴.

Se ha demostrado que los Leucocitos en el fluido crevicular, pueden definir el tipo y severidad de la inflamación gingival¹⁶. También, el fluido crevicular contiene una cantidad de células fagocíticas, las cuales, aumentan su actividad en presencia de *C. albicans* y disminuyen en presencia de periodontitis³.

La presencia de citoquinas como son: la Interleucina-8 e Interferón- α en el fluido crevicular y sitio enfermo del periodonto, reflejan una reducción en la actividad de defensa del huésped contra microorganismos, en la zona afectada⁶.

1.3.2- SALIVA.

Es líquido secretado por las glándulas salivales que empiezan la digestión de la comida¹. Las secreciones salivales, son de naturaleza protectora, ya que mantiene los tejidos bucales en un estado fisiológico.

La saliva ejerce su principal influencia sobre la placa por medio de la limpieza mecánica de las superficies bucales expuestas, amortiguando los ácidos que producen las bacterias y controlando la actividad bacteriana⁴.

Las funciones de la saliva, se aprecian mejor en pacientes que tienen función salival disminuida o xerostomía¹. Las personas que sufren de xerostomía, sufren de caries y enfermedad periodontal, su mucosa bucal está constantemente irritada e inflamada, les es difícil masticar y deglutir la comida, afectándoles el sentido del gusto.

La saliva también funciona formando película protectora o cutícula en superficies bucales. La saliva de paciente sano, es fundamentalmente una mezcla de

secreciones de las glándulas pares mayores (parótidas, submandibular y sublingual) y las menores (labial, bucal, glosopalatina, palatina y lingual).

La saliva contiene bacterias de 10^8 a 10^9 /ml; productos como ácido orgánico y las enzimas, células epiteliales, restos de comida y los componentes del líquido del surco gingival ¹.

FUNCIÓN DE LA SALIVA EN LA SALUD BUCAL.

FUNCIÓN	COMPONENTES SALIVALES	MECANISMO PROBABLE
Lubricación	Glucoproteínas, Mucoides	Recubrimiento similar a la Mucina Gástrica.
Protección Física	Glucoproteínas Mucoides	Recubrimiento similar a la Mucina Gástrica.
Limpieza	Flujo Físico	Despejamiento de restos y bacterias
Amortiguamiento	Bicarbonato y Fosfato	Antiácidos
Mantenimiento de la integridad del diente	Minerales, Película Glucoproteínica.	Maduración, Remineralización Protección mecánica
Acción antibacteriana	IgA, Lisosima, Lactoperoxidasa.	Control de colonización bacteriana Rompimiento de las paredes celulares bacterianas Oxidación de las bacterias susceptibles.

FACTORES ANTIBACTERIANOS.

En la saliva se encuentran lisosimas, la lactoperoxidasa y los anticuerpos.

La lisosima; es una enzima hidrolítica que parte la ligadura entre los componentes estructurales del ácido murámico, que es un glucopéptido que contiene la región de la pared celular de algunas bacterias, que se cree que, como función, repele algunas bacterias invasivas transitorias de la boca.

El sistema Tiosanato- Lactoperoxidasa, es bactericida para algunas cepas, de Lactobacillus y Streptococcus, ya que impide la acumulación de lisina y ácido glutámico, esenciales para el crecimiento bacteriano ⁴.

ANTICUERPOS SALIVALES:

La saliva, al igual que el líquido gingival, contiene anticuerpos que reaccionan con las especies bacterianas bucales.

En la saliva, predomina la IgA aunque también están presentes IgG e IgM mientras que la IgG predomina en el líquido gingival. Muchas de las bacterias que se encuentran en la saliva están cubiertas con IgA, y los depósitos bacterianos en los dientes contienen IgA e IgG en cantidades mayores a 1% en su peso.

Se ha demostrado que los anticuerpos IgA que se encuentran en la saliva, parótida, inhiben la adherencia de especies de Streptococcus a las células epiteliales.

Las enzimas que suelen encontrarse, en la saliva se derivan de las glándulas salivales, bacterias, leucocitos, tejidos bucales y sustancias que se ingieren; la principal es la amilasa parótida. La concentración de algunas, aumenta en la enfermedad periodontal; éstas son: Hialuronidasa y Lipasa. Las glucoproteínas de las secreciones salivales y los componentes de la superficie celular epitelial indican que dichas secreciones inhiben en forma competente la absorción de antígeno, y por lo tanto, limitan las alteraciones patológicas ⁴.

1.3.3- LEUCOCITOS EN EL ÁREA DENTO GINGIVAL.

La saliva contiene, además de las células epiteliales descamadas, todas las formas de leucocitos, y las principales son los leucocitos polimorfonucleares. Su número varía de persona a persona y a distintas horas del día, aumentando en número en la Gingivitis.

Los leucocitos polimorfonucleares son células fagocíticas que protegen al receptor de influencias bacteriana, jugando con ello, un rol importante en iniciación y progresión de la respuesta inflamatoria. ¹⁴

Para poder desempeñar bien su papel el PMNs. Se adhiere a las células endoteliales activadas, transmigra a los tejidos y propicia migración a microorganismos invasores. ¹⁴

Los leucocitos migran a través del revestimiento del surco gingival alcanzando la cavidad bucal. A los leucocitos polimorfonucleares, que están vivos en la saliva se les llama en algunas ocasiones, oro granulocitos y su porcentaje de

migración hacia la cavidad bucal se denomina frecuencia oro granulocítica migratoria¹⁰.

La migración del PMN al surco gingival, es regulado por procesos selectivos que aumentan la disponibilidad de leucocitos en el sitio de agresión de la PDB, en la porción superficial del epitelio de unión, lo que activa la acción del fragmento del complemento, metabolito del ácido araquidónico, péptidos formyl y otros productos bacterianos⁷.

Al llegar a un sitio infectado, el PMNs. Fagocita las bacterias, y las destruye con los metabolitos de oxígeno reactivos y proteínas microbicidas.¹⁴

Es muy común, encontrar éste tipo de células polimorfonucleares en el área del surco gingival, incluyendo el epitelio de unión originando dos mecanismos primordiales:

- Como mediador de defensa del huésped.
- Como mediador del daño tisular^{1,4,6}.

Existe una correlación positiva entre la inflamación gingival y el pH crevicular, (6.5 a 8.5)¹⁴. Se ha demostrado que las funciones protectoras de los PMNs. Pueden ser diferencialmente influenciadas por los cambios en el pH. Ya que con un pH de 6.7 el PMNs, produce significativamente su peroxido que en un pH de 7.2, con mayor producción de gránulos secundarios en este ultimo pH.¹⁴

Se ha demostrado que para combatir los microorganismos patógenos creviculares, también se puede ayudar al organismo con terapias de fase I que utilizan curetas ultrasónicas y manuales reduciendo en gran cantidad de células los

microorganismos; ya que el PMNs. durante la defensa de huésped activa varias toxinas químicas, (gránulos), con el fin de defender al huésped sin darse cuenta que también con ello incrementa el daño en el tejido.¹⁶

1.4- MECANISMOS DE DESTRUCCIÓN HÍSTICA.

Los mecanismos de destrucción pueden ser clasificados como directos o indirectos. Los mecanismos directos resultan de la acción de los componentes bacterianos que dañan directamente a los tejidos. En contraste los mecanismos indirectos, son la respuesta destructiva del huésped, desencadenados con frecuencia por los microorganismos infectantes ¹. La combinación de ambas vías, la directa e indirecta es la responsable de la lesión periodontal ¹².

1.4.1- LESION DIRECTA.

La proliferación de bacterias en los tejidos gingivales probablemente tendrá efectos desastrosos sobre las funciones normales ¹².

La liberación de sustancias solubles e irritantes es otro camino por el cuál, las bacterias producen enfermedades; por ejemplo: las enzimas histolíticas, endotoxinas y exotoxinas, que pueden atacar substratos críticos como colágeno, elastina, fibrina, fibronectina y varios otros componentes de la matriz intercelular de los tejidos epitelial y conectivo ^{1,12}.

Otras sustancias de la placa que pueden ser citotóxicas o tener defectos destructivos en las células son: Mucopéptidos, Aminas, Sulfuro de Hidrógeno, Indol, Aminas tóxicas y Ácido Fórmico y Butírico ¹.

Estudios recientes indican que algunos microorganismos elaboran factores mas específicos, que pueden tener intenso potencial biológico. Por ejemplo.

Actinobacillus Actinomycetem Comitans sintetiza una leucotoxina que destruye neutrófilos y monocitos; y una sustancia que activa las células T supresoras. Ambos factores pueden perjudicar la defensa de la encía ^{1,12}.

El A. actinomycetemcomitans y otros microorganismos producen factores que deprimen la proliferación de fibroblastos y de células endoteliales y epiteliales. Estos agentes, pueden afectar adversamente la capacidad del periodonto para responder a la irritación ¹².

Un ejemplo de enzimas histolíticas son las proteasas, entre ellas la colagenasa producida por B. gingivalis. Ésta colagenasa puede hidrolizar la colágena natural en fragmentos pequeños, con lo que contribuye a la destrucción de los medios de inserción del tejido conectivo. El B. gingivalis, también produce poderosas proteasas que pueden hidrolizar los componentes del huésped, como, el complemento, las inmunoglobulinas, la fibrina, los inhibidores de proteasa, las procolagenasas histicas y los factores de coagulación ¹².

Otras enzimas bacterianas como la Hialuronidasa que hidroliza el Ácido hialurónico de los tejidos; las lipasas y los carbohidratos, pueden también intervenir en la patogénesis de la enfermedad periodontal.

Los componentes bacterianos como las endotoxinas, el Ácido Lipoteicoico, y otras moléculas son poderosos estimuladores de la resorción ósea ¹.

Las endopeptidasas o proteínasas son la clave de enzimas en los procesos de degeneración tisular en donde encontramos cuatro subtipos de estas:

- Las metaloproteínasa.

- Serina.
- Cisteinas.
- Residuos aspárticos de sitios activos ¹⁷

El grado de destrucción tisular va a depender de los tipos de células involucrados alrededor del tejido y en particularmente de las células que se presentan en la zona inflamada ¹⁷.

Las metaloproteínas o colagenasa, pueden ser sintetizadas por células hematopoyéticas, incluyendo monocitos y macrófagos, queratinocitos, células endoteliales y varios tipos de tumorales ¹⁷.

Estas tienen la capacidad de sinergizar la digestión de las moléculas de la matriz tisular. La colagenasa se identifica por la degradación de fibras colágenas tipo I, II y III¹⁷.

1.4.2- LESION INDIRECTA.

Muchos productos microbianos ejercen poco o ningún efecto tóxico sobre el huésped, en cambio, tienen la capacidad de activar reacciones inflamatorias e inmunitarias que, a su vez pueden provocar el daño, ejemplo: los lipopolisacáridos (endotoxinas) de los microorganismos Gram-, que pueden ser responsables de un proceso inflamatorio, porque interactúan con los leucocitos y modulan su comportamiento como con la endotoxina que actúa como mitógeno estimulado, la proliferación de la célula B y la secreción de anticuerpos; hacen que los macrófagos produzcan y secreten proteínas inactivas e hidrolasas ácidas; y otras enzimas

hidrolíticas; activación de linfocitos; modulación del crecimiento de fibroblastos y síntesis de colágena. Promueve la reabsorción osteoclástica del hueso estimulada por productos de las células mononucleares activadas, como la Interleucina-1, Prostaglandinas, Factores de Necrosis Tumoral (TNF) y otros factores endógenos de resorción ósea y también tiene profundos efectos sobre el sistema de coagulación de la sangre, además, la endotoxina desencadena el sistema del complemento, lo que da por resultado la formación de numerosos péptidos proinflamatorio^{1,12}.

En forma semejante, las proteínas específicas o los polisacáridos producidos y liberados por diversas bacterias subgingivales activan mediadores endógenos de la permeabilidad vascular, estimulan a las células inflamatorias a que penetren en los tejidos, y hacen que estas secreten productos proinflamatorios¹.

CAPÍTULO II

ESTRUCTURA Y PATOGENIA

DE LA GINGIVITIS

ESTRUCTURA Y PATOGENIA DE LA GINGIVITIS.

Es un proceso infeccioso mediante el cual, microorganismos patógenos penetran o invaden los tejidos; está constituido por una serie de eventos, que conllevan a la patogénesis periodontal, que da como consecuencia, la formación de bolsa periodontal, pérdida de las inserciones de la encía y del ligamento periodontal; y destrucción del hueso alveolar ⁶.

Es un acuerdo general que los cambios patológicos que acompañan a la gingivitis, se relacionan con la presencia de microorganismos bucales en el surco, y que estos pueden sintetizar productos nocivos que dañan al epitelio y las células del tejido conectivo, así como los constituyentes intercelulares como: colágena, sustancia fundamental (intercelular) y glucocalix (cubierta celular)⁴.

Las alteraciones inflamatorias de la encía se desarrollan en unos pocos días de crecimiento bacteriano sobre la porción cervical de la superficie dentaria ¹².

La gingivitis progresa con el tiempo hasta convertirse en enfermedad periodontal destructiva, la prevalencia de la periodontitis comenzando por gingivitis aumenta, al avanzar la edad.

Clinicamente la inflamación se ve al comienzo con discretos cambios de color y de textura de los tejidos marginales. Al cabo de 10 o 20 días se establece una franca Gingivitis en la mayoría de los casos, caracterizada por enrojecimiento e inflamación de la encía y con aumento de la tendencia de los tejidos blandos a sangrar cuando se les sondea suavemente ¹².

Con base a las mediciones clínicas y medición del exudado gingival, la lesión crónica asociada a placa a sido subdividida en tres etapas:

- Gingivitis subclínica.
- Gingivitis clínica
- Destrucción periodontal.

Los procesos microscópicos subyacentes responsables de éstas alteraciones clínicas son evidentes, antes de que se hagan visibles modificaciones en su aspecto. Estos procesos se asocian con profundos cambios en su integridad del lecho microcirculatorio, con la afluencia y proliferación de células inflamatorias en el tejido conectivo por debajo del epitelio dentogingival. El infiltrado de células inflamatorias incluye: plasmocitos, linfocitos, blastocitos, macrófagos y neutrófilos; la acumulación de éstas células en el comportamiento tisular se asocia con una pequeña reducción en la cantidad de fibroblastos y en la densidad de colágeno y de los componentes de la matriz.

En un análisis de las características histopatológicas y de la ultraestructura de la enfermedad, realizado por Page y Schroeder, en 1976 propusieron una división más clara en las etapas:

- Inicial.
- Temprana.
- Establecida o Constituida.
- Avanzada.

En donde, la lesión inicial y temprana, representan estadios relativamente agudos de la gingivitis; la lesión establecida corresponde a una Gingivitis crónica; y la lesión avanzada contempla el paso de la gingivitis hacia la Periodontitis ¹².

Esta clasificación es apoyada por los datos morfológicos y permite fijar la atención sobre los aspectos patológicos importantes de la enfermedad, y sobre los mecanismos patógenos ². Es importante mencionar que no existe una clara división clínica que distinga a las lesiones ¹².

2.1- ETAPA I.

Uno de los principales problemas para comprender la patogenia de la enfermedad periodontal, ha sido la incapacidad para distinguir entre los tejidos normales y los alterados patológicamente, es decir, que no ha sido posible determinar cuando empieza la enfermedad ².

La lesión inicial, puede ser una reacción a la generación de sustancias quimiotácticas y antigénicas en la región del surco gingival; se presenta en 2 o 4 días, pero se desarrolla con rapidez en las primeras 24 hrs ¹², cuando el epitelio gingival, antes normal y sin infiltrado es puesto en contacto con PDB ².

La lesión inicial se localiza en la región del surco gingival, entre los tejidos afectados se encuentra una porción del epitelio de unión, epitelio del surco bucal y la porción más coronaria del tejido conectivo ².

En situaciones experimentales puede observarse pequeñas cantidades de leucocitos que se desplazan hacia el surco gingival y que residen dentro del epitelio de unión; algunos linfocitos y células plasmáticas aislados, pueden estar asociados con vasos sanguíneos del plexo subepitelial y a una mayor profundidad dentro del tejido conjuntivo ².

La característica de ésta etapa es que contiene niveles aumentados de actividad de mecanismos de defensa normales del huésped, que operan dentro de los tejidos gingivales⁴; ya que no existen manifestaciones de daño tisular detectable en el microscopio, no se forma un infiltrado, por lo que su presencia no se considera un cambio patológico ².

El epitelio de unión se une con uniformidad al tejido conectivo sin prolongaciones, y es apoyado por fibras de tejido conjuntivo, bien orientadas. En estos tejidos después del acumulo de placa, se presentan las siguientes características:

1. Vasculitis bajo el epitelio de unión.
2. Exudación del líquido del surco gingival.
3. Migración de leucocitos hacia el epitelio de unión y el surco gingival.
4. Presencia de proteínas séricas.
5. Alteración de la porción más coronal del epitelio de unión
6. Pérdida de colágeno perivascular ².

Los cambios vasculares son la primera reacción a la inflamación gingival; clínicamente la reacción inicial de la encía a la PDB no es evidente (Gingivitis subclínica); esta reacción vascular es en esencia la dilatación de capilares e incremento del flujo sanguíneo.

Histológicamente esta etapa, muestra aspectos clásicos de la inflamación aguda en el tejido conectivo por debajo del epitelio de unión. En una semana y a veces en solo dos días de acumulada la placa, ocurren los cambios morfológicos en los vasos sanguíneos, que consisten en el ensanchamiento de los pequeños capilares, arteriolas o vénulas del plexo dentogingival. la presión hidrostática dentro de la microcirculación se eleva, junto con la formación de espacios intercelulares entre las células endoteliales, provocando un incremento en la permeabilidad del lecho microvascular a los fluidos, proteínas y células (neutrófilos, monocitos/macrófagos, y algunas células linfocíticas) que se dirigen a los tejidos ¹². Los leucocitos, principalmente los neutrófilos polimorfonucleares (PMN), salen de los capilares, a través de las paredes, pudiéndose observar en cantidades mayores en el tejido conectivo, en el epitelio de unión y surco gingival.

Otros cambios importantes se dan, a la salida del plasma sanguíneo hacia los tejidos y el surco gingival (edema), que tiene por función destruir los irritantes (toxinas microbianas), arrastrar a las bacterias y productos desde el surco hacia la cavidad bucal. Las proteínas del plasma que se escapan de la microcirculación son: Fibrinógeno, inmunoglobulinas, anticuerpos específicos, péptidos del complemento, albúmina, etc. Durante todas las fases de la gingivitis la cantidad de exudado puede usarse como índice de la lesión inflamatoria ¹².

Se ha demostrado que varios microorganismos, relacionados con la enfermedad periodontal (*Treponema denticola*, *Actinomyces viscosus* y *Bacteroides melaninogénicos*) estimulan la quimiotaxia del neutrófilo y a la exudación vascular.

Pueden detectarse ligeros cambios en el epitelio de unión y en el tejido conectivo perivascular; los linfocitos también empiezan a acumularse ⁴.

El incremento en la migración de los leucocitos y su acumulación dentro del surco gingival, puede relacionarse con un aumento en el flujo del líquido gingival.

Page y Shroeder, denominaron esta etapa como inicial, identificando: Vasculitis clásica de los vasos subyacentes al epitelio de unión y surco gingival, presencia de proteínas séricas, principalmente la fibrina, extracelularmente; alteración de la parte más coronal del epitelio de unión con pérdida del colágeno perivascular ⁴.

La índole y el carácter de la reacción del huésped, determinan si la lesión inicial, desaparece (curación) o evoluciona hacia la lesión inflamatoria crónica, de ocurrir esto, la zona se observa con un infiltrado de macrófagos y células linfoides, en pocos días ⁴.

2.2.- ETAPA II.

Aparecen signos clínicos de eritema, principalmente por la proliferación de capilares y el aumento de la formación de asas entre las prolongaciones epiteliales, y presentarse hemorragia al sondeo ⁴.

Las características presentes en esta lesión:

- 1.-Acentuación de las características descritas en la etapa anterior
- 2.-Acúmulo de células linfoides, en el epitelio de unión.
- 3.-Alteraciones citopáticas en los fibroblastos.
- 4.-Pérdida en la red de fibras colágenas.
- 5.-Proliferación celular en el epitelio de unión ².

Esta lesión se presenta alrededor de 4 a 7 días, después de la colonización microbiana, y los vasos de la porción coronal del plexo gingival permanecen dilatados ⁴.

La lesión temprana es una respuesta de la formación y mantenimiento de un infiltrado denso de células linfoideas, dentro del tejido conectivo gingival. Los fenómenos inflamatorios exudativos agudos, persisten; alcanzando el flujo de líquido gingival y los leucocitos en el surco, su máximo nivel, que entre 6 y 12 días se estabiliza con la aparición de la gingivitis crónica ². Además, la cantidad de vasos aumenta como consecuencia de la proliferación vascular y de la apertura de unidades vasculares previamente inactivas ¹².

El epitelio de unión y el surco gingival llega a ser densamente infiltrado de leucocitos, que consta principalmente de linfocitos (75%), algunos neutrófilos migratorios, macrófagos, células plasmáticas y células cebadas ⁴. La infiltración de células inflamatorias en el tejido conectivo comprende linfocitos pequeños y medianos, muchos de ellos son células T responsables de las reacciones inmunitarias mediadas por células mientras que otras representan células B que generalmente evolucionan a plasmocitos, produciendo anticuerpos ¹².

El área de tejido afectada se distingue por la presencia de células inflamatorias y la disminución del contenido en colágeno; la composición celular del infiltrado incluye: estructuras vasculares, fibroblastos (14.8%), neutrófilos (2.6%), monocitos y macrófagos (2.1%), células plasmáticas (2%), linfocitos pequeños (39.3%), linfocitos medianos (34.9%), inmunoblastos (1.9%), células cebadas (2.4%)².

El epitelio de unión así como el surco llega ser densamente infiltrado con neutrófilos.

Los fibroblastos son igualmente numerosos en las regiones infiltrada y no infiltrada del tejido conectivo gingival, con la diferencia de que los primeros presentan un aumento de tamaño comparable a tres veces el volumen de los que se encuentran en el tejido normal, además, de que presentan alteraciones en su núcleo, reducción en el contenido de cromatina, falta frecuente de nucleólos, y otros cambios así como la ruptura de su membrana plasmática², también se pueden presentar signos de degeneración (vacuolización celular), siendo posible que algunas de estas células hallan sido afectadas por productos citotóxicos de células linfáticas^{2,12}. Por lo que existe un incremento en la cantidad de colágena destruida, y el 70% de esa colágena se destruye alrededor del infiltrado celular. Al parecer los principales grupos de fibras afectadas son las circulares y dento gingivales, que por lo regular dan soporte al epitelio de unión. La pérdida de colágena es un factor importante en la pérdida continua de la integridad tisular y de la función gingival normal al progresar la enfermedad².

Como se menciona existen alteraciones morfológicas en vasos sanguíneos y en la disposición del lecho vascular. Los polimorfonucleares que salieron de los vasos sanguíneos en reacción al estímulo quimiotáctico de los componentes de la placa viajan al epitelio, cruzan la membrana basal hasta llegar a la zona de la bolsa. Los polimorfonucleares son atraídos hacia las bacterias y las engloban en un proceso de fagocitosis; liberan sus lisosomas en relación con la ingestión de bacterias y también como reacción a la placa⁴.

A fines de la segunda semana la magnitud del infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo aumento aproximadamente el 10 ó 15% del volumen de la encía del tejido libre. Las células basales del epitelio de unión y del surco siguen proliferando y podrán verse redes de formaciones en clava, que penetran en la parte coronaria del infiltrado.

2.3.- ETAPA CONSTITUÍDA O ESTABLECIDA.

Puede describirse como encía con inflamación moderada o grave⁴. Entre las características de esta lesión encontramos:

- 1.- Persistencia de las manifestaciones de la inflamación aguda.
- 2.- Predominio de células plasmáticas.
- 3.- Presencia de inmunoglobulinas.
- 4.- Perdida continua de la sustancia del tejido conectivo.
- 5.- Proliferación, migración y extensión lateral del epitelio de unión (formación temprana de bolsa)².

Esta lesión se localiza alrededor del fondo del surco, y esta limitada a una porción pequeña del tejido conectivo gingival.

En esta etapa se incrementa la cantidad de fluido exudado de los vasos y la cantidad de los leucocitos que emigran hacia los tejidos y el surco gingival; aproximadamente en un mes, la respuesta celular y la permeabilidad parecen llegar a una meseta que pueden durar largos periodos, sin que progrese a lesión avanzada; éste aparente balance puede reflejar un equilibrio, que es suficiente para contrarrestar

la irritación producida por la placa e impedir el crecimiento de los microorganismos hacia la superficie radicular, evitando que invada al tejido conectivo. Parece ser que la respuesta de huésped no es capaz de eliminar totalmente los microorganismos del surco o bolsa por lo que la patogenia persiste y mantiene la reacción inflamatoria en la encía coronaria ¹².

Los vasos sanguíneos se obstruyen y congestionan, el retorno venoso resulta impedido y el flujo sanguíneo se vuelve lento, provocando una anoxemia gingival localizada la cual superpone una matriz azulosa en la encía enrojecida. La extravasación de glóbulos rojos en el tejido conectivo y la descomposición de la hemoglobina en sus pigmentos que la componen, pueden acentuar también el color de la encía que presenta inflamación crónica ⁴. Las características que distinguen a la lesión establecida es la presencia de células plasmáticas dentro de los tejidos conectivos afectados en una etapa ulterior a la pérdida ósea extensa. Las células plasmáticas no se encuentran limitadas al sitio de reacción, ya que aparecen en haces a lo largo de los vasos sanguíneos y entre las fibras colágenas profundas de los tejidos conectivos, la mayor parte de las células plasmáticas producen IgG, pocas IgA, y las IgM son muy raras ⁴. Aparte de las inmunoglobulinas que se encuentran en el epitelio y tejido conectivo gingival, se han encontrado pruebas de la presencia de complemento y complejos antígeno-anticuerpo, especialmente alrededor de los vasos sanguíneos ². Las células plasmáticas invaden el epitelio, su profundidad, alrededor de los vasos sanguíneos y entre los haces de fibras colágenas ⁴.

El epitelio de unión revela un ensanchamiento en los espacios intercelulares llenos de residuos granulares de células, entre ellos lisosomas derivados de neutrófilo, linfocitos y monocitos destruidos. Los lisosomas contienen hidrolasas ácidas que pueden contener los componentes del tejido. El epitelio de unión desarrolla

prolongaciones epiteliales que protuyen hacia el conectivo; y la membrana basal se destruye por zonas ⁴.

Las citoquinas proinflamatorias, tales como interleucina (IL-1), IL-6, IL-8 y el Factor de necrosis tumoral (TNS), se cree que son los principales mediadores atológicos de enfermedades inflamatorias, que van desde artritis a las enfermedades periodontológicas¹⁸.

La interleucina 1 β al igual que el TNF α , también poseen propiedades de resorción ósea y que generalmente juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedad periodontal ¹⁹. También se ha observado que las altas concentraciones de interleucina 8 son influenciadas por la actividad local de la interleucina 1 β . Estas y otras observaciones in vitro de la Interleucina 1 puede actuar sobre un gran número de células en las que se influyen los fibroblastos, condrocitos, células óseas, neutrófilos y linfocitos que sugieren que la destrucción periodontal y la reparación en la periodontitis puede en parte estar asociada con la Interleucina 1.

La Interleucina 1 β también tiene efectos proinflamatorios que actúan sobre las células endoteliales, promoviendo la adhesión y migración del leucocito dentro de los sitios inflamados; en éste contexto la Interleucina 8 puede jugar también un papel importante dentro de la patogénesis porque ésta se encarga de disminuir la quimiotáxis de los neutrófilos. Basado en esto, la interleucina 1 β y la 8 son relevantes en el inicio y progresión de la periodontitis^{20,22}.

Las citoquinas juegan un papel en el mantenimiento de la homeostasis del tejido. Las enfermedades inflamatorias pueden ser inducidas y perpetuadas por la sobreproducción de citoquinas proinflamatorias o posiblemente en la falla de la

producción de citoquinas antiinflamatorias (IL-4, IL-10, TGF β e IL-B). El número de Citoquinas que han sido descubiertas en los últimos 20 años superan los 100¹⁸.

Hay 2 grupos de citoquinas: interleuquinas, citoquinas citotóxicas (por ejemplo el factor tumoral de necrosis TNF), factor estimulante de colonias, interferones, quimioquinas¹⁸.

La colágena, sigue destruyéndose en dirección lateral y apical a medida que se sigue expandiendo el infiltrado de células inflamatorias, dando como resultado, áreas pobres en colágeno en tejido conectivo infiltrado, radiadas hacia las profundidades del tejido ¹².

El epitelio de unión y el surco gingival pueden proliferar y emigrar hacia el tejido conectivo infiltrado, hacia lo largo de la superficie radicular, convirtiéndose en epitelio de la bolsa, éste, en ocasiones puede ser más grueso y exhibir cierta tendencia a la queratinización; pero con mayor frecuencia es delgado y se ulcera ².

Si existe epitelio propio de la bolsa, los vasos sanguíneos penetran dentro del epitelio de tal forma que pueden estar separados del ambiente externo por solo una o dos células epiteliales². El epitelio de la bolsa no está adherido a la superficie del diente y presenta gran infiltrado de neutrófilos y macrófagos, así como de linfocitos y plasmocitos. Cuando éste epitelio es comparado con el de unión, se advierte que el epitelio de la bolsa es más lábil y permeable al paso de sustancias, tanto a los tejidos subyacentes, como desde estos ¹².

En el tejido conectivo las fibras colágenas son destruidas alrededor del infiltrado de las células plasmáticas; neutrófilos, linfocitos, monocitos y células cebadas permanecen intactas.

Existe una relación inversa entre el número intacto de haces de colágena y el número de células inflamatorias. La actividad colagenólica se incrementa en el tejido gingival inflamado mediante la enzima colagenasa, ésta es producida por algunas bacterias bucales y por los neutrófilos⁴.

Estudios histoquímicos demuestran que la encía en ésta etapa tiene valores elevados de: Fosfatasa alcalina ácida, β - glucuronidasa, β - glucosidasa, β - galactosidasa, esterasas, aminopeptidasa y citocromo oxidasa. Las cifras de mucopolisacáridos neutros disminuyen, como respuesta a la degradación de la sustancia fundamental.

Cuando se extiende al hueso alveolar, comienza la etapa IV o lesión avanzada⁴; cuyas características son:

1. La persistencia de la lesión establecida.
2. Extensión de la lesión al hueso alveolar y ligamento periodontal con la pérdida de hueso; así como la pérdida continua de colágena bajo el epitelio de la bolsa.
3. Formación de bolsa periodontal.
4. Periodos de exacerbación y remisión.
5. Conversión de la médula ósea a la lesión en tejido conectivo fibroso².

CAPÍTULO III

NEUTROFILO

3.1- GENERALIDADES .

Recibe ese nombre porque las granulaciones que conforman su citoplasma se tiñen de púrpura. También es conocido con el nombre de polimorfonuclear, pero éste término engloba tanto a los neutrófilos, como a los eosinófilos y basófilos¹⁰. Se localiza en médula ósea, sangre y tejidos^{1,20}.

Está considerado como la primera línea de defensa del huésped contra las lesiones e infecciones, extendiéndose en todo tipo de respuesta inflamatoria. Forman el 60% aproximadamente, del total de los leucocitos circulantes y su vida media es de, aproximadamente 12 horas. Los valores normales del neutrófilo en sangre son: de 3,000 a 5,000 células /mm³, es decir, más de 100 billones, pudiendo aumentar 10 veces su número de procesos infecciosos. Se encuentran en todas las lesiones inflamatorias en particular en las de tipo agudo, se engloban y se concentran en sitios lesionados¹.

Tiene un diámetro aproximado de 12 a 15 micras, su citoplasma presenta gránulos especiales y su núcleo se encuentra subdividido de 2 a 5 lóbulos, que contienen un genóma activo, impermeable a los trazadores radioactivos para DNA y RNA. Su número no guarda relación con su actividad fagocitaria. Una pequeña cantidad de RNAm interviene en el ensamblaje del material proteico reducido. La energía que requiere para su movilización y proceso de fagocitosis se obtiene por vía de glucólisis (90%) y por vía de la respiración celular o ciclo de Krebs (10%). Normalmente la célula toma glucosa del medio ambiente y su contenido de glucógeno permanece, relativamente constante; la fagocitosis no se realiza si la fuente de glucógeno se agota. El neutrófilo maduro cuenta con 20 a 30 mitocondrias¹⁰.

Es común encontrar PMNs en empalizadas en la superficie exterior de la placa, lo que parece formar una barrera contra la penetración de las bacterias en los tejidos subyacentes.

Su principal función, es protectora que consiste en: la acumulación de neutrófilos en el sitio de la lesión, englobando, matando y digiriendo a los microorganismos y sustancias nocivas. Estos tienen la capacidad de operar en ambientes de baja tensión de oxígeno, pH ácido. Poseen poca intensidad para sintetizar proteínas^{1,20}.

Para que el neutrófilo pueda funcionar adecuadamente debe existir un equilibrio de sus iones intra y extracelulares. Se supone que el potasio debe contener una concentración citoplasmática. El Ca⁺⁺ y ciertas proteínas plasmáticas son las responsables de la adhesividad del neutrófilo (pavimentación, diapedesis, aglutinación, quimiocinésis y fagocitosis)^{1,20}.

Contienen en forma granular todas las sustancias para fagocitosis y desnutrición de microorganismos, cuenta con dos tipos de gránulos:

- Gránulos específicos o secundarios: compuestos por enzimas microbidas lisozima, colagenasa, fosfatasa alcalina y lactoferrina.
- Gránulos acidófilos o primarios: hidrolasas ácidas (β -glucoronidasa), proteínas catiónicas y enzimas microbidas (lisosima, mieloperoxidasa); esta última, participa en la fagocitosis, destrucción y digestión de sustancias nocivas y microorganismos², proteínas neutras (elastasa y catepsina G)¹.

Estos agentes se toman disponibles gracias al estallido oxidativo y a la degranulación durante la fagocitosis de la mayoría de las bacterias gram positivas. Estas sustancias son liberadas para que interactuen con bacterias no fagocitadas, así la muerte de las bacterias puede ocurrir dentro de PMNs. Y fuera de ellos; también los PMNs. Pueden alterar la capacidad de las bacterias para adherirse a los tejidos de huésped o a otros microorganismos.

Cuando el neutrófilo presenta anomalías cualitativas o cuantitativas presenta formas exageradas de enfermedad como Periodontitis rápidamente progresiva (niños o adultos jóvenes)¹².

Para los Bioquímicos, la vida se formó por un proceso de combinaciones, dispersiones recombinaciones del carbón, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre y fósforo; lo que estableció una célula, rodeada de una membrana que la separa del medio exterior.

Actualmente, se ha estudiado que los neutrófilos, se producen y proliferan en la médula ósea a partir de blastocitos, se convierten en promielocitos, mielocitos y metamielocitos; esta última etapa son células en banda o segmentadas, con núcleos multilobulares, que pueden llevar acabo mitosis, y que en procesos inflamatorios largos, son capaces de abandonar la medula ósea para realizar las funciones defensivas disminuidas, de un neutrófilo.

Estas células, en situaciones normales, salen de la medula ósea hacia la sangre, en donde circulan por 10 a 12 horas, para después migrar hacia los tejidos donde sobrevivirán 1 o 2 días.

Las infecciones, inflamación y el estrés, son factores predisponentes para elevar el número de neutrófilos (movilización de reserva en la médula ósea)¹⁰.

Cuando dejan la médula ósea, pasan a través de la barrera endotelial vascular (diapedesis), para el sitio de infección o inflamación. Son dos, las barreras de las células endoteliales:

1. La interacción entre las adhesinas superficiales en los neutrófilos.
2. Y su ligadura correspondiente como las moléculas de fijación celular en las células endoteliales.

Está claro, que los fagocitos migran hacia los sitios de infección por la influencia de mediadores químicos (quimiotaxis). La quimiotaxis es un movimiento dirigido de los leucocitos a lo largo de un gradiente de concentración de sustancias quimioatrayentes o quimiotaxinas (péptidos N-formil,-metionil, C5a del complemento leucotrieno B4), que se derivan de tejidos o microorganismos infectantes; lo que estimula, a los leucocitos a fijarse a receptores a la superficie del neutrófilo.

El proceso mediante el cual, los neutrófilos dejan los vasos sanguíneos y siguen hacia la zona infecciosa, consta de dos fases:

1. Adhesión del leucocito al endotelio.
2. Migración dirigida hacia la zona de mayor concentración de quimiotaxis.

Inicialmente, se encuentran atrapados en el sitio de lesión (por los cambios en la microcirculación), después los agentes quimiotácticos, dirigen los movimientos de

las células a los sitios dañados, ya que la mayoría de las bacterias (PDB), producen péptidos que reaccionan como quimiotaxis, dirigen los movimientos de los péptidos que reaccionan como quimiotaxinas para los neutrófilos; también los C5a, C5, C6, C7, por la activación del complemento y las quininas: Por lo que las sustancias producidas por los tejidos lesionados así como los de los microorganismos atraen al neutrófilo.

Cabe recordar que las proteínas para la adhesión de leucocitos, se encuentran en neutrófilos, monocitos y linfocitos, las moléculas de adhesión en la superficie leucocitaria son: CR3, LFA-1 y p-150,95 (CR4), que entre ellas forman una subfamilia de otras más grandes de moléculas, integrinas.

Las moléculas de fijación celular en las células endoteliales, incluyen moléculas de adhesión intercelular 1 y 2 (ICAM-1 e ICAM-2), así como molécula 1 de adhesión leucocitaria endotelial (ELAM-1). ICAM-1, es una glucoproteína de 90 kilodaltos en la superficie endotelial, ésta, media la adherencia de los polimorfonucleares al funcionar como ligadura para LFA-1¹⁰.

Es importante mencionar, que aparte de la defensa de huésped, también participan en la destrucción tisular, por lo que los neutrófilos además de contener diferentes sustancias bactericidas, contienen hidrolasas ácidas y una colagenasa, que poseen la capacidad para destruir colágeno y otras sustancias del tejido conectivo; y de inducir la resorción ósea. Estas enzimas son liberadas cuando el neutrófilo muere; también, las células viables que ingieren complejos inmunes o sustancias bacterianas liberan enzimas hidrolíticas².

Algunas actividades de los neutrófilos provocan, que en reacciones inflamatorias, aumentando los efectos de estímulo inicial de este proceso, perpetuando con ello, la cronicidad de la inflamación gingival, como en el caso de enzimas liberadas, que pueden separar al componente del complemento C5 produciendo C5a y C5, 6 y 7 activado, que a su vez activa el sistema de quininas ².

Ya implantados en los tejidos, los neutrófilos pueden efectuar su función fagocítica; esto lo hacen; primero reconociendo el blanco, lo que incluye la cobertura (opsonización) al microorganismo infectante o al elemento háptico del huésped con proteínas plasmáticas. El proceso de opsonización facilita la adherencia y fagocitosis del microorganismo seguida por la destrucción intracelular.

Las opsoninas (séricas), se dividen en:

- 1.- Termo estables: IgG e IgM.
- 2.- Termolábiles: Elementos del sistema de complemento (C3b, iC3b de C3).

El fragmento C3, se deposita en la superficie bacteriana durante la activación de la cascada del complemento. Los fagocitos reconocen las bacterias cubiertas por receptores específicos en la superficie del fagocito para IgG (receptor Fc- γ), C3b(CR1) e C3b.

C3b se convierte en fragmento de segmentación, iC3b, mediante la actuación del inactivador de C3b, ante la presencia de su cofactor Beta-1H. Una segunda clase de receptores C3 en células fagocíticas, denominadas CR3 reconocen el fragmento, esta es una adhesina leucocitaria.

La función principal de las opsoninas es facilitar el reconocimiento y la fagocitosis de microorganismos infecciosos.

Ya cubierto el microorganismo o la partícula con opsoninas como inmunoglobulinas, elementos del complemento o ambos, se presenta la fijación del neutrófilo y después la ingestión. La partícula se transporta hacia el interior de la célula “de dentro hacia fuera”, denominado fagosoma, el cual se une a gránulos del neutrófilo dando como resultado un fagolisosoma, que finalmente es el que destruye la bacteria.

3.2- ORIGEN.

Se origina de células hematopoyéticas, para después obtener las características de mieloblasto, promielocito, mielocito (empieza a mostrar los primeros gránulos específicos) y metamielocito. El “cayado”, es un neutrófilo inmaduro, que al madurar constituye un neutrófilo listo para abandonar la médula ósea, lugar donde se llevó a cabo todo su proceso de formación.

En la etapa de mielocito, como se mencionó, la célula se encuentra bien equipada con sus gránulos, de ahí en adelante, la célula no realiza una síntesis proteica importante. El neutrófilo contiene aproximadamente 200 gránulos de los cuales, la tercera parte son azurófilos y las dos restantes son de gránulos específicos.

De metamielocito a neutrófilo toma aproximadamente 6 días, tiempo suficiente para que los organelos citoplasmáticos se atrofién a excepción de sus gránulos; su núcleo se va segmentando y heterocromatizando; sus características

especializadas, se desarrollan durante esta fase de maduración dentro de la médula ósea¹⁰.

El proceso de formación a partir de la célula madre, puede tomar por o menos 1 semana, ya que esta listo el neutrófilo para entrar al torrente sanguíneo, la liberación de la médula ósea se dará por tres factores:

- Un factor que estimula la mitosis de la célula progenitora, el factor estimulante de colonias (CSF), secretada por linfocitos y macrófagos.
- Otro factor que estimula, la movilización de las células de reserva, post-mitótico de la médula ósea (factor de movilización del neutrófilo).
- Una calona que inhibe la mitosis, de las células precursoras, que frena la producción de neutrófilos medulares.

Cuando el organismo necesita más neutrófilos, la médula ósea pone en circulación al cayado, metamielocito y hasta a los mielocitos (desviación a la izquierda), aunque estos no posean la capacidad locomotriz (lentos), quimiotáctica (responde de forma deficiente), ni fagocítica (no son tan efectivos con los microorganismos) con la que responde un neutrófilo maduro.

La médula ósea del hombre contiene aproximadamente, entre 10 y 30 veces la población de neutrófilos circulantes, y ésta reserva se moviliza rápidamente ante una infección.

Como se mencionó, la médula ósea contiene una reserva de neutrófilos (8×10^{11}) en el hombre, que se pueden movilizar en caso de ser necesario. Los neutrófilos de la médula entran al torrente sanguíneo y de ahí son transportados a todo el organismo; en circulación se encuentran aproximadamente 6×10^{10} , de los cuales, la

mitad es secretada en los capilares del pulmón. Cuando dejan el torrente sanguíneo y pasan a los tejidos, los neutrófilos se mueven en forma desordenada y su vida media es de 2 a 7 días. El mecanismo de movilización del neutrófilo hacia el torrente sanguíneo, consiste en, que el neutrófilo se adhiere a la pared endotelial, reptando sobre ella, que se ha hecho más pegajosa, atraviesa las uniones intercelulares de las células endoteliales emitiendo pseudópodos, con movimientos ameboides y fuerzas hidrocinéticas del capilar, se dirige al exterior, cruzando el orificio intercelular (0.4 a 1 micra). Un mecanismo semejante, es el que permite al neutrófilo moverse por los espacios intercelulares del tejido conectivo y de los epitelios de unión y sulcular.

Cuando la membrana plasmática se topa con un elemento extraño (bacteria), se realizan cambios intracitoplásmicos que producen la activación de proteína g que alerta al núcleo, el cual, activa su citoesqueleto y libera su contenido granular. El sistema de membranas también se activa para realizar la translocación granular, formación del fagosoma y exocitosis¹⁰.

El neutrófilo muestra una velocidad aproximada de 400 micras por hora y la célula inmadura sólo de 60.

Glasser, 1983; menciona que el neutrófilo, antes de abandonar la médula ósea, desarrolla un sistema de microvellosidades en su membrana y se encuentra asociado a otras colonias de neutrófilos que se encuentra cerca de los capilares medulares sinusales, listos a ingresar a la circulación, cabe recordar que una vez realizado éste acto, los neutrófilos no pueden regresar.

Glasser y Fiederlein, 1987; encontraron que las propiedades del neutrófilo aparecen: primero, receptores para el Fc de la IgG, fagocitosis inmune, receptores para el complemento, actividad microbicida oxígeno-independiente y finalmente la

quimiotaxis; y conforme maduran, el neutrófilo se hace más deformable, adherente, forma más pseudópodos, ingiere partículas con mayor avidez y aumenta su motilidad.

El movimiento del neutrófilo en distancias largas tiende a cambiar de dirección cada 20 micras, enviando un nuevo pseudópodo en forma desordenada, la célula no activada se mueve en zigzag; y la velocidad con que se mueve varía de acuerdo con las condiciones químicas y físicas del medio en que se desenvuelve.

Harlan et al., 1985; indicó, que la glucoproteína p150 funciona como un elemento de anclaje de la membrana del neutrófilo, confiriéndole parte de su adhesividad, en los procesos de diapedesis, quimiotaxis y fagocitosis; aumentando su pegajosidad.

Para mantener un equilibrio en la proporción de neutrófilos, aproximadamente 10^{11} de ellos, desaparecen de los tejidos cada 24 horas; una de las vías más importantes de excreción, es la orina, ya que el hombre elimina 1'400.00 neutrófilos cada 24 horas; y por fluido gingival, el mismo individuo elimina 70'000.000 en 24 horas.

No se conoce un cementerio especial de neutrófilos, ya que la mayoría de ellos desaparece a través de las membranas mucosas, principalmente en tracto gastro intestinal; otra parte de los neutrófilos, se sabe que se dirigen al hígado y bazo, donde son desintegrados; y otros a los ganglios linfáticos y a la mucosa intestinal para ser eliminados por esa vía¹⁰.

Kowashi et al., 1980 observó, que la población de neutrófilos aumenta hasta el doble, ante la presencia de la Gingivitis a los 10 días de iniciada, y del triple a los 21 días.

La atracción del factor Hageman y la degranulación de las plaquetas, liberan mediadores de la inflamación que alteran la conducta del neutrófilo. La sola exposición del fagocito, a estímulos quimiotácticos, cambia la conducta de ésta célula irreversiblemente, apreciándose diferencias considerables entre el comportamiento biológico del neutrófilo dentro del torrente sanguíneo y el que se encuentra en el exudado inflamatorio.

3.3- MEMBRANA DEL NEUTRÓFILO.

La membrana celular, es la encargada de interactuar con los compuestos moleculares presentes en el fluido extracelular o adheridos a la superficie de otras células o de microorganismos. Tienen la capacidad de responder a estímulos moleculares (proteínas, lípidos, carbohidratos, oligopéptidos), a estímulos quimiotácticos, opsónicos, neuromediadores hormonales y con ciertas proteínas como la fibronectina y laminina.

Esta responde por medio de receptores organizados en su capa anfipática, con proteínas integrales y globulares flotando en una capa bilipídica constituyendo un complejo de lipoproteínas; esta interacción se logra por medio de canales que sirven como transporte iónico activo y por sistemas enzimáticos asociados a la membrana. Existe una gran variedad de receptores para los diferentes factores quimiotácticos, entre los que podemos encontrar:

- Un fragmento opsónico C3 .

- Porción Fc de la IgG.
- Algunos oligopéptidos artificiales (formil- metionil-leucil-fenilalanina).
- C5a, derivado del complemento.
- Factores quimioatrayentes producidos por los mismos neutrófilos.

Los componentes de la membrana son complejos proteínicos, aminoácidos libres, grupos disulfuro, algunos de estos, derivados del ácido araquidónico, como son: 1,2, (6-hidroxi)5,8,10,14-ácido eicosatetraenóico (HETE); la cantidad de receptores así como la adquisición de la membrana es un proceso que va de la mano con la maduración del neutrófilo en la médula ósea.

Estos receptores de membrana se encuentran interiorizados, una vez que el neutrófilo se activa captando el mensaje quimiotáctico, por el proceso normal de reciclamiento de su membrana, que se lleva aproximadamente 1 hora. Los receptores son capaces de desplazarse longitudinalmente de la membrana ayudados por el citoesqueleto, transducen el estímulo quimiotáctico en un movimiento orientado.

En la relación con partículas o superficies en forma no específica dependiendo de la hidrofobicidad de la superficie exterior extraña, las opsoninas van a favorecer la adherencia a los cuerpos extraños, aumentando la hidrofobicidad. Los receptores opsónicos y los quimioatrayentes se forman en las células precursoras del neutrófilo con forme madura¹⁰.

Snyderman, 1984, informó: que cuando la membrana del neutrófilo se estimula, se establecen fuerzas electrostáticas y el potencial eléctrico disminuye, facilitando con ello, la incorporación de partículas extrañas, y por parte del neutrófilo en su superficie externa muestra arborizaciones de glucoproteínas que facilitan la

adherencia de este a la pared endotelial. Cuando la membrana es estimulada, la célula transduce la señal en respuesta funcional, se cree que el tráfico iónico de los canales de transporte de las proteínas integrales en la pared del neutrófilo es fundamental para facilitar una respuesta.

Snyderman, 1984 observó, que la toma de glucosa del neutrófilo es fundamental en procesos de quimioquinesis, quimiotaxis, fagocitosis, es de tipo facilitado a través de los canales de transporte de membrana relacionados con receptores. También se habla de que existen segundos mensajeros que se encuentran comprometidos con la interpretación del mensaje llevándolo al interior de la célula.

Las señales de sensibilidad y trasducción (vía receptores quimiotácticos de la membrana) depende de ciertas reacciones enzimáticas asociadas con el funcionamiento adecuado de la membrana.

Dentro de los elementos quimiotáctico encontramos al C5a (producto del clivaje del complemento) que tiene funciones quimiotácticas y anafilácticas, es un producto derivado de la activación del complemento.

Se han encontrado, linfoquinas derivadas del neutrófilo; tetrapéptidos, eosinofilotácticos contenidos en el mastocito; y factores quimiotácticos para el neutrófilo derivados del mastocito; también existen derivados del metabolismo del ácido araquidónico como el leucotrieno B4.

Sklar, 1986 informó el siguiente número de receptores:

- 100.000 f-Met-Leu-Ph, N-formilpeptídico.
- 200.000 C5a.

- 100.000 PAF.
- 200.000 LTB₄.
- 10.000 C3b.
- 20.000 C3bi.
- 500.000 Fc (IgG).

Cuando hay deficiencia en los receptores, la habrá también en quimiotaxis, aumentando con ello, la secreción de enzimas de los gránulos específicos.

El Ca⁺⁺ intra y extracelular contribuye a la magnitud de la respuesta del neutrófilo hacia los péptidos N-formil, ya que parece ser importante el calcio intracelular en la activación de la célula, además que el calcio extracelular modula el nivel de la respuesta. Todo este ciclo, se completa en los primeros 30 ó 60 segundos seguidos de la exposición del péptido^{10,24}.

El flujo del Ca⁺⁺ utiliza los canales iónicos de la membrana y esta íntimamente relacionado con el metabolismo del ácido araquidónico, así como también de la regulación intracelular; y la regulación intracelular depende de la calmodulina (proteína reguladora del calcio).

Nuccitelli, 1983, indico que el influjo de calcio y el eflujo de cloro son los responsables de la corriente hacia adentro y que el eflujo de potasio es el responsable de la corriente hacia fuera.

La interacción de los péptidos con el neutrófilo se puede complicar, porque:

- El número de receptores varía debido a la expresión de receptores crípticos (aquellos que el neutrófilo dispone para recibir los diferentes estímulos presentes

en la superficie externa, diferenciándolos de los nuevos receptores que se forman por el proceso de degranulación y de fusión de la membrana de los gránulos específicos del neutrófilo con la membrana plasmática¹⁰.

- De la eliminación de receptores ya ocupados reciclamiento aparente de los receptores internalizados
- Alteración de la topografía.
- Distribución de receptores de la membrana.

Finalmente, la cantidad de receptores libres y ocupados se complica, por el procedimiento intracelular y la degranulación de ligandos que conduce a la liberación de fragmentos peptídicos, lo mismo que péptidos intactos.

Se ha determinado que el neutrófilo se comporta como sistema activo clásicamente sensorial capaz de discriminar las diferencias logarítmicas en concentraciones pequeñas; pudiendo decir, que la membrana del neutrófilo presenta una organización bioquímica que la caracteriza como elemento sensible a estímulos del medio ambiente (quimiotaxis).

En resumen, la membrana plasmática cuenta con canales y bombas que permiten el tráfico iónico, que genera potenciales de membrana en todas las células incluyendo al neutrófilo, y que ciertos patrones de organización de los canales, permiten el tráfico y formación del flujo eléctrico asimétrico en la membrana celular y con células vecinas.

El proceso inflamatorio y el de regeneración producen corrientes eléctricas que conducen a la galvanotaxis para el fagocito y el fibroblasto, ya que un área de

inflamación es un sitio de galvanotaxis para el neutrófilo, que tiende a reclutarlo en la zona, mientras que persiste la situación anormal, como gingivitis, o periodontitis.

3.4- COMPONENTE GRANULAR DEL NEUTROFILO.

Los componentes citoplasmáticos principales del neutrófilo son los gránulos, que le atribuyen a la denominación de granulocitos. Existen tres tipos de gránulos:

- **GRANULOS AZUROFILOS:** Constituye del 10 al 20% de la población total; son densos, con un diámetro aproximado de 0.5 micras, rodeados por una membrana unitaria, de forma esferoide o ligeramente ovoide; se forman en la cara cóncava (trans) del aparato de Golgi, en la etapa de promielocito. Entran constituidos básicamente por enzimas lisosomales (fosfatasa ácida), peroxidasa (mieloperoxidasa) lisosimas (33%), y proteínas catiónicas.

Estos gránulos, son lisosomas que contienen varias enzimas hidrolítica con actividad optima en un pH de 5. Contiene fosfatasa ácida alfa-amilasa, α y β -glucosidasa, β -glucuronidasa, elastasa, proteasas neutras, colagenasa y catepsina D. Este grupo enzimático esta capacitado, para desintegrar el material orgánico obteniendo bloques de aminoácidos, azúcares y nucleótido, las enzimas capaces de matar bacterias son las lisozimas y la mieloperoxidasa, en la cual contiene un 5% de la totalidad de la célula y se socia con peróxido de hidrógeno, produciendo oxidación.

Las proteínas catiónicas, son sustancias antibacterianas, capaces de generar la respuesta inflamatoria, sin olvidar, que el elemento principal en la destrucción de

la bacteria es el per3xido de hidrogeno, generado por el neutr3f1lo durante el proceso de fagocitosis.

Las que causan destrucci3n tisular son las proteasa (4), que representan el contenido principal lisosomal para atacar las estructuras extracelulares, y son: Colagenasa (referencia por col3gena tipo I, hueso y tend3n), elastasa (causa mayor da1o tisular), catepsina G y catepsina D.

La elastasa y la colagenasa constituyen el 5% del peso del neutr3f1lo; la elastasa es una prote3na cati3nica, serina proteasa, con un peso molecular de 34.000 daltons, sus substratos principales son elastina, tend3n, pulm3n y membranas b3sales; tiene un substrato especifico que es el col3geno insoluble; esta actúa en forma sin3rgica con la colagenasa especifica. Entre sus funciones tambi3n degrada al proteogluc3n del cart3lago y a las paredes celulares. La elastasa y la colagenasa se liberan en el medio de incubaci3n del neutr3f1lo cuando se exponen ante la presencia de complejos inmunes, desintegr3ndolos.

La catepsina G, es una proteasa neutra, de un peso molecular de 32.000 daltons, este hidroliza los proteoglucanes del cart3lago y ataca el col3geno insoluble, puede ser inhibido por la OC-AT y elementos contenidos en el citosol del propio neutr3f1lo.

La catepsina D trabaja en un pH de 3.0 a 3.5 hasta un pH de 5 (desintegrando los proteoglucanes del cart3lago), su peso molecular es de 42.000 daltons. Su funci3n es la degradaci3n intracelular de prote3nas aut3logas y heter3logas; puede dividir los leucoquin3genos presentes en el exudado inflamatorio, generando leucoquininas activas.

Las proteasas neutras (catiónicas), son capaces de degradar el colágeno y el proteoglicán (cartílago articular), ya que el colágeno lo hidroliza la colagenasa; y los proteoglicanos la catepsina D; y la elastasa y catepsina G atacan a ambos componentes.

Las proteasas neutras pueden contribuir a reacciones inflamatorias, generando factores quimiotácticos a partir del fragmento C5, liberando productos parecidos a la quinina de los quinínogenos plasmáticos¹⁰.

Basándose en experimentos en conejo, se supone que las proteasas neutras llevan a cabo una actividad óptima en pH de 7 y como el pH desciende a 4 en 7 o 15 minutos después de ingerir a la bacteria, se cree que la acción de las proteínas catiónicas (parecidas a la quimiotripsina) ejerzan una acción antimicrobiana enseguida de la ingestión, antes de que el pH descienda. Se sabe, que los gránulos azurófilos, contienen todas las mieloperoxidasas y la beta- glucuronidasa en el neutrófilo humano, también elastasa y catepsina, toda la glucuronidasa ácida y aproximadamente el 50% del contenido lisosomal del neutrófilo y la mieloperoxidasa en el fagosoma.

- **GRÁNULOS ESPECÍFICOS:** Miden (0.2 micras), también están rodeados por una capa unitaria, de forma redonda. Estos, son más numerosos pero más pequeños, se forman en la parte convexa (cis) del aparato de Golgi, dentro de la etapa de metamielocito. También se les puede denominar secundarios, porque aparecen después de los azurófilos.

Contiene lisozimas, una colagenasa especial, lactoferrina, proteínas captadoras de vitamina B12 y citocromo b; contiene activadores de la cascada del

complemento, puede amplificar la acción del C5a, como elemento quimiotáctico y el C3b como agente opsonizante (Gallin, 1985).

Dentro de sus funciones está: la adición de una nueva membrana, ya que influye en los cambios de forma de membrana y el flujo de la misma, durante la quimiotáxis. También disminuye la carga negativa, de la superficie, aumentando con ello, la adhesividad del neutrófilo.

La lactoferrina, facilita la adhesión y la generación del radical hidroxilo, que es un producto altamente reactivo dentro del metabolismo de oxígeno del neutrófilo.

El citocromo b: es importante en la cadena del transporte iónico, relacionado con oxidasa NADPH, hacia la capa interna de la membrana plasmática. Es importante mencionar, que los gránulos específicos, contienen toda la lactoferrina del neutrófilo, ésta también se encuentra en el medio extracelular.

- **GRÁNULOS C / TERCIARIOS:** Spitznagel et. al., 1974 encontraron éste tipo de gránulos en el conejo. Contiene N- acetil- β - glucosaminidasa y una gelatinasa neutra latente, capaz de hidrolizar gran variedad de substratos naturales y sintéticos, incluyendo polisacáridos simples y complejos, oligopéptidos, polipéptidos y ésteres fosfatados.

Borregaard, et. al., 1987, informó: que su composición bioquímica es la fosfatasa alcalina, y el 70% de la fosfatasa alcalina se encuentra en estos gránulos. Los gránulos translocan totalmente su contenido hacia la membrana una vez que el neutrófilo sea estimulado por las concentraciones nanomolares de péptidos,

quimioatrayentes de tipo N-Formil-Metionil-Leucil-Fenilalanina (n-FMLP), que transloca ala membrana más rápido que los dos tipos de gránulos anteriores, también tiene cinésis para la regulación de la membrana del neutrófilo.

Durante el proceso de fagocitosis, los gránulos primarios y secundarios, se liberan hacia el exterior, y los específicos se liberan también sin necesidad de que al neutrófilo lo activen y continúan secretándose durante toda la vida de la célula ¹⁰.

En su funcionamiento normal, los neutrófilos encuentran gran variedad de estímulos que pueden inducir degranulación extracelular, otros, favorecen la exocitosis combinada de los gránulos primarios y secundarios. Cuando el neutrófilo se topa con un estímulo humoral (quimiotáctico), se adhieren al endotelio vascular, migran a los espacios extravasculares y aumentan considerablemente la exocitosis de los gránulos secundarios, recordando que en los primarios es limitada.

Cuando el neutrófilo encuentra estímulos fagocitables en el sitio de la inflamación (microorganismos opsonizados, tejido fagocitable o restos celulares) son substratos no fagocitables que tienen adheridas inmunoglobulinas y productos del complemento, aumentando con ello, considerablemente la secreción del contenido de los gránulos azurófilos, que se estimulan con la presencia de factores tóxicos, lo que conduce finalmente a la lisis o muerte del neutrófilo¹⁰.

La exocitosis granular cambia la carga de la superficie de la membrana del neutrófilo, éste cambio de carga va relacionado con su adhesividad, además, de que la exocitosis de los gránulos secundarios se encuentra asociada al incremento de receptores de la membrana plasmática para los factores quimiotácticos, puede

eventualmente inhibir el número de receptores para otros quimioatrayentes y a la reducción de la respuesta en general de los neutrófilos a diferentes estímulos.

3.5- LISOSOMAS DEL NEUTRÓFILO.

Lisan y degradan gran cantidad de substratos biológicos, organelos presentes en el neutrófilo, con su propia membrana y con un diámetro aproximado de 0.2-0.8 micrómetros.

La lisozima C, contiene 5 enzimas hidrolíticas y prácticamente se encuentran en todos los tejidos:

- Fosfatasa ácida.
- Ribonucleasa ácida.
- Desoxirribonucleasa ácida.
- Catepsina B.
- β -glucuronidasa.

Son estructuras dinámicas que interactúan y se fusionan con otras porciones de los sistemas de membranas del neutrófilo. La síntesis y empaquetamiento de las enzimas lisosomales, se sintetizan en los ribosomas, son transportadas por el Retículo Endoplásmico Rugoso y concentradas en el aparato de Golgi.

Después de la fagocitosis, la bacteria es secuestrada en el fagosoma; la membrana de los gránulos específicos y lisosomales del neutrófilo se fusionan al

fagosoma para verter su contenido enzimático; posteriormente, el fagosoma se convierte en:

- Cuerpo residual. (no digerible)
- Vacuolas especiales autofágicas. (autolisa al neutrófilo)

Los lisosomas del neutrófilo funcionan como sistema vacuolar, fusionándose unas membranas con otras, con las del fagosoma y con las del neutrófilo, ésta solo se logra, cuando existe compatibilidad bioquímica; actualmente se piensa que el 40% de la membrana del neutrófilo la constituyen los lípidos (fosfolípidos y colesterol), organizados en doble capa, con los grupos polares lipídicos orientados hacia el exterior e interior del neutrófilo, en forma asimétrica (organización anfipática); las proteínas se encuentran suspendidas o nadando en la capa bilipídica, permitiendo la formación de canales para el tráfico iónico. Existen otras glucoproteínas que se ramifican al espacio extracelular y otras presentes en el componente interno de la membrana del neutrófilo.

Los lisosomas del neutrófilo contienen enzimas capaces de degradar cualquier macromolécula en los tejidos; dentro de sus funciones, incluyen 60 actividades enzimáticas y sustancias no enzimáticas activas biológicamente.

El sistema de membranas lisosomal y el del neutrófilo pueden ser alteradas durante el proceso inflamatorio, pudiendo ser los culpables del daño, los mismo lisosomas que hidrolizan los lípidos (lipasas neutras, y ácidas, fosfolipasas A-1 y A-2). La fosfatasa actúa sobre la lecitina, generando lisolecitina, que tiene la capacidad de alterar rápidamente las biomembranas, así como la de, generar la fusión con formación de células multinucleadas. Se genera mayor cantidad de lisolecitina, durante la digestión intralisosomal de los lípidos. Estos fenómenos se aprecian dentro

del proceso de fagocitosis y también se cree que éste mecanismo es el que emplea el neutrófilo sobre otras membranas celulares, causando daño con la carga lisosomal.

El grupo enzimático de los lisosomas, puede actuar sobre:

- proteínas y péptidos,
- lípidos y carbohidratos

Y está constituido por:

- Catepsinas A,B,C,D,E; Histonasa, Proteinasa neutra, Arilamidasa, Dipeptidasa, Colagenasa, Elastasa, Activador del quinínogeno; y del plasminógeno, Renina, Proteasa generadoras de factores quimiotácticos, Hidrolasas, Glucosidasa;
- Lipasa ácida y fosfolipasa A-1 y A-2;
- Colesterol, Esterasa, Esterasa organofosfato resistente, Esfingomielinasa, Glucocerebrosidasa y Galactocerebrosidasa;
- Lisozima, Neuraminidasa, α -glucosidasa, β -glucosidasa, α -galactosidasa, β -galactosidasa, α -manosidasa, α -acetilglucosaminidasa, α -acetilgalactosaminidasa, β -glucuronidasa, β -silosidasa, α -1-fucosidasa, β -d-fucosidasa, Sucrasa y Hialuronidasa.
- Ribonucleasa ácida y Desoxirribonucleasa ácida,
- Aril-sulfatasa, Fosfatasas ácidas, Fosfodiesterasas y Fosfoproteína-fosfatasa.

Además, el neutrófilo contiene compuestos no enzimáticos, que se encuentran dentro de los lisosomas como proteínas catiónicas que conducen a la degranulación de los mastocitos y aumento en la permeabilidad vascular, con efecto bactericida, también cuenta con pirógeno endógeno y factores quimiotácticos propios.

La actividad enzimática lisosomal, es capaz de destruir completamente todos los componentes de las células y sus organelos, lo mismo que la matriz intercelular. Existen tres mecanismos de liberación lisosomal hacia el exterior, causando da1o a los tejidos y propagaci3n de la inflamaci3n:

- Lisis del neutr3f3lo, cuando se altera la integridad de la membrana (lisolecitina), interfiriendo con el metabolismo y energ3a de la c3lula o con la s3ntesis de los componentes esenciales de la misma, alterándola intracelularmente.
- Cuando los agentes actúan directamente sobre la membrana lisosomal, dejando sus enzimas difundidas dentro del citosol, causando da1o y muerte al neutr3f3lo.
- Liberaci3n enzimática del neutr3f3lo sin muerte concomitante.

3.6- OPSONIZACI3N DE LA BACTERIA.

La funci3n de las opsoninas es, ayudar al neutr3f3lo a reconocer microorganismos o sustancias extra1as, éstas se pegan espec3ficamente a la bacteria y la marcan, facilitando con ello, la fagocitosis. Ésta ingest3n, se lleva acabo, gracias a la interacci3n de receptores espec3ficos de glucoprote3nas de la membrana del neutr3f3lo, ya que, cuando el neutr3f3lo entra en contacto con la membrana opsonizada, los receptores de la membrana se unen a la bacteria cubriéndola y ayudándola con pseud3podos que envuelven al cuerpo extra1o, los pseud3podos se crean gracias a los cambios locales en la polimerizaci3n y a las uniones de filamentos de actina. Una de las cualidades de los pseud3podos es que permiten la interacci3n de nuevos receptores para las opsoninas.

La opsonización es indispensable para la fagocitosis, además de ser una función vital para el complemento.

La actividad opsonizante del complemento parte del C3, que es la proteína del complemento más abundante en el suero y tiene la capacidad de depositarse sobre las partículas blanco, por medio de la vía clásica (previamente activada por la unión de IgG o IgM en la célula blanco) o por la vía alterna (independiente del anticuerpo).

El receptor C3b, es una glucoproteína de membrana, que también promueve la fagocitosis y la endocitosis por absorción en las vesículas cubiertas. Ésta, se encuentra equipada con sitios de adherencia estable, es una molécula bifuncional, es decir, que tiene por lo menos dos polos para adherirse, uno lábil y otro estable; éste tipo de receptores se ha observado en los macrófagos, neutrófilos y en linfocitos B.

El recubrimiento con el C3b, se realiza durante las reacciones inmunológicas, relacionadas con la formación del complejo antígeno-anticuerpo, para que posteriormente se active el complemento.

El fenómeno de adherencia inmune (unión entre las partículas portadoras de C3b con otras células con los mismos receptores C3b), se relaciona con los mecanismos de opsonización mediados por anticuerpos y complemento C3b, que facilitan la incorporación de partículas por el fagocito.

Otra partícula que sirve como opsonizante, es el C5, que favorece los mecanismos de defensa contra las infecciones bacterianas.

La fagocitosis mediada por receptores para C3 y fragmento Fc, es diferente al final: ya que el Fc está relacionado con la secreción de superóxido y peróxido, y el C3 no. Esto sucede, por que los receptores generan segundas señales intracelulares diferentes, lo que ayuda a un sinergismo durante la fagocitosis.

3.7- CINÉISIS DEL NEUTRÓFILO.

El neutrófilo reptar o trepan, con gran rapidez y agilidad, ya que cuenta con el 10% de actina como proteínas; también tienen la capacidad de adherirse a superficies y toman una forma asimétrica. En estudios in vitro, el neutrófilo muestra una prolongación delgada en su membrana celular, el lamelipodium, que se extiende en dirección del movimiento y es la que le ayuda a realizar los movimientos antes descritos¹⁰.

El lamelipodium, forma una especie de aleta de buceador (pseudópodo ligeramente ondulado), que tiene en su periferia un citoplasma claro o transparente, libre de gránulos. En su parte posterior tiene una constricción que conforma una especie de cola (uropodio) de la cual irradian prolongaciones pequeñas (pseudópodos); también en su parte posterior se encuentran lóbulos del núcleo y el centriólo. Y en la membrana que se encuentra en la cola (cuando el neutrófilo reptar in vitro), se desplazan los receptores membranosos de la célula. Para moverse, el neutrófilo proyecta hacia delante su lamelipodium se adhiere al vidrio y se recoge o tracciona a medida que la célula avanza como en "tracción delantera".

El neutrófilo tiene gran plasticidad, y en estudios recientes se ha encontrado que contiene proteínas contráctiles, responsables de su movimiento locomotor; éstas

proteínas son similares a la actina y miosina, y se ensamblan en microfilamentos que se encuentran organizados directamente con la membrana celular. Los microtúbulos son dímeros que ensamblan la tubulina, conformando estructuras que se encuentran en constante proceso de formación y desintegración, de acuerdo a las necesidades de movimiento de la célula.

Los microtúbulos y microfilamentos, son estructuras del citoesqueleto y se les encuentra relacionadas con los procesos de movilidad celular, adhesión e ingestión, también median la información, captada por los receptores de membrana, los cuales internalizan.

Los microtúbulos son fibras huecas de 24 nanómetros de diámetro, los cuales se ensamblan como polímeros cilíndricos de tubulina (55daltons); los dímeros de tubulina se encuentran disueltos en el citoplasma, en equilibrio con los ya ensamblados, existiendo un balance permanente entre el crecimiento y la disolución de estos, el cual está dado por:

- El acetato de forbol miristato: favorece el ensamblaje.
- Ca: Promueve la disolución de tubulina polimerizada
- PGE-1: promueve el desensamblaje.
- Colchicina y Vimblastina: produce dilución reversible.

El número de microtúbulos aumenta cuando, la célula se expone a diversos estímulos, ya que ayuda a la ingestión de partículas, quimiotaxis, migración, adhesión y degranulación del neutrófilo.

Los microfilamentos son más pequeños que los microtúbulos (6 nanómetros de diámetro), son polímeros de actina que se les encuentra concentrados en áreas en

donde el neutrófilo está adherido o capta partículas. Básicamente constituyen el sistema contráctil; y son importantes para la migración y fagocitosis.

Éste sistema se puede inhibir al interferir con la producción de ATP y ante la presencia de citocalasina B (metabolitos micóticos), disminuyendo con ello, la actividad de la membrana celular del neutrófilo.

3.8- QUIMIOTAXIS.

Es la capacidad de movimiento direccional positivo hacia la bacteria. Normalmente el neutrófilo tiene movimientos desordenados hasta que se encuentra una bacteria, a partir de este momento, se dirige en forma mas o menos recta hacia ella, esto es gracias a su citoesqueleto (microfilamentos, y microtubulos).

La quimitaxis es la atracción positiva que ejercen las bacterias sobre los neutrófilos, la cual se hace, a distancias máximas de 500 a 700 micras; una vez producido este proceso dentro del foco inflamatorio extravascular se desencadena los mecanismos antiinflamatorios.

Zweifach, et.al, 1974, dijo: "El foco inflamatorio tiene la capacidad de atracción para los leucocitos, provocando quimiotaxis en la lesión, asiendo posible aislar la zona de irritación y neutralizarla". Inicialmente el foco de infección tiene influencias quimiotácticas que atraen a los leucocitos para que más tarde, que estas células no se necesiten, se pongan en función los mecanismos antiquimiotácticos.

Parece que la bacteria detecta por si sola el quimioatrayente por quimiorreceptores que tiene en su pared. Existen varios factores que pueden influir en la quimiotaxis, de los cuales se deriva de fuentes no leucocíticas, sin olvidar que los neutrófilos también contienen sustancias quimiotácticas que pueden actuar positivamente o negativamente sobre la célula (contenido lisosomal), enzimas que dividen C5 y C3, factores de inmovilización del neutrófilo y activadores de la vía alterna del complemento.

Zweifach, et.al., 1974, resume "El proceso quimiotáctico presenta primero la irritación endotelial, adherencia de leucocitos, del capilar irritado, emigración, si existe un estímulo quimiotáctico, movimiento de los leucocitos hacia el atrayente (quimiotaxis), contacto y adherencia de la célula con el atrayente, ingestión y destrucción del material fagocitable, aumento de la reserva de las células inflamatorias liberando productos quimiotácticos, hasta llegar a los mecanismos modificantes que apagan o neutralizan y que detienen al sistema, permitiendo la reconstrucción".

El neutrófilo puede presentar variaciones en su función quimiotáctica, si éste esta relacionado con alguna enfermedad sistémica^{1,23}.

La Periodontitis Juvenil Localizada, es otro tipo de enfermedad, en la cual hay una alteración en los canales de activación de Ca^{++} en la membrana plasmática provocando deficiencia quimiotáctica del neutrófilo^{24, 27}.

3.9- EL NEUTRÓFILO EN EL PROCESO INFLAMATORIO.

El proceso inflamatorio incluye la respuesta vascular y tisular, acompañada de mediadores químicos que la regulan (aumentándola o disminuyéndola) y de diferentes elementos del tipo de las monoquininas y linfoquininas, producidas por la red inmunológica.

La intensidad y duración de reacción inflamatoria depende del balance entre la agresividad de la bacteria y la capacidad defensiva del huésped. La salida de fluido, de proteínas y células del sistema vascular recibe el nombre de exudación. El exudado es el fluido extravascular de tipo inflamatorio que tiene un alto índice de concentración proteica, restos celulares.

El pus es exudado inflamatorio rico en proteínas, que contiene gran cantidad de leucocitos (principalmente neutrófilos) y algunos restos celulares, enzimas lisosomales y el grado de actividad proteolítica determina la viscosidad del exudado.

Las manifestaciones locales de la inflamación aguda, tienen tres características:

- 1.- Cambio del fluido vascular y en el calibre de los vasos.
- 2.- Cambios en la permeabilidad vascular.
- 3.- Exudado leucocitario.

El neutrófilo en el vaso sanguíneo, al recibir el mensaje quimiotáctico se adhiere en el endotelio y repta sobre él. El endotelio se hace adhesivo para los leucocitos y las plaquetas 10-15 minutos, después de recibido el estímulo.

La pared capilar se hace frágil y cede fácilmente a la presión externa o a la manipulación. La pared vascular se hace permeable a las proteínas plasmáticas.

La ruptura de los vasos se aprecia principalmente en los sitios de distribución del capilar con lisis de eritrocitos, en estos puntos hay formación de pequeños trombos que taponan los canales vasculares que pueden eventualmente conducir a la necrosis del área irrigada por el vaso.

Los cambios microscópicos se pueden resumir así: vaso dilatación arterial, aumento en el flujo capilar, aumento en la salida de un flujo líquido rico en proteínas (plasma) al compartimento extracelular, obstrucción del flujo venoso, lentitud del flujo capilar (estasis), alteraciones en la pared del capilar (aumento de la permeabilidad), salida de leucocitos de las vénulas, hemorragias con petéquias y eventualmente vasorrexis.

La diapedesis del neutrófilo, la salida de eritrocitos y la pérdida de macromoléculas por su salida hacia el exterior del capilar se presentan especialmente en el vaso venoso por el aumento de la permeabilidad, y el aumento de los espacios intracelulares de las células endoteliales del vaso.

Las células endoteliales se separan de la basal del capilar y entre sí, de manera que se abre la avenida para la diapedesis del neutrófilo. En este momento están actuando el Ca, la laminina (LN), la fibronectina (FN), y las glucoproteínas del neutrófilo.

La agregación plaquetaria in situ puede contribuir a la adhesión del neutrófilo a la pared vascular en su fenómeno de diapedesis. Se sabe que cuando el neutrófilo se

estima por el simple roce, el potencial eléctrico de su membrana desciende notablemente y este hecho también puede facilitar la adherencia y la salida de las células al espacio extravascular.

La adhesión de las plaquetas y su acumulación en la pared vascular sucede especialmente en el sitio de daño a la pared. El neutrófilo se adhiere inmediatamente al sitio; en forma simultánea las plaquetas se adhieren, surgiendo un proceso generalizado y simultáneo con un aumento de pegajosidad del endotelio y del leucocito.

El neutrófilo migra moviéndose en forma más o menos libre y desordenada hasta que llega al sitio de daño, donde cambia de forma, se redondea y se circunscribe al sitio de acción. En este momento está actuando el LIF (factor inmovilizante del leucocito).

El estudio de los fluidos de la inflamación pueden considerarse en tres fases secuenciales; perturbación de la pared vascular, disminución en el flujo y estasis. La disminución en el flujo resulta en el aumento en el diámetro de la pared endotelial de los post-capilares con hemoconcentración, agregación de eritrocitos y estasis. La sangre se hace más viscosa cuando es estática y cuando aumenta la cantidad de elementos celulares por pérdida de plasma.

Los vasos linfáticos en la inflamación, juegan un papel importante para evacuar el fluido extravasado de los capilares sanguíneos. Los linfáticos están organizados en red especialmente en el tejido conectivo. El linfático no tiene capa basal de soporte que une a las células endoteliales entre sí. El linfático no se colapsa a pesar de la presión vecinal, de manera que entre más se edematice el tejido, habrá

mayor tracción y más se abre permitiendo la evacuación del fluido extra, lo mismo que la salida de las células en proceso de deterioro que van a ser transportadas a los sitios de desintegración. (hígado, bazo).

Los linfáticos remueven células, restos tisulares, bacterias, partículas, macromoléculas y fluido del sitio de inflamación. Esta función de los linfáticos permite la resolución de la reacción inflamatoria.

Es muy posible que el proceso o la respuesta inflamatoria por sus características de no especificidad y de no discriminación cuando se inicia por accidente y todos los mecanismos empiezan a operar en forma simultánea, causan daño conduciendo a la morbilidad y muerte del organismo.

Ryan y Maino, 1977, en una revisión sobre inflamación aguda, indican: "Es obvio que las irritaciones locales de cualquier clase inducen una respuesta inmediata aguda, sin importar el agente causante"; ésta respuesta inmediata es disparada por varios mediadores químicos, que aparecen en los tejidos y que actúan en la microcirculación con dos efectos principales:

- 1.-Exudado del fluido.
- 2.- Exudación de células sanguíneas principalmente leucocitos (PMNs).

Ésta es una respuesta no específica. Algunas bacterias pueden producir sustancias quimiotácticas para el leucocito (PMNs).

El tiempo de tránsito de un neutrófilo para migrar a través de la pared endotelial es de 20 seg. El tiempo de aparición del neutrófilo al terreno de la inflamación alcanza un pico a las 4 horas aproximadamente, para luego decrecer. Por

otra parte las células mononucleares empiezan a las 4 horas y obtienen su pico a las 18-24 horas¹⁰.

Desde hace años se propusieron tres hipótesis sobre el mecanismo etiológico de la enfermedad periodontal; la primera consiste en que los individuos son igualmente susceptibles a una o varias bacterias patógenas, la segunda propone que la bacteria es igualmente virulenta y el huésped es el susceptible, por lo que se da comienzo a la enfermedad; la última hipótesis menciona que la enfermedad es consecuencia de una combinación de las dos primeras hipótesis²⁵.

La inflamación gingival se inicia por la colonización bacteriana en la superficie del diente, ésta está caracterizada por un infiltrado de células mononucleares; la proteína-1 (MCP-1) es el quimioatrayente predominante del monocito. El monocito aparece cuando el neutrófilo declina y continúa por un periodo prolongado²⁶.

La mayoría de los constituyentes de la célula (proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, aminoácidos) pueden transformarse y sus derivados pueden ser utilizados, como mensajeros que dirigen el proceso inflamatorio¹⁰.

Los eventos más sobresalientes en el proceso inflamatorio (vasodilatación), pueden ser mediados por distintos mensajeros químicos (quininas, prostaglandinas, adenosinas, histamina). Aproximadamente actúan 30 productos celulares en el proceso de inflamación¹⁰.

3.10- LA FIBRONECTINA Y EL NEUTRÓFILO.

La fibronectina (FN), es una molécula grande de glucoproteínas compuesta de bloques de tres tipos de péptidos, que se repiten en una secuencia regular. Los bloques se organizan en dos subunidades.

Se encuentra distribuida ampliamente en forma soluble, en plasma, líquido cerebro espinal, sinovial, amniótico y seminal, saliva y exudados inflamatorios.

Son muchas las células que la pueden sintetizar y secretar, pero la FN circulante, es producida principalmente en el hepatocito. Hay dos tipos de FN: una soluble y otra insoluble. La soluble se puede secretar, sobre la superficie de la mucosa de la boca y vaginal, tiene un promedio de vida- 74 horas. La FN insoluble, se encuentra en los tejidos uniéndose de forma covalente en fibras multiméricas.

La molécula FN le permite:

- La adherencia de célula a célula, de célula a membrana basal, estabilización del coágulo.
- Embriogénesis.
- Regeneración nerviosa.
- Migración del fibroblastos.
- Función de macrófagos.
- Adherencia de virus, hongos, bacterias y protozoarios a la célula en la matriz extracelular.
- Participa en la patogénesis de la infección.

- Se asociada al proceso inflamatorio desde su iniciación, hasta la cicatrización de la herida, ya que inicia el proceso de cicatrización, el fibroblasto produce fibronectina, la cual actúa como matriz para la secreción de colágena.
- Favoreciendo en la neoformación vascular, estimulando la migración de las células endoteliales.
- Guía a los movimientos de células epidérmicas que cubren el tejido de granulación.
- Ayuda a la organización de la membrana basal de manera que se pueda realizar normalmente la queratinización.
- Favorece la unión de las linfoquinas al macrófago y la expresión de los receptores Fc de los macrófagos.
- Simplifica los procesos de adherencia y quimiotaxis de los fagocitos.
- Aumenta la capacidad bacteriana oxidativa del macrófago.

La Fleur, et. al., 1987; indicó, que además del fibroblasto, el neutrófilo también tiene la capacidad de producir FN.

La FN está comprometida, en los mecanismos de huésped, modula la actividad del sistema monocítico fagocitario, fija al C1q, aumenta la actividad tumoricida del macrófago y activa los receptores del Complemento del Monocito/Macrófago.

El neutrófilo tiene en su membrana receptores para FN que cuando son activados con C5a, y con N- Formil- Metinil- Leucil- Fenilalanina (FMLP). La FN promueve la fagocitosis de las partículas revestidas con C3b. El neutrófilo inactivo, sintetiza y secreta niveles bajos de FN; la cual aumenta cuando se le aísla de un sitio de inflamación del fluido sinovial, de pacientes con Artritis Reumatoide.

El neutrófilo produce su propio FN, que tiene como función aumentar la pegajosidad del neutrófilo a la bacteria opsonizada, favoreciendo con ello la fagocitosis¹⁰.

3.11- PIRÓGENOS, ENDÓGENOS Y NEUTRÓFILOS.

Los pirógenos más importantes son de origen microbiano. Se reconoce la existencia de pirógenos endógenos.

Dentro de los pirógenos microbianos se mencionan la endotoxina de gérmenes gram -, secretada por el estafilococo y algunos carbohidratos y proteínas productos de rickettsias, hongos y virus.

El pirógeno endógeno es producido principalmente por células derivadas de la médula ósea de linaje monocito-macrófago, exactamente de la IL-1.

Se ha identificado el centro termoregulador de la temperatura en la región preóptica del hipotálamo donde hay neuronas termosensitivas. Se piensa que este centro termorregulador se activa por acción del PF. Posiblemente por vía ácido araquidónico-ciclooxigenasas-protaglandinas. La inyección intraventricular del ácido araquidónico desencadena la fiebre (especialmente la PGE).

La fiebre conduce a la reducción de hierro plasmático. Se piensa que la hipofeemia puede ser resultado de PE es decir IL-1, la IL-1 activa al neutrófilo para que libere la lactoferrina que como agente quelante de hierro secuestra el metal presente en el plasma sanguíneo. Esta disminución en la concentración de hierro tiene

significado importante en la limitaci3n del crecimiento de los microorganismos que requieren hierro para su replica y para la s3ntesis de toxinas y otros productos solubles.

Al elevarse la temperatura se presentan algunos cambios en la bacteria: su morfolog3a se altera, los componentes de la membrana que constituyen su pared var3an, decrece la producci3n de ciertos factores virulentos (penicilinas, toxinas) se hace m3s susceptible a la antibioticoterapia y todo el metabolismo bacteriano se altera.

La fiebre se relaciona con el pir3geno leucocitario y con el metabolismo dependiente del ox3geno de neutr3f3lo. La manera de actuar del pir3geno end3geno en el centro termorregulador hipotal3mico parece ser por intermedio de las prostaglandinas que actúan como transmisor neuro-humoral local, la s3ntesis de las prostaglandinas se inhibe por acci3n de la aspirina y la indometacina (antipir3ticos) y la fiebre disminuye.

Se cre3a que el neutr3f3lo era el 3nico responsable de la producci3n de PE; actualmente se sabe que es producido por monocito, macr3fago peritoneal y pulmonar, eosin3f3lo y por c3lulas fagocitarias del h3gado, bazo y n3dulos linf3ticos.

El neutr3f3lo libera el PE al medio externo despu3s de 2 horas y est3 liberando continuamente por cerca de 12 horas.

El pir3geno no se produce si el neutr3f3lo es lastimado o si se mantiene a 0°C de temperatura. Con corticoesteroides y estr3genos se suprime la liberaci3n de PE.

El principal PE que tiene el humano es la IL-1; sin embargo produce también PE que ayuda a aumentar la respuesta febril activando el centro termorregulador hipotalámico.

El PE es producido principalmente por el macrófago y el neutrófilo (células fagocíticas), el linfocito no lo produce pero puede estimular a otras células para que lo produzcan.

El PE no se libere espontáneamente necesita del estímulo de la endotoxina de la fagocitosis. Es necesario que la célula esté en perfectas condiciones de funcionamiento para que libere el PE.

El neutrófilo además del PE contiene moléculas que frenan el proceso, es decir no pirogénicas¹⁰.

3.12- EL NEUTRÓFILO Y LOS MEDIADORES QUÍMICOS DE LA INFLAMACIÓN.

Los mediadores químicos de la inflamación varían considerablemente de célula a célula, y se encuentran especialmente en compartimentos membranosos (gránulos intracitoplasmáticos). Los gránulos son liberados al exterior, transportándolos intracitoplasmáticamente y virtiéndolos a la membrana del fagosoma; o los transporta directamente a su membrana plasmática, lo que exige una fusión selectiva de diferentes organelos del neutrófilo, de acuerdo a su identidad bioquímica.

La célula libera mediadores químicos de la inflamación como respuesta a diferentes estímulos citotóxicos y no citotóxicos; la célula capta el mensaje estimulante en el receptor de membrana, estos estímulos pueden ser:

1. Inmunoglobulinas (que empatan en los receptores Fc de la célula)
2. Anafilotoxinas, derivadas del complemento (que son compuestos de bajo peso molecular, cargados positivamente)
3. Enzimas proteolíticas (trombina para estimular la plaqueta y quimiotripsina que estimula al mastocito)
4. Contacto célula a célula (macrófago/ linfocito, neutrófilo/ neutrófilo)

Existen inhibidores de los mediadores químicos de la inflamación, entre las cuales encontramos al alfa-1 antitripsina que frena la producción de proteasas del neutrófilo.

El neutrófilo por sí solo secreta diferentes mediadores químicos de la inflamación, varios de los cuales producen daño tisular, en especial las proteínas catiónicas (capesinas, elastasas y colagenasas), factores que inducen la liberación del contenido plaquetario, factores quimiotácticos para los mismos neutrófilos, factores que favorecen la degranulación del basófilo y mastocito y pirógenos que contribuyen al aumento de temperatura, reforzando la acción de la IL-1¹⁰.

Las citoquinas como la IL-1 β y el FNT- α poseen gran capacidad de resorción ósea, y son generalmente consideradas como los factores mas importantes en la patogénesis de la enfermedad periodontal. El neutrófilo está relacionado considerablemente con las cantidades de ambas citoquinas in vitro, demostrando que tanto el FNT como la IL-1 provocan la migración del leucocito¹⁹.

El neutrófilo contribuye a la estimulación de la cascada del ácido araquidónico para la producción de prostaglandinas, especialmente de leucotrienos. También actúa como agente procoagulante y fibrinolítico¹⁰.

En el sitio de destrucción tisular se liberan varios factores quimiotácticos y anafilotoxina; entre los que encontramos los factores del complemento de tipo C3, C5 y el complejo C5,6,7; que conducen a la vasodilatación.

El neutrófilo produce calicreína que conduce a la formación de quininas, que son elementos vasoactivos, reconocidos como mediadores en el proceso inflamatorio. También produce factor activador de las plaquetas (PAF), que además de activar a las plaquetas activa a su vez al mismo neutrófilo.

El LTB₄ tiene acción quimiotáctica y favorece la adherencia del neutrófilo a la pared endotelial; también estimula al neutrófilo para que se aglutine, libere productos enzimáticos y genere superóxido (O₂).

3.13- EL NEUTROFILO Y LOS METABOLITOS DE ÁCIDO ARAQUIDÓNICO.

Por la vía del sistema eicosanoide, al activarse el ácido araquidónico, por la vía de la lipooxigenasa, el neutrófilo es el responsable de la producción de varios leucotrienos, como el LTC, LTD₄ y LTE₄, que son capaces de producir contracción del músculo liso.

El ácido araquidónico es liberado por los fosfolípidos de la membrana, sufre un proceso de oxigenación:

- La vía de la ciclooxigenasa.- conduce a la conservación enzimática o de una variedad de productos que incluyen prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos.
- La vía de la lipooxigenasa.- que genera productos inestables de tipo ácido.

Los leucotrienos son mediadores potentes de la función leucocítica, también la prostaglandina y tromboxano A₂; median y modelan los efectos de los leucotrienos en función del neutrófilo.

La concentración del PGD₂ y PGE₂, conducen a la quimiocinésis del neutrófilo, aumentando a la vez su respuesta quimiotáctica.

En concentraciones alta la prostaglandina, provoca la inhibición de la quimiotáxis y puede disminuir la adherencia de los PMNs.

El LTB₄ aumenta en forma directa la adherencia del neutrófilo; en cambio el LTC₄ estimula la generación del tromboxano A₂ (promotor potente de la adherencia del neutrófilo) favoreciendo indirectamente la adherencia del neutrófilo.

El LTB₄ es el modulador más potente de la función del neutrófilo, en concentraciones normales produce quimiotáxis del neutrófilo y en concentraciones de 3-10 veces superior promueve la degradación lisosomal, la agregación y su adherencia.

La adherencia del neutr3falo est1 regulada por Ca, LTB₄, Tromboxano A₂ y fibronectina; el neutr3falo es una c3lula pegajosa; aumentando su adherencia con la estimulaci3n por los diferentes elementos.

Tambi3n los leucotrienos LTC₄ y LTB₄, aumentan la permeabilidad de las venas postcapilares, est3 o no el neutr3falo.

Al conjugarse el ant3geno con el anticuerpo, la membrana se vuelve mas permeable al flujo de calcio, se aprecia aumento en el funcionamiento de la bomba Ca. Esto es esencial para la cascada del 1cido araquid3nico que da lugar a la formaci3n de leucotrienos LTs.

La liberaci3n del 1cido araquid3nico (A.A) de la membrana de fosfol3pidos se encuentra catalizada entre otras enzimas calcio-dependientes.

El neutr3falo se encuentra comprometido en el metabolismo del A.A., su relaci3n se ha demostrado porque el PAF libera LTs; y que los LTs liberan Tx A₂, PGs y tambi3n potencian la actividad de la histamina y la acetilcolina en los fen3menos de contracci3n muscular¹⁰.

3.14- FAGOCITOSIS Y EL NEUTR3FILO.

Para que se realice la fagocitosis tiene que establecer contacto con la bacteria, el contacto debe ser de suficiente duraci3n para que realice el englobamiento de la bacteria. Una vez formada la vacuola fagoc3tica o fagosoma, se desencadena una serie de eventos complejos intracelulares que llevan a la destrucci3n de la bacteria.

Elsbach, 1974; resumió la fagocitosis así:

1. Quimiotaxis.
2. Contacto y adherencia.
3. Ingestión.
4. Digestión o Destrucción.

Durante el proceso de fagocitosis se requiere de gran cantidad de energía suministrada por la vía de glucólisis anaerobia. Para la activación de los microfilamentos de actina y miosina del citoesqueleto del neutrófilo, es necesaria la presencia de ATP y de ciertas cantidades de oxígeno. También se requiere la presencia de Calcio para desarrollar el proceso de fagocitosis.

Las bacterias son destruidas por elementos líticos contenidos en las enzimas de los gránulos del neutrófilo. El elemento más importante capaz de destruir es el peróxido de hidrógeno en combinación de la peroxidasa y de los gránulos azurófilos de un halógeno(Cl, I, Br) constituyendo todo un sistema de ataque.

Otros factores no específicos que influyen en el proceso de fagocitosis son: pH, tensión iónica, presión osmótica y temperatura. La fagocitosis se realiza mejor en un pH de 7.6, pero no se interfiere cuando el pH desciende a 6.

La presión osmótica es fundamental en el proceso de fagocitosis, se ha observado que en pequeños grados de hipertonidad, ésta se inhibe.

La presencia del factor inmovilizante del neutrófilo (LIF), se deriva directamente de los mismos neutrófilos, inhibe el movimiento errático, la migración y

la respuesta quimiotáctica del neutrófilo y eosinófilo. La acción de LIF no interfiere con la capacidad de adherencia con las características fagocíticas de la célula.

Existen sustancias séricas, de tipo anticuerpos- complemento, que se denominan opsoninas, las cuales se adhieren en la superficie de la bacteria con el propósito de hacerlas susceptibles a la fagocitosis.

Los neutrófilos poseen receptores para IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 e IgA1; y no tienen receptores para las IgM, IgD e IgE.

Muchas bacterias requieren de la presencia de agentes opsonizantes, como el C3b para que el proceso de fagocitosis se realice.

Se ha demostrado que el neutrófilo puede ingerir a un microorganismo encapsulado o no opsonizado, siempre y cuando el medio tenga la densidad apropiada para que la célula funcione y pueda aprisionar a la bacteria en las esquinas rugosas del medio, o entre las células, (fagocitosis de superficie).

La célula ingiere el alimento en una bolsa o estómago, para después descargar cantidades de enzimas digestivas, dentro de ella; éste mecanismo asegura la lisis del microorganismo sin que el neutrófilo termine destruyendo sus propias estructuras citoplasmáticas y nucleares.

La digestión de la bacteria por el proceso de degranulación del neutrófilo, se realiza mas o menos en 15 minutos. La bacteria a veces es liberada al medio, (ejestión), lo que equivale a la regurgitación o al proceso de defecación.

El fenómeno de regurgitación durante la alimentación por parte del neutrófilo, que consiste en la salida de algunos elementos enzimáticos en el proceso de fagocitosis, trae como consecuencia el daño a los tejidos vecinos.

Durante el proceso de fagocitosis, el neutrófilo interioriza parte de su membrana celular, y por ello, perdiendo superficie hasta un 50%. También tiene capacidad fagocitaria para incluir en su interior de 20 a 30 microorganismos, de manera que su membrana se continúa perdiendo.

El proceso de fagocitosis, incluye el reconocimiento de la bacteria por parte del neutrófilo, se pone en contacto con la bacteria y la fija en su membrana, posteriormente desarrolla los pseudópodos que se encargan de abrazar al microorganismo e incorporarlo al interior citoplasmático; la bacteria se pone en contacto con la capa externa de su membrana, la cual constituye la vacuola fagocítica o fagosoma.

Cuando el neutrófilo se encuentra en el proceso de fagocitosis libera prostaglandinas y tromboxanos, mediadores potentes de la inflamación.

Cohn, 1963; comprobó que en 20 minutos de adicionarse las bacterias al medio del leucocito, más del 95% de los microorganismos había sido fagocitado, y a los 60 minutos el 99%.

El fagolisosoma es la estructura en donde ocurren los eventos de destrucción de la bacteria, se inicia la degranulación microbiana. Los elementos importantes del fagolisosoma son:

- La membrana que lo forma.

- Proteínas enzimáticas antimicrobianas e hidrolíticas, que degranulan en él.
- pH.
- Composición iónica.
- Exclusión o neutralización de sustancias inhibitoras.

Constituido el fagosoma, se lleva a cabo el proceso de degranulación, los diferentes gránulos del neutrófilo se dirigen hacia el fagosoma, y los diferentes gránulos se vierten en su interior. Primero, degranulan los específicos y luego los azurófilos. El proceso es totalmente endocitoplasmático, por que en el exterior, no se aprecian los elementos correspondientes.

La célula a medida que va degranulando, pierde sus gránulos, con lo que su citoplasma se va desocupando. El neutrófilo va lisando el elemento bacteriano sin comprometer su organización citoplasmática. Los gránulos azurófilos inician su descarga enzimática a los tres minutos, sin ser reemplazados y regenerados.

Al formarse el fagosoma, se lleva a cabo una explosión metabólica en el neutrófilo a los pocos minutos, manifestada por un aumento en el consumo de O_2 , producción de H_2O_2 y lactato.

La mayor parte del contenido granular del neutrófilo se descarga intracelularmente en el fagosoma, pero bajo ciertas circunstancias puede liberarse extracelularmente. Se han reconocido cuatro mecanismos principales:

1. Muerte celular.
2. Perforación intracelular.
3. Regurgitación durante la eliminación.
4. Endocitosis reversa.

Los fenómenos que suceden durante la degranulación de los gránulos azúrofilos son los siguientes:

1. Al entrar las partículas extraña en contacto con la membrana del neutrófilo se inicia la formación del fagosoma. La membrana del gránulo azurófilo entra en contacto con la membrana del fagosoma recién formado y se fusionan con ella. En esta forma vierte su contenido al interior del fagosoma. Este evento sucede mucho antes de que la vacuola se cierre completamente, y por lo tanto puede haber escape de contenido lisosomal al medio externo.
2. La descarga de los gránulos azurófilos es masiva y conduce un alto contenido enzimático en el espacio delgado que queda entre la membrana y la partícula.
3. Salen al exterior cantidades significativas de contenido enzimático mientras sucede el cierre completo de la vacuola fagocítica.
4. Gracias a la descarga granular en las vacuolas completamente cerradas, los neutrófilos tienen capacidad para atacar y degradar substratos extracelulares que son muy grandes para ser englobados (fagocitosis frustrada).

Metcalf et al 1986, esquematizó y resumió la explosión respiratoria del Neutrófilo de la siguiente manera:

1. Una vez estimulada la membrana el oxígeno molecular (O_2) sufre una reducción simple electrónica a superóxido (O_2^-), reacción que se caracteriza por una oxidasa que preferencialmente utiliza NADPH reducido como sustrato.

2. El superóxido se reduce aún mas por dismutación espontánea para formar peróxido de hidrógeno (H_2O_2).
3. La mioloperoxidasa (MPO) es depositada en la vacuola fagocítica donde puede catalizar reacciones microbidas utilizando H_2O_2 y iones halógenos como substratos: estas reacciones pueden conducir a halogenización de las proteínas del microbio.
4. El O_2^- que sale de la vacuola fagocítica es reducido a peróxido por una enzima SOD (superoxide dismutase).
5. El H_2O_2 es reducido por catalasa a O_2 y H_2 ; algún O_2 puede ser reducido a reacción microbicida.
6. La glutatión peroxidasa (GSH-PO) cataliza la oxidación de GSH por el H_2O_2 ; la glutatión reductasa (GSH-RED) usa la NADPH como substrato para reducir el glutatión oxidado(GSSG).
7. Se forma NADPH por oxidación de la glucosa en el cambio de la hexosa-monofosfato (HMS) que es estimulado por la NADP formada subsecuentemente en la reducción de O_2 por la oxidasa que utiliza la NDPH o por la oxidación reversible de GSH.

La función principal del neutrófilo como fagocítico profesional en la respuesta inmune es la degradación y eliminación del material antigénico fagocitándolo y digiriéndolo también puede influir sobre la respuesta inflamatoria local mediante la exocitosis de sus constituyentes intracelulares.

Cuando la membrana del neutrófilo es estimulado por la presencia de una partícula de la membrana.

3.15- MUERTE DEL NEUTRÓFILO GINGIVAL.

El neutrófilo es una célula, que está buscando su cementerio natural: el surco/saco periodontal.

Una vez que el neutrófilo atraviesa la bolsa del epitelio de unión muere bioquímicamente: su bomba (Na-K-Ca) se paraliza lo mismo que su membrana celular.

Su sistema de membrana sufre cambios electrolíticos, bioquímico y enzimáticos que en pocos minutos lo lleva a la muerte. De la muerte celular se pasa a la necrosis por autolisis del neutrófilo. La necrosis es una serie de reacciones hidrolíticas que desintegran la célula y la convierten en una masa de restos.

Las reacciones que ocurren como parte de la necrosis del neutrófilo son importante la desnaturalización de sus proteínas, alteración del pH y cambios iónicos bruscos con pérdida masiva de agua.

La autolisis se refiere a la autodigestión con sus propios componentes enzimáticos.

El neutrófilo es una célula que ha abandonado la ciclo mitótico y a esto debe su vida limitada; una vez que se diferencia empieza a envejecer y al fin muere porque no es capaz de regresar al ciclo mitótico.

A medida que envejece se hace más susceptible a las agresiones del medio ambiente: va perdiendo su capacidad de adaptación. Podemos pensar que el neutrófilo de 14 días de vida ya ha cumplido su ciclo vital y debe abandonar el organismo porque ya no es capaz de cumplir sus funciones metabólicas características.

Algunos de los organelos del neutrófilo pueden estar vivos. Por ejemplo, pueden haber destrucción de ciertos organelos por sustancias tóxicas y el neutrófilo dar la apariencia de que está viviendo, solamente se considera como muerto, cuando se encuentra en franco proceso de autólisis.

Cuando el neutrófilo inicia su agonía lanza pseudópodos hasta constituir un solo pseudópodo que presenta una superficie granular.

El pseudópodo se agiganta en comparación con el resto de la célula que contiene el núcleo la cual se hace rígida e inerte. Durante el proceso de agonía y muerte del neutrófilo la célula se vuelve completamente esférica y los organelos se hacen vacuolares. El edema celular puede hacer explotar a la célula.

Sucedida la muerte del neutrófilo se aprecia edema mitocondrial que termina con formación de vacuolas claras hasta de 3μ de diámetro. El retículo endoplásmico aumenta su hinchazón.

El núcleo también aumenta de volumen y hace esférico, se aprecia inicialmente como cariorexis y cariolisis. Besis 1964, define el momento de la muerte celular como el instante en el cual, la célula no puede mantener su integridad y equilibrio entre el medio interno y externo. El neutrófilo es una célula de vida muy corta.

Cuando la mitocondria se hincha se ha llegado a la muerte, a pesar que su aspecto microscópico indique lo contrario.

Una vez que la célula muerta ha sufrido el fenómeno de plasmolisis y su contenido se ha escapado, los PMNs nuevos que van llegando empujan vigorosamente a un lado a los otros fagocitos que se han organizado alrededor de la célula en forma de roseta con el propósito de capturar una parte.

Policard-Callet y Martin (1961), también han observado que los PMNs no prestan atención a las células muertas.

La necrosis del neutrófilo se caracteriza por hinchazón masiva de las mitocondrias y el aumento de la permeabilidad de las membranas que dejan escapar las proteínas incluyendo enzimas y cofactores de la matriz mitocondrial, la membrana celular también se hace permeable y el citosol se vierte al medio extracelular.

En otra etapa más avanzada se aprecia autodigestión intracelular de los constituyentes de la célula caracterizados por aumento en aminoácidos libres, fósforo, y disminución del contenido protéico del DNA y RNA.

Las macromoléculas del citosol se desintegran por acción de sus compuestos lisosomales incluyendo las hidrolasas. Los ribosomas se desprenden de rER y es muy probable observar en este momento perforaciones en la membrana celular.

Se ha llegado a la fase final de la desintegración de la célula, la cual se ha caracterizado por formación de estructuras anormales en el citoplasma como inclusiones densas a veces más grandes que el núcleo con características lamelares.

Si el medio es hostil para el neutrófilo, la función de su membrana se detiene, sus bombas se paralizan y cesa su normal funcionamiento lo cual conduce a muerte y necrosis celular¹⁰.

In vitro, la nicotina del tabaco (en concentraciones 0.01% a 0.1%), tiene efecto sobre la actividad de los neutrófilos y monocitos; inhibiendo su actividad destructora y fagocítica contra el *A. Naeslundii*, *A. Actinomycetemcomitans* y *Fusobacterium nucleatum*, creando de ésta forma un ambiente favorable para su desarrollo. La nicotina, también inhibe la producción de IL-1 β de monocitos. La inhibición de las funciones de antimicrobianos aeróbicos de los neutrófilos y monocitos por la nicotina pueden alterar la microflora de la cavidad oral, y éste puede ser un mecanismo por el cuál la nicotina compromete la salud bucal de los fumadores. La enfermedad periodontal ha sido asociada a pacientes fumadores y una reducción del flujo de sangre gingival²¹.

3.16- DAÑO TISULAR OCASIONADO POR EL NEUTRÓFILO.

El daño tisular de las reacciones inflamatorias agudas es provocado por el neutrófilo. Los neutrófilos se acumulan donde hay formación de antígeno-anticuerpo

y liberan productos irritantes que actúan sobre gran variedad de substratos produciendo daño tisular.

Los neutrófilos se acumulan donde hay formación de antígeno-anticuerpo y liberan productos irritantes que causan daño tisular.

Los neutrófilos producen enzimas que digieren varios componentes tisulares, generando mediadores celulares o humorales, o tal vez, actuando directamente sobre la célula o sobre blancos extracelulares.

Snyderman, 1984; informó: que las proteasas lisosomales del neutrófilo pueden ocasionar daño tisular al ser liberadas extracelularmente.

La muerte celular permite el escape de todo su contenido, que es altamente dañino. Si el neutrófilo se expone a cierta variedad de toxinas, la membrana celular se lastima y su contenido intracelular se libera junto con los componentes lisosomales, en éstas circunstancias, las enzimas citoplasmáticas, el potasio y los constituyentes celulares, además de las hidrolasas lisosomales que también se liberan.

El neutrófilo funciona junto con la célula responsable de la producción de los mediadores químicos de la inflamación (basófilos, mastocitos, macrófagos, monocitos y plaquetas); al mismo tiempo funciona de manera armoniosa, contribuyendo con sus productos lisosomales y granulares con el sistema de quininas; la cascada del complemento (vía clásica y alterna) Histamina, Serotonina, y productos de la cascada del metabolismo del ácido araquidónico (Leucotrienos, Prostaglandinas, Tromboxano) además de utilizar la vía neuroactivadora de su pirógeno endógeno.

Los otros mecanismos de liberación del contenido celular dañino, para los tejidos adyacentes por parte del neutrófilo son:

- Perforación interna de sus organelos.
- Regurgitación durante la alimentación.
- Endocitosis reversa.

Productos extraños son captados por el neutrófilo y conducidos a su sistema vacuolar, en donde causan rompiendo de los organelos.

El daño a los organelos conduce a la liberación de enzimas lisosomales junto con enzimas citoplasmáticas; todo éste proceso se considera como perforación interior del sistema vacuolar del neutrófilo.

Cuando el neutrófilo esta fagocitando puede liberar su contenido enzimático (regurgitación durante la alimentación); lo que sucede cuando el neutrófilo ingiere complejos insolubles contenidos en el fluido sinovial de artritis reumatoide.

Cuando el fagosoma es incompleto o hay persistencia de canales endocitósicos que permiten liberación de componentes intracelulares, también se causa daño tisular.

Otro mecanismo de escape enzimático que conduce a daño tisular en la endocitosis reversa o fagocitosis frustrada.

Una de las manifestaciones mas importantes del daño tisular por el neutrófilo, es la necrosis por licuefacción que sucede por la acción de las enzimas hidrolíticas del neutrófilo, que conducen a la autólisis y heterólisis de proteínas desnaturalizadas.

La necrosis por licuefacci3n, es caracteristica de los organismos pi3genos (estafilococo, estreptococo y E. coli), que conducen a la formaci3n de exudado purulento.

Existen tres mecanismos de destrucci3n hacia el periodonto provocado por la acci3n del neutr3f1lo:

1. Acci3n directa de elementos citot3xicos producidos por la bacteria.
2. Desafio de ciertas asociaciones polimicrobianas al neutr3f1lo gingival que responde violentamente.
3. Deficiencia de glucoprote3nas de adherencia^{10,17}.

DISCUSIÓN.

La presente tesis, revisa los diferentes mecanismos por medio de los cuales, el neutrófilo “defiende” y activa vías de respuesta inmune que se traducen en resorción o destrucción de los tejidos periodontales; esta dualidad, tiene grandes ventajas como la de controlar y evitar la proliferación masiva de agentes patógenos, y al mismo tiempo alertar a las demás células inflamatorias para proteger de manera eficiente a los tejidos periodontales. Por otro lado, la activación de la respuesta inmune con la consecuente expresión de Interleucinas, factores de necrosis tumoral, prostaglandinas y otros mediadores inflamatorios, promueven el remodelado y/o destrucción de los tejidos periodontales²⁰.

Los mecanismos intrínsecos de destrucción periodontal (Respuesta inmune), pueden ayudar a detener la progresión de la enfermedad por sí sola, pero al mismo tiempo disminuye el soporte periodontal.

Una de las ventajas de la activación de la respuesta inmune por medio de los neutrófilos es la posibilidad de detección y caracterización de la enfermedad periodontal e incluso el desarrollo de medicamentos específicos que puedan inhibir la producción de enzimas proteolíticas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

El estudio de los mecanismos inflamatorios que participan en la gingivitis es complejo ya que están involucrados diferentes tipos de células y diferentes respuestas del huésped.

Es importante hacer énfasis en el conocimiento de la respuesta inflamatoria para poder valorar clínicamente, la respuesta del huésped y así tener un criterio de comparación para evaluar las necesidades de tratamientos auxiliares, tales como administración de antibióticos, ya sean sistémicos o locales, terapia mecánica quirúrgica y no quirúrgica, reforzando la instrucción de higiene personal.

Hace falta mayor investigación en el campo del diagnóstico por pruebas inmunohistoquímicas para la caracterización de las enfermedades periodontales, que puedan llevar a un diagnóstico certero, y sobre todo que dichas pruebas estén al alcance de la consulta privada y de las instituciones de educación.

El Cirujano Dentista de práctica general y de especialidad deben familiarizarse con los procesos inflamatorios relacionados con la gingivitis para el diagnóstico y tratamiento oportuno, lo cual conlleva a un plan de tratamiento adecuado y a una práctica odontológica preventiva y educación para el paciente.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍAS.

- 1.-GENCO, J.R. "Periodoncia". Edit. Interamericana. México, D.F., 1993.
- 2.- SCHLUGGER, S. "Enfermedad Periodontal".
- 3.-SIGUSCH, B. "In Vitro Phagocytosis by Crevicular Phagocytes in Various Forms of Periodontitis". J. Periodontol 1992; 63:496-501.
- 4.-CARRANZA, F.A. "Periodontología Clínica de Glickman." ed 7ª . Edit. Interamericana. México, D.F., 1993.
- 5.-OFFENBACHER, S. "Periodontal Diseases: Pathogenesis". The World Workshop in Clinical Periodontics. 1996; 1: 821-878.
- 6.-MATHUR, A. Col. "Interleukin-1 α , Interleukin 8 and Interferon- α , levels in Gingival Crevicular Fluid." J. Periodontol 1996;31:489-495.
- 7.-TONETTI, M.S. "Molecular factors associated with compartmentalization of gingival immune responses and transepithelial neutrophil migration." J.Periodontol 1997;32: 104-109.
- 8.-BARRIOS, M.G. "Odontología, su fundamento biológico". Tomo I. Edit. Panamericana. Bogotá, Colombia, 1991.

- 9.-ISHIKAWA, I. "Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis." *Periontology* 2000. Vol. 14. 1997: 79-111.
- 10.-BARRIOS, M.G. "Odontología, su fundamento biológico". Tomo II. Edit. Panamericana. Bogotá, Colombia, 1991.
- 11.-PAGE, R.C. "The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease". *J. Periodont Res* 1991; 26:230-242.
- 12.-LINDHE, J. "Periodontología clínica." ed. 2ª. Edit. Médica panamericana. Buenos Aires- Argentina, 1992.
- 13.-THOMAS, F.F. "Compendio de Periodoncia". Edit. Masson., Barcelona, España, 1995.
- 14.-LEBLEBICIOGLU, B. "pH Changes observed in the inflamed Gingival crevice modulate human polymorphonuclear Leukocyte activation in vitro." *J. Periodont.* 1996; 67:472-477.
- 15.-WALTERS, J.D. "Polyamines Found in gingival Fluid Inhibit Chemotaxis by Human Polymorphonuclear Leukocytes In Vitro". *J.Periodontol.* 1995; 66: 274-278.
- 16.-BORETTI, G. "Short- term effects of phase I Therapy on crevicular Cell Populations". *J. Periodontol*, 1995; 66: 235-240.

- 17.-REYNOLDFDS, J.J. "Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis". Periodontology 2000. Vol 14, 1997:144-157.
- 18.-WILSON,M., col. "Citokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria." J. Perodontol. Res 1996;31: 393-407.
- 19.-GILLIAN, M:P, col. "Cytokine Production by Oral and Peripheral Blood Neutrophils in Adult Periodontitis". J. Periodontol 1997;68:832-838.
- 20.-THOMAS, M. "Interleukin-1 β Gene Expression in Human Oral Polymorphonuclear Leukocytes". J. Periodontol 1995;66: 761-765.
- 21.-PABST, M:J. "Inhibition of Neutrophil and Monocyte Defensive Functions by Nicotine". J. Periodontol 1995;66: 1047-1055.
- 22.-TSAI, C.C. "Levels of Interleukin-1 β and Interleukin-8 in Gingival Crevicular Fluids in Adult Periodontitis". J. Periodontol. 1995; 66:852-859.
- 23.-FIRATLI, E; col. "Papillon-Lefèvre Syndrome. Analysis of Neutrophil Chemotaxis." J. Periodontol. 1996;67:617-620.
- 24.-DANIEL, A.M., col. "Defective Chemotaxis and Calcium Response in Localized Juvenil Periodontitis Neutrophils." J. Periodontol 1993; 64:617-621.
- 25.-HART,C.T., col. "Neutrophil Defects as Risk Factors for Periodontal Diseases". J. Periodontol 1994;65:521-529.

- 26.- XIAOHUI, Y.; GRAVES, T.D. "Fibroblasts, Mononuclear Phagocytes, and Endothelial Cells Express Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) in Inflamed Human Gingival". J. Periodontol 1995; 66: 80-88.
- 27.- DE NARDIN, E. "Antibodies Directed to the Chemotactic Factor Receptor Detect Differences Between Chemotactically Normal and Defective Neutrophils From LJP Patients." J. Periodontol. 1990;61: 609-617.