

**PERFIL INFLAMATORIO Y PROLIFERACIÓN FIBROBLÁSTICA EN
AGRANDAMIENTO GINGIVAL EN INDIVIDUOS CON APARATOLOGIA
ORTODONCICA FIJA.**

AUTORES

**LUISA LEONOR ARÉVALO TOVAR
ANTONIO JOSÉ DÍAZ CABALLERO
LIA BARRIOS GARCÍA
CRISTIAN DE JESÚS GONZÁLEZ MORALES
JESSICA PAOLA LOZANO PÉREZ
ALEJANDRA DEL CARMEN HERRERA HERRERA
LUIS CARLOS FANG MERCADO**

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
CARTAGENA DE INDIAS D.T.H. y C.
2013**

**PERFIL INFLAMATORIO Y PROLIFERACIÓN FIBROBLÁSTICA EN
AGRANDAMIENTO GINGIVAL EN INDIVIDUOS CON APARATOLOGIA
ORTODONCICA FIJA.**

INVESTIGADOR PRINCIPAL

LUISA LEONOR ARÉVALO TOVAR

Odontóloga universidad de Cartagena.
Especialista en periodoncia universidad Buenos Aires.
Decana facultad de odontología.

CO-INVESTIGADORES

CRISTIAN DE JESÚS GONZÁLEZ MORALES

JESSICA PAOLA LOZANO PÉREZ

Estudiantes X Semestre de Odontología Universidad de Cartagena.
Estudiante investigador GITOU.

ANTONIO JOSÉ DÍAZ CABALLERO

Odontólogo Universidad de Cartagena.
Especialista en Periodoncia Universidad Javeriana.
Magister en Educación Universidad del Norte.
Candidato a Doctor en Ciencias Biomédicas Universidad de Cartagena.
Profesor Titular.

LIA BARRIOS GARCÍA

Médico. Universidad de Cartagena.
Especialista en Patología Universidad de Cartagena.
Profesora Titular. Universidad de Cartagena.

ALEJANDRA DEL CARMEN HERRERA HERRERA

Odontóloga. Universidad de Cartagena.
M.Sc. Farmacología Universidad de Cartagena. Investigadora GITOU.

LUIS CARLOS FANG MERCADO

Odontólogo Universidad de Cartagena.
M.Sc. Inmunología. Universidad de Cartagena.
Investigador GITOU.

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
CARTAGENA DE INDIASD.T. H. y C.
2013**

DEDICATORIAS

Dedicamos este proyecto a Dios por estar presente en cada acto que realizamos, a nuestros familiares y docentes, especialmente a los doctores Antonio Díaz, Lía Barrios, Luis Carlos Fangy Alejandra Herrera por acogernos en el grupo de investigaciones GITOUC. Les damos infinitas gracias a todos por su apoyo incondicional, por guiarnos, y por enseñarnos que para triunfar hay que luchar y hacer las cosas con gran dedicación y con amor.

AGRADECIMIENTOS

Los autores estamos agradecidos por el soporte infinito que nos ha brindado Dios y cada uno de nuestros familiares.

Agradecemos al Dr. Antonio Díaz por acogernos en el grupo de investigación GITOUC, por sus enseñanzas y por la constante motivación.

Agradecemos a la Dra. Lía Barrios y el grupo de investigación HISTOPATOLOGÍA, facultad de Medicina, por su constante ayuda con nuestro proyecto.

Agradecemos a los auxiliares del laboratorio de Histopatología de la facultad de Medicina toda la colaboración brindada.

Agradecemos a Luis Carlos Fang Mercado, por su constante motivación en este trabajo, enseñanzas brindadas y manejo de tabulaciones en esta investigación.

CONTENIDO

Pág.

LISTA DE TABLAS.....	I
LISTA DE ANEXOS.....	II
RESUMEN.....	III

INTRODUCCIÓN

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
2. JUSTIFICACIÓN.....	17
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
4. MARCO TEÓRICO.....	21
4.1 LA ENCÍA.....	22
4.2 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA.....	24
4.2.1 Epitelio.....	24
4.2.2 Lamina propia.....	30
4.3 AGRANDAMIENTO GINGIVAL.....	33
4.3.1 Etiología.....	35
4.3.2 Histopatología.....	36
4.4 AGRANDAMIENTO GINGIVAL POR ORTODONCIA.....	37
4.4.1 Histopatología.....	38
4.5 BIOPSIAS.....	39
4.5.1 Clasificación de las biopsias.....	41
4.6 ESTUDIO CON MICROSCOPIA OPTICA.....	42
4.7 TÉCNICAS DE PREPARACION HISTOLÓGICAS.....	43
4.7.1 Técnica inmunohistoquímica (IHQ).....	50
4.7.1.1 Materiales adicionales.....	53
4.7.1.2 Pasos.....	53
4.8 BISTURÍ CONVENCIONAL.....	55
4.8.1 Condiciones que requiere un bisturí.....	57
5. METODOLOGÍA.....	58
5.1 TIPO DE ESTUDIO.....	58
5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	58
5.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	59
5.3.1 criterios de selección de los sujetos.....	59
5.3.2 criterios de selección para las unidades muestrales (biopsias) muestras.....	61
5.4 VARIABLES.....	62
5.5 PROTOCOLO DE ESTUDIO CLÍNICO Y DE LABORATORIO.....	63
5.5.1 protocolo de estudio clínico.....	63

5.5.1.1 Selección de los individuos.....	63
5.5.2 protocolo de laboratorio.....	63
5.5.2.1Procesamiento de las muestras.....	63
5.5.3 Análisis histológico con hematoxilina-eosina (H-E).....	66
5.5.4 Análisis histológico con inmunohistoquímica (IHQ).....	66
5.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	68
5.7 ANALISIS ESTADÍSTICO.....	69
6. RESULTADOS.....	71
6.1 Descripción de los hallazgos histológicos en tejido conectivo.....	72
6.2 Descripción de los hallazgos histológicos en tejido epitelial.....	74
6.3 Comparación de hallazgos de tejido conectivo.....	74
6.4 Comparación de hallazgos en epitelio.....	76
6.5 Comparación del recuento de células inflamatorias.....	77
7. DISCUSION.....	78
8. CONCLUSIONES.....	82
9. RECOMENDACIONES.....	83
10. BIBLIOGRAFÍA.....	84

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla1. Descripción de la población de estudio.....	72
Tabla2. Descripción de los hallazgos histológicos en tejido conectivo.....	73
Tabla 3. Descripción de los hallazgos histológicos en tejido epitelial.....	74
Tabla4.Comparación de hallazgos de tejido conectivo.....	75
Tabla5. Comparación de hallazgos de tejido epitelial.....	76
Tabla6. Comparación del recuento de células inflamatorias.....	77

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Consentimiento informado.....	93
Anexo 2. Formato de recolección de datos.....	95
Anexo 3. Carta de aval ético.....	97
Anexo 4. Tabla matriz.....	98

RESUMEN

PROBLEMA: la identificación precisa de poblaciones celulares presentes en tejidos gingivales, la evaluación de su estado funcional y un cálculo de la fracción del volumen que ocupan las células y los componentes intercelulares durante los diferentes estados de una reacción inflamatoria en la encía, son estudiados mediante diversos análisis histopatológicos, pero sin resultados o evidencia científica que caracterice de manera segura y confiable las poblaciones celulares de los tejidos gingivales que presentan agrandamiento asociado a tratamiento ortodóncico. Esto, brinda la oportunidad de crear un conocimiento científico acorde a las exigencias de las diferentes ramas o especialidades odontológicas, para poder cuantificar y describir de manera certera, el edema inflamatorio, los tipos de poblaciones celulares que se detectan en estos tipos de agrandamientos gingival y la proliferación mitótica, lo que brindará mejores oportunidades de enfocar las eventuales soluciones clínicas, desde la conceptualización de las ciencias básicas biomédicas.

OBJETIVO: describir el perfil de células inflamatorias y proliferación de los fibroblastos presentes en muestras de encía sana y encía con agrandamiento gingival de individuos con aparatología ortodóncica fija.

MÉTODOS: se implementó un estudio descriptivo comparativo, sobre 18 muestras de encía con agrandamiento gingival asociado al uso de aparatología ortodóncica fija y 18 muestras de encía sana, a las cuales se les realizaría tinción con

Hematoxilina-Eosina e inmunohistoquímica. Los datos obtenidos se incluyeron en una tabla matriz en Excel, se analizaron en el software estadístico IBM SPSS v.20, las variables cuantitativas de cada grupo se compararon mediante la prueba *t*-Student. Se tuvieron en cuenta como dato significativo valores de $p < 0.05$.

RESULTADOS: como resultado preliminar, sólo se analizaron 8 muestras de encía sana (Sin AG) y 16 con AG para un total de 24 muestras. Se observó espongirosis del 54.2 % (n=13) y ausencia de balonización de 66.7% (n=16), además, evidencia una marcada presencia de exocitosis de leucocitos del 95.8% de las muestras, siendo el 50% de ellos un grado severo. El 75% de las muestras presentó inflamación del tejido conectivo, destacando que el 50% presentó un infiltrado inflamatorio severo, con predominio de células mononucleares en un 100% y neutrófilos en un 66.7%.

CONCLUSIONES: a partir de los hallazgos preliminares se puede concluir, que el diagnóstico histológico con Hematoxilina-Eosina del agrandamiento gingival por aparatología ortodóncica fija está determinado por la presencia de neutrófilos y cambios epiteliales asociados a inflamación como balonización y espongirosis. Aun así, es necesario recolectar un mayor número de muestras, especialmente de encía sana provenientes de individuos con antecedentes de aparatología ortodóncica fija, con la finalidad de corroborar su influencia en dicha patología.

Palabras clave (DecS): sobrecrecimiento gingival, Ortodoncia, Histología, Inmunohistoquímica, Fibroblastos.

INTRODUCCIÓN

En la odontología al igual que en todas las ciencias médicas, el uso de exámenes auxiliares es muy importante y determinante en el momento del diagnóstico clínico, corroborado o asesorado desde las concepciones y prácticas de las ciencias básicas. Las biopsias se practican en la odontología a menudo, porque permite casi siempre el diagnóstico definitivo de una lesión. Los resultados de las biopsias indican el diagnóstico adecuado, el grado de diferenciación, el tipo histológico, la cantidad de infiltrado, la presencia de bordes limpios, etc. de las lesiones malignas que se puedan presentar en boca.

Muchas veces el cuadro clínico de una patología dada, puede simular varias lesiones, las cuales solamente el examen histopatológico puede determinar, con la utilización de la biopsia, como un examen complementario, que ayuda al clínico en sus observaciones. Es muy importante conocer que estos procedimientos de biopsias, son exámenes complementarios, que en ningún momento sustituyen al examen clínico, a la exploración exhaustiva, que posteriormente se le brinda un complemento del diagnóstico clínico, para una mayor certeza científica de lo que se establece como inicio de una terapéutica actual en odontología, con un fundamento mucho más veraz que la experiencia clínica.

La conducta terapéutica de un odontólogo debe basarse en un diagnóstico de certeza, logrado por el conocimiento clínico de las diversas afecciones y corroborado por el estudio histopatológico de estas, además de la fundamentación

científica, lograda por los años de entrenamiento, las lecturas de temas complementarios, la experiencia de la práctica clínica, sumado a las evidencias clínicas y de estudios serios y continuados, que le faciliten una estructura de pensamiento más compleja.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agrandamiento gingival (AG) se caracteriza por una lesión infiltrante, no neoplásica, con un aumento lento y progresivo del tejido conectivo fibroso de la encía y que se acompaña de una reacción inflamatoria secundaria del tejido gingival. Este sobrecrecimiento gingival, determina la aparición de pseudobolsas y con ello la posibilidad de reinfecciones periodontales o recubrimiento dentario excesivo, con grandes probabilidades de causar importantes molestias estéticas y funcionales en los pacientes, como por ejemplo, la interferencia en la oclusión, la fonación, la masticación y dificultad en los procedimientos de higiene bucal, lo que favorece a que las zonas afectadas estén más propensas a caries dental y la constante existencia de periodontopatías. Cuando el aumento de volumen gingival se mantiene durante un tiempo, el equilibrio entre células y fibras se desplaza a favor de estas últimas, constituyendo un entramado que mantienen y perpetua el sobrecrecimiento, incluso si la causa original del mismo desaparece.¹ Entonces, clínicamente la encía afectada se caracteriza por ser gruesa, aumentada de tamaño y de consistencia firme; delimitada a una zona en particular o por el contrario, abarcar varias regiones, condiciones que la diferencia de la inflamación aguda.²

¹ GUIDUCCI, R, *et al.* Tratamiento de la hiperplasia gingival en una escuela odontológica de Brasil. Conceptos generales, diagnóstico y tratamiento. En: Int. J. Odontostomat. 2009, vol. 3, no. 1, p. 55-60.

²CLOCHERET, K, *et al.* Dynamic frictional behaviour of orthodontic archwires and brackets. En: European journal of orthodontics. Abril, 2004, vol. 26, no. 2, p. 163-170.

Histológicamente el AG se caracteriza por la presencia de macrófagos, linfocitos, mastocitos, células endoteliales y tejido nervioso, pero las células más abundantes en este tejido son los fibroblastos. Su volumen se compone de un 5.6% del volumen total de la encía.³ Cortes histológicos de tejidos tratados con ortodoncia, por medio de la tinción Hematoxilina-Eosina (H-E), revelan un mayor número de infiltrado de células mononucleares, hiperplasia y proliferación del epitelio de la bolsa periodontal, en el caso de que concomitantemente exista agrandamiento gingival y periodontitis, y una densa acumulación de células inflamatorias crónicas que ocupan grandes áreas de tejido conectivo.⁴ Además, se describe la presencia de un epitelio irregularmente acantótico, paraqueratósico e hiperqueratósico, vacuolización de la capa de Malpighio, y espongiosis focal. En la lámina propia los hallazgos histológicos observados son el incremento del tejido conectivo, el aumento de la vascularización y el acúmulo de las células inflamatorias con predominio linfocitario y plasmocitario de variable densidad.^{5,6}

La literatura muestra estudios inmunohistoquímicos (IHQ) en pacientes con gingivitis, periodontitis crónica o agrandamiento gingival asociado al consumo de

³REDLICH, MEIR, *et al.* Gingival response to orthodontic force. En: American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 1999, vol. 116, no. 2, p. 152-158.

⁴KRISHNAN, Vinod, *etal.* Gingiva and Orthodontic Treatment. En: Seminars in Orthodontics. 2007, vol. 13, no. 4, p. 257-271.

⁵BAHAMONDES, Carlos. y GODOY, Jorge. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia: report of one case. En: Revista médica de Chile. Marzo, 2007, vol. 135, no. 3, p. 370-374.

⁶GUPTA, Iray VANDANA, KL. Alterations of the marginal soft tissue (gingival margin) following periodontal therapy: A clinical study. En: Journal of Indian Society of Periodontology. 2009, vol. 13, no. 2, p. 85.

medicamentos. Por ejemplo, la presencia de linfocitos T ayudadores (CD4+), linfocitos activados (CD25+) y la presencia de células co-receptoras de células T (CD3+) en tejido conectivo como tipo celular dominante en el infiltrado celular en individuos con periodontitis crónica; otros estudios demuestran la presencia de un número elevado de células B, T y macrófagos en pacientes con periodontitis crónica y estudios comparativos demuestran la presencia de células T en la periodontitis como en la gingivitis con un mayor aumento marcadores celulares CD4 en la periodontitis.⁷⁸ Además hay evidencia sobre la relación patológica existente entre el infiltrado celular y el agrandamiento gingival producido por el depósito intraepitelial de ciclosporina A, especialmente por la presencia de linfocitos T ayudadores (CD4+), linfocitos T citotóxicos (CD8+), monocitos y macrófagos (CD68+).⁹ Y la expresión de células asesinas naturales (CD57+), al parecer estas últimas pueden influir en la capacidad del medicamento para inducir la actividad proliferativa.^{10, 11} Investigaciones *in vitro* en fibroblastos humanos también ratifican una variedad de respuestas celulares individuales en su

⁷ NAKAJIMA, T., *et al.* Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissue. En: Journal of dental research. Julio, 2005, vol. 84, no. 7, p. 639-643.

⁸ DANNEWITZ, Bettina, *et al.* Cyclosporine- induced gingival overgrowth correlates with NFAT- regulated gene expression: a pilot study. En: Journal of clinical periodontology. Junio 2011, vol. 38, no. 11, p. 984-991.

⁹ O'VALLE, Francisco, *et al.* Immunohistochemical study of 30 cases of cyclosporin A-induced gingival overgrowth. En: Journal of periodontology. Julio, 1994, vol. 65, no. 7, p. 724-730.

¹⁰ BULUT, Sule, *et al.* Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations in cyclosporin A-induced gingival overgrowth. En: Journal of periodontology. Agosto, 2002, vol. 73, no. 8, p. 892-899.

¹¹ CÉSPEDES, Rubén Darío Rivarola. gingivales inducidos por fármacos. En: Revista oficial del Circulo de Odontólogos del Paraguay. Noviembre, 2011, vol. 36, no.7, p.456-465.

proliferación, lo que permite establecer como premisa, que existe una modificación epigenética a la presencia de diversos estímulos en las células lo que elicitaba una respuesta diferente de los fibroblastos en cada región, en cada ambiente y en cada grupo poblacional.¹²¹³ Esta heterogeneidad de la morfología y de la actividad fibroblástica puede afectar la actividad sobre los tejidos de la colagenasa y metaloproteinasas.¹⁴

Lo expuesto, indica que existen hasta la fecha una serie de vacíos en relación al análisis de los componentes histológicos, la funcionalidad y las variaciones que se dan a nivel del tejido conectivo en los procesos de agrandamientos gingivales, especialmente aquellos que se asocian a la presencia de aparatología ortodóncica y por tanto, es necesario plantear de manera racional y científica, nuevos conocimientos para el mejor entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos relacionados con la presencia de aparatología ortodóncica fija en la cavidad oral y el eventual desarrollo de agrandamientos gingivales. Por los motivos ya mencionados se enunció la siguiente pregunta: Cuál es el perfil de células inflamatorias y la proliferación de los fibroblastos en muestras de agrandamiento gingival provenientes de individuos con aparatología ortodóncica fija

¹²CASTRO, Luciano ., *et al.* Long-term effects of nifedipine on human gingival epithelium: a histopathological and immunohistochemical study. En: Journal of oral science. Marzo, 2010, vol. 52, no. 1, p. 55-62.

¹³ SOTO, Jorge Ey NAICIPA, Mario. Agrandamientos gingivales inducidos por drogas. En: revista estomatología. Junio, 1995, vol. 5, no. 1, p. 230-234.

¹⁴BAHAMONDES, Carlos. y GODOY, Jorge. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia: report of one case. En: Revistamedica de Chile. Marzo, 2007, vol. 135, no. 3, p. 370-374.

2. JUSTIFICACIÓN

El uso de aparatología ortodóncica es considerada un agente causal de AG debido a la irritación mecánica de las bandas o la irritación química producida por los cementos utilizados para estas; la impactación alimentaria, debido a la proximidad de los alambres del arco a los tejidos blandos o la eliminación ineficaz de la placa bacteriana por la presencia de estos aditamentos y al depósito continuo de níquel, que contienen estos aparatos, a nivel intracelular.^{15,16} Clínicamente, esta patología se clasifica de acuerdo a su ubicación en generalizado o localizado, marginal, difuso, papilar y discreto y según el grado de severidad: siendo 0 para el caso que no presente agrandamiento gingival; grado I donde el agrandamiento se presenta en la papila dental; grado II de la papila se extiende a la encía marginal y el grado III cubre tres cuartas partes de la corona o más.^{17,18,19} Pero histológicamente, sólo se describe que en este tipo de AG hay un infiltrado de células mononucleares que ocupan gran parte del tejido conectivo y un aumento

¹⁵KRISHNAN, op.cit, p.17

¹⁶RAMADAN, A. A. Effect of nickel and chromium on gingival tissues during orthodontic treatment: a longitudinal study. En: World J Orthod. Fall, 2004, vol. 5, no. 3, p. 230-234; discussion 235.

¹⁷BENOIST, H. M., *et al.* Gingival hypertrophy during orthodontic treatment: contribution of external bevel gingivectomy. Case report. En: Odontostomatol Trop. Dec, 2007, vol. 30, no. 120, p. 42-46.

¹⁸SMALL, BW. Esthetic evaluation and treatment of the maxillary anterior--a case report. En: General dentistry. 2003, vol. 51, no. 4, p. 314.

¹⁹MIRANDA, J., *et al.* Reliability of two measurement indices for gingival enlargement. En: Journal of periodontal research. Dec, 2012, vol. 47 no. 6, p. 776-782.

en la actividad proliferativa de los fibroblastos gingivales sin una caracterización concisa del perfil de células inflamatorias presentes y la cuantificación de la proliferación fibroblástica y mucho menos la asociación que existe entre los niveles de expresión de estas células del sistema inmunitario con respecto a la presencia y la severidad de dicha patología.

Por ello, mediante el uso de tinción histológica convencional como H-E y tinciones específicas como la IHQ se pretende indagar sobre la histopatología del agrandamiento gingival, ya que a la fecha existen una serie de vacíos en relación al análisis de los componentes histológicos, la funcionalidad y las variaciones que se dan a nivel del tejido conectivo en los procesos de agrandamientos gingivales, especialmente aquellos que se asocian a la presencia de aparatología ortodóncica y por tanto, es necesario plantear de manera racional y científica, nuevos conocimientos para el mejor entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos relacionados con la presencia de dicha enfermedad. Tampoco existe una clasificación histológica estandarizada de la cuantificación de las células mononucleares halladas en tejidos gingivales ni una premisa con la que se diagnostique la existencia de un proceso fisiológico o patológico a partir de la cantidad o porcentaje de células inflamatorias y fibroblastos encontrados.

Los resultados obtenidos permitirán afianzar el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos relacionados con la aparatología ortodóncica fija en boca y ayudarán a asociar los hallazgos histológicos con las características clínicas del AG por ortodoncia buscando beneficiar a la comunidad académica. Asimismo, se

fortalecerá la línea de investigación de Morfofisiología oral del grupo GITOUC y se formaran nuevas líneas de investigación para el estudio de los AG, incluso, se logrará incursionar en la creación de nuevas estrategias terapéuticas que busquen la re-definición de los planes de tratamiento para el agrandamiento gingival en individuos con aparatología ortodóncica ante la comunidad científica.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Describir y comparar el perfil de células inflamatorias y proliferación de los fibroblastos presentes en muestras de encía sana y encía con agrardamiento gingival provenientes de individuos con aparatología ortodónica fija.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar células presentes en el infiltrado inflamatorio y proliferación de los fibroblastos en muestras de encía sana y encía con agrardamiento gingival mediante tinción con Hematoxilina-Eosina e inmunohistoquímica.
- Cuantificar células presentes en el infiltrado inflamatorio y proliferación de los fibroblastos en muestras de encía sana y encía con agrardamiento gingival mediante tinción con H-E e IHQ.
- Comparar los hallazgos histológicos observados entre las muestras de encía sana y encía con A.G por uso de aparatología ortodónica fija.
- Relacionar los hallazgos histológicos con las características clínicas del AG.

4. MARCO TEÓRICO

Las diferentes formas de enfermedades orales aquejan al ser humano desde comienzos de la historia y en diferentes culturas. La enfermedad periodontal fue una de las enfermedades más comunes encontradas en civilizaciones antiguas y con el transcurrir de los años las investigaciones sobre el tema han aportado adelantos principales en los campos de histopatología, microbiología e inmunología. Esta adecuada interrelación entre las diversas ramas de las ciencias básicas y la periodoncia es importante y necesaria para lograr entender el comportamiento de la enfermedad periodontal.

La identificación precisa de poblaciones celulares presentes en tejidos gingivales, la evaluación de su estado funcional, un cálculo de la fracción del volumen que ocupan las células y los componentes intercelulares durante los diferentes estados de una reacción inflamatoria en la encía brindará mejores oportunidades de enfocar las eventuales soluciones clínicas, desde la conceptualización de las ciencias básicas biomédicas.^{20, 21}

²⁰ONG, Marianne.y WANG, Hom-Lay.Periodontic and orthodontic treatment in adults.En: American journal of orthodontics and dentofacialorthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics. Octubre, 2002, vol. 122, no. 4, p. 420-428.

²¹ANGUITA E, AHUMADA A, SAGLIE R. Interrelation of some dental disciplines and periodontal deseases. En: Revista dental de Chile. febrero, 1996, vol. 56, no. 1, p. 32-7.

4.1 LA ENCÍA

La encía es la parte de la membrana mucosa bucal que cubre los procesos alveolares y las porciones cervicales de los dientes y el surco gingival. El margen gingival se localiza en el esmalte aproximadamente de 0,5 a 2 mm, coronal al cuello²². En dientes humanos este margen tiene una terminación en forma de filo de cuchillo contra el diente, pero redondeado; es frecuente encontrar un surco superficial entre el margen gingival y la superficie dental, esta es la entrada del surco gingival.²³ La superficie gingival está cubierta por epitelio escamoso estratificado; en los humanos este epitelio, es de tipo queratinizado y el de la unión gingivodentaria no es queratinizado.²⁴

El epitelio gingival no es de tipo y grosor uniforme; el borde entre este y la lámina dura subyacente del tejido conectivo es irregular y se caracteriza por rebordes epiteliales profundos que rodean la papila de tejido conectivo en forma de dedo. Estos rebordes y papilas aparecen en las preparaciones histológicas como clavijas

²²EL-QADERI, S. S.y QUTEISH TA'ANI, D. Assessment of periodontal knowledge and periodontal status of an adult population in Jordan. En: International journal of dental hygiene. Agosto, 2004, vol. 2, no. 3, p. 132-136.

²³ MEKHLLOUFI, G., *et al.* pH-Induced structural transitions during complexation and coacervation of beta-lactoglobulin and acacia gum. En: Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids. Enero, 2005, vol. 21, no. 1, p. 386-394.

²⁴DUTTA, Hemonta Kumar. Jaw and gum tumours in children. En: Pediatric surgery international. 2009, vol. 25, no. 9, p. 781-784

interdigitadas o dobles que se distribuyen en forma horizontal y paralela a la superficie de la encía.²⁵

El epitelio bucal de la superficie de la encía se estratifica como la epidermis, en varias capas de células, en la capa basal todas las células reposan sobre el tejido conectivo, de la cual están separadas por una membrana basal. Las células son relativamente pequeñas y cuboidales; las células siguientes constituyen una capa de células espinosas, así llamadas por su relativa longitud. Las células poliédricas de esta capa tienen prolongaciones citoplasmáticas cortas que parecen espinas y se unen con las de las células especializadas. Superficial al estrato espinoso hay varias capas de células aplanadas que forman el estrato granuloso; el citoplasma de estas células presenta gránulos característicos de queratohialina vinculados con la formación de queratina. La capa más superficial es la cornificada que consiste en células aplanadas, colocadas muy unidas, las cuales cuando se queratinizaron perdiendo núcleos y la mayor parte de sus orgánulos, estas tienen paquetes de tonofilamentos que ayudan en su estructura y rigidez.²⁶

²⁵ALBERS, H. K., *et al.* Clinical and histological studies on the effect of a surfactant containing toothpaste on the gingiva. En: Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift. Agosto, 1978, vol. 33, no. 8, p. 559-565.

²⁶LAI, L. L., *et al.* Hereditary gingival fibromatosis: a case report. En: Changgengyixuezhazhi / Changgengjinianyiyuan = Chang Gung medical journal / Chang Gung Memorial Hospital. Diciembre, 1995, vol. 18, no. 4, p. 403-408.

4.2 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA

4.2.1 Epitelio. La mucosa bucal está provista de un epitelio malpighiano, pavimentoso poliestratificado, sin tendencia a tener la capa cornea a excepción de las zonas que fisiológicamente están traumatizadas (paladar duro y región gingival). En estas últimas zonas señaladas, la respuesta al gran rozamiento mecánico fisiológico recibido (masticación y cepillado) se caracteriza por la presencia de queratinización o más bien paraqueratinización ya que hay conservación de núcleos en los estratos superficiales (paraquetarosis). Su superficie es lisa a excepción de la que tapiza la región dorsal de la lengua que está cubierta de papilas.²⁷

La cara profunda, cercana al corion, presenta unas proyecciones cuneiformes irregulares, conocidas con el nombre de conos o crestas interpapilares que proporcionan un ensamblaje íntimo entre el epitelio y el corion subyacente con el intermedio de la membrana basal, el estrato epitelial en contacto inmediato con ésta, se denomina capa basal o germinativa y está formada por una serie de células cúbicas con gran número de mitosis. En condiciones normales en el estrato basal del epitelio bucal se observan unas dos mitosis por campo de cuatrocientos aumentos. Estas constantes multiplicaciones en el estrato germinativo aseguran la integridad estructural del epitelio y su renovación

²⁷TSAMTSOURIS, A.y SAADIA, A. M. Gingivitis in children. En: The Journal of pedodontics. Winter, 1981, vol. 5, no. 2, p. 173-182.

permanente al producirse su emigración hacia estratos superficiales y su posterior descamación.²⁸

Se encuentra de esta manera con dos poblaciones de células epiteliales diferentes. Por un lado, una población progenitora cuya finalidad es la de multiplicarse y por otro lado la población en maduración cuyas células están en un proceso de diferenciación y llegan a formar una capa protectora en la superficie de la mucosa.²⁹

El control de esta proliferación epitelial es mediado por sustancias aún mal caracterizadas bioquímicamente y producidas por las células epiteliales en maduración, llamadas chalonas, que actúan mediante un sistema de retroalimentación negativa. Es decir a menor concentración local de chalonas mayor actividad mitótica. El término chalona procede de la palabra griega que significa «arriar las velas» y es indicativo de su función, pues al actuar las chalonas se «arrían las velas» del ritmo mitótico. Otros factores pueden influir en esta actividad mitótica, como es el momento del día, las inflamaciones, el estrés o la presencia de infiltrados inflamatorios ligeros.³⁰

²⁸MARÍN, Ramona H. Estudio comparativo de las características histológicas de encías clínicamente normales e inflamadas en niños. En: Journal of periodontology. Agosto, 2003, vol. 72, no. 7, p. 892-899.

Por encima de la capa basal está la capa espinosa formada por varios estratos de células de tipo poliédrico, que según se aproximan a la superficie se van aplanando hasta constituir las escamas que se exfolian en la cavidad bucal. La denominación de espinoso depende del característico aspecto de sus células que se presentan como consecuencia de las uniones intercelulares desmosómicas, prolongaciones citoplasmáticas agudas que unen células adyacentes a modo de cremallera, unen y fijan puntos opuestos de superficies celulares contiguas. Las células espinosas, por el contrario, son más grandes y tienen una cantidad de citoplasma menos rico en RNA que las células basales, pero con acumulo creciente de glucógeno en la matriz citoplasmática, lo que va confiriendo a las células de estratos más superiores un aspecto vacuolado.^{31,32,33}

En el epitelio de la mucosa oral hay muy pocos gránulos de queratohialina, no pudiendo hablar con prioridad de un estrato granuloso como en la epidermis. Tampoco se encuentra estrato lúcido, así que en síntesis, el epitelio de la mucosa bucal en las zonas masticatorias consta de una capa basal o germinativa, múltiples estratos (de 20 a 30) de células espinosas que con microscopía óptica

³¹FRYDMAN Jorge. Ortodoncia en adultos, fundamentos biológicos e histológicos. En: Odontostomatologie tropicale= Tropical dental journal. 2006, vol. 31, no. 120, p. 42.

³²URDANETA, Ser o. Efecto de Tres Diferentes Enjuagues Bucles sobre la Mucosa Gingival Humana. Estudio Histológico. En: Investigación Clínica. 2009, vol. 20, no. 1, p. 244-250.

³³ GARCIA, Frankil, *et al.* Microscopia Óptica de la Encía de Niños y Electrónica con Malnutrición Severa. En: archivos dominicanos de pediatría. Mayo-Agosto, 1978, vol. 14, no. 2, p. 265-278

presentan en superficie algunos gránulos de queratohialina sin llegar a conformar un estrato granuloso característico y una capa descamativa en las que las células muy aplanadas, con su citoplasma lleno de gránulos de Odland, filamentos intermedios de citoqueratina y glucógeno, se desprenden hacia la cavidad bucal.^{34,35}

El tiempo de renovación desde la capa basal hasta el momento de la descamación es aproximadamente de siete días. Así pues, el epitelio es sustituido en una semana o diez días aproximadamente.³⁶

Hay otros tipos de células presentes en el epitelio bucal, los no queratinocitos. Estos tipos celulares son: células pigmentarias (melanocitos), células de Langerhans, células indeterminadas, células de Merkel y leucocitos incidentalmente.³⁷

El conjunto de todas ellas puede llegar a constituir el 10 % de la población celular de todo el epitelio bucal. Estas células carecen de desmosomas, excepto las de Merkel.

El color habitual de la mucosa oral depende sobre todo de la presencia mayor o menor de la hemoglobina en los eritrocitos contenidos en las redes capilares

³⁴BERTI SU, op.cit; p 27.

³⁵OLIVO M; .op.cit; p27

³⁶Ibid; p. 27

³⁷Ibid;p27

subyacentes al epitelio y de la cantidad de melanina presente en éste. Las diferencias raciales del color de piel y mucosas no dependen de la cantidad de melanocitos. En las persona de origen africano los melanocitos son algo más voluminosos. Tienen más proyecciones citoplasmáticas (dendríticas) y una mayor actividad que acrecienta la síntesis de melanina. Esta se efectúa a partir de tirosina con catálisis por la enzima tirosinasa se produce dioxifenilalanina y posteriormente, tras polimerización, melanina, la cual se acumula en los melanosomas que desde los dictiosomas del aparato de Golgi van migrando por los procesos dendríticos de los melanocitos y transfiriéndose finalmente al citoplasma de las células epiteliales donde se dispersan. Los melanocitos se sitúan en las zonas más basales del epitelio y pueden demostrarse mediante la reacción de dopa por su argentafinidad y argirofilia, y son positivos para la proteína S-100 y con el anticuerpo monoclonal HMB-45.³⁸

Las células de Langerhans son de origen y significación incierta, guardan relación con el sistema inmunitario actuando como «presentadores de antígenos». Estas células son semejantes a los melanocitos en su forma general y aspecto dendrítico, pero carecen de melanosomas, cuando se observa alguno es probablemente el resultado de un proceso de fagocitosis. Poseen, por otra parte, unos corpúsculos especiales denominados granulaciones de Langerhans, tienen forma de raqueta de tenis y se desconoce su significado. Estas células son argirófilas pero no argentafines, lo cual las distingue de los melanocitos que se

³⁸ Ibid; p. 28

impregnan con las sales argénticas en ambas reacciones. Además, las células de Langerhans son dopanegativas.³⁹

Las células indeterminadas son otro tipo de población celular presente en estos tejidos. Son escasas en número, son también células claras de tipo dendrítico, carecen de melanosomas y de gránulos de Langerhans. Parece probable que sean células indiferenciadas progenitoras de melanoblastos y quizá también de células de Langerhans.⁴⁰

Células de Merkel. Situadas inmediatamente por encima de la membrana basal, estas células poseen tonofilamentos y desmosomas que las unen a las adyacentes. Con impregnaciones argénticas es factible visualizar terminaciones nerviosas sobre ellas, especialmente sobre una zona engrosada de su periferia en el polo celular basal, que tiene forma de almohadilla. Estas células neuroectodérmicas son órganos sensoriales de tipo táctil.⁴¹

Los leucocitos, se encuentran en el epitelio de la mucosa bucal, tanto en zonas queratinizadas como pavimentosas estratificadas sin queratinización es posible encontrar aisladamente algún neutrófilo o linfócito. Este fenómeno está dentro de

³⁹ Ibid; p. 29

⁴⁰ Ibid; p. 29

⁴¹ Ibid; p. 29

los límites histológicos de la normalidad y no tiene significación inflamatoria clínica.⁴²

4.2.2 Lámina propia o corion. La lámina propia o corion está formada por un tejido conectivo de características fibrosas con fibroblastos, fibrocitos y vasos, que aportan a la región del epitelio supra adyacente el pábulo nutricional, pues en los epitelios de cubierta y revestimiento no hay vasos linfáticos ni hemáticos⁴³.

La presencia de estas estructuras vasculares en el corion es la que da el color rosado de la mucosa. La mucosa externa de los labios es de un color más rosado por su menor cantidad de queratina y escamas córneas.⁴⁴

La lámina propia está formada por células, vasos sanguíneos, fibras y elementos nerviosos, todo ello en una sustancia fundamental. Las células que la forman son: fibroblastos, macrófagos, algunos leucocitos y mastocitos. Las fibras son: colágenas, reticulares, elásticas, fibras de oxitalan y fibras elauónicas.⁴⁵

Los fibroblastos son los productores de las fibras y de la sustancia fundamental, jugando un importante papel en el mantenimiento de la integridad de los tejidos. Se trata de células fusiformes con unas largas prolongaciones que se sitúan paralelas a los haces de fibras colágenas. Son células en estado de síntesis activa

⁴² Ibid; p. 30

⁴³ Ibid; p. 30

⁴⁴ Ibid; p. 30

⁴⁵ Ibid; p. 30

con numerosas mitocondrias, un gran retículo endoplasmático y un importante complejo de Golgi. Su capacidad de proliferación es baja a excepción de las regiones en cicatrización. Su capacidad de retractibilidad hace que participen en la contracción de las heridas.⁴⁶

Los macrófagos o histiocitos son células estrelladas o fusiformes que participan en la fagocitosis del tejido dañado o de material extraño. Su citoplasma es eosinófilo y granular. Se concentran en la lámina propia y alrededor de los vasos, nervios y linfáticos. La fuente principal del macrófago es la diferenciación del monocito. Tiene una gran capacidad de producir fosfatasa ácida, betaglucuronidasa y citocromoxidasa.⁴⁷

Los leucocitos se encuentran en el corion y se pueden visualizar algunos linfocitos e incidentalmente neutrófilos que no son significativos de infiltración inflamatoria. En circunstancias normales en cualquier mucosa los linfocitos alcanzan grandes proporciones en las estructuras linfoepiteliales. La presencia de células plasmáticas es indicativa de inflamación y no es nunca un proceso fisiológico, sino un conjunto de fenómenos vasculares y celulares de tipo defensivo y reparativo.

Los mastocitos son células mononucleares esféricas con un gran número de gránulos intensamente teñidos por la hematoxilina y metacromáticos con azul de

⁴⁶ Ibid; p. 31

⁴⁷ Ibid; p. 31

Toluidina que ocupa todo el citoplasma. Estos gránulos son de histamina y heparina, relacionados con las fases vasculares de los procesos inflamatorios.⁴⁸

El colágeno de la lámina propia o corion es principalmente del tipo I, mientras que el de la capa basal es de tipo IV. Son fibras de un grosor variable que ocupan el compartimento extracelular que existe entre las células del tejido conectivo.⁴⁹

El colágeno está formado a base de aminoácidos (glicina, alanina, prolina e hidroxiprolina) y es sintetizado por el fibroblasto, el cual puede también degradarlo. La enzima colagenasa puede lisar el colágeno. Pero la velocidad de síntesis del colágeno debe igualar la degradación en el ligamento periodontal para mantener el equilibrio en el sistema. El colágeno también contiene pequeñas cantidades de glucosa y galactosa y por lo tanto es una glucoproteína. Cualquier disminución en la velocidad de formación o de degradación por parte de los fibroblastos origina respectivamente una pérdida o ganancia del colágeno de los tejidos.⁵⁰

Los fibroblastos poseen la capacidad de producir fibras elásticas y de oxitalan, así como es responsable de la función y mantenimiento de la sustancia fundamental.⁵¹

⁴⁸ Ibid; p. 32

⁴⁹ Ibid; p. 32

⁵⁰ Ibid; p. 32

⁵¹ Ibid; p. 32

4.3 AGRANDAMIENTO GINGIVAL

El agrandamiento gingival se define como una lesión infiltrante, no neoplásica que se caracteriza por un lento y progresivo agrandamiento gingival causada por un sobrecrecimiento del tejido conectivo fibroso colágenos. Clínicamente se caracteriza por presentar un “tejido fuerte” que puede limitarse a una zona o involucrar varias regiones, características que lo distingue de la inflamación aguda.⁵²

Este aumento del volumen de la encía puede generar problemas estéticos, dificultad en la erupción, en el habla y dificultad de la higiene bucal. Según su etiología se pueden clasificar como siendo asociadas a drogas, hereditarios y de tipo inflamatoria idiopática.⁵³

Según los factores causales y los cambios patológicos, el agrandamiento inflamatorio se presenta como crónico o agudo; el agrandamiento gingival se da por uso de fármacos y relacionado con enfermedades sistémicas; el agrandamiento condicionado es el que se presenta en situaciones específicas como el embarazo, la pubertad, deficiencia de vitamina C y gingivitis plasmacitaria. Al mismo tiempo, están los condicionados específicos, como el granuloma piógeno y las sistémicas como la leucemia y enfermedades granulomatosas. También

⁵²GUIDUCCI RC, *et al.* Tratamiento de la Hiperplasia Gingival en una Escuela Odontológica de Brasil. Conceptos Generales, Diagnóstico y Tratamiento. En: Int J Odontostomat.2009, vol. 3, no. 1, p.55-60.

⁵³KAVVADIA, K., *et al.* Gingival fibromatosis and significant tooth eruption delay in an 11-year-old male: a 30-month follow-up. En: International journal of paediatric dentistry / the British Paedodontic Society and the International Association of Dentistry for Children. Julio, 2005, vol. 15, no. 4, p. 294-302.

existen los agrandamientos neoplásicos que se dividen en tumores benignos y tumores malignos. Además de todas las patologías descritas anteriormente, podría presentarse un agrandamiento gingival falso.⁵⁴

En la actualidad el sobrecrecimiento gingival bien secundario a fármacos o idiopático, determina la aparición de pseudobolsas y con ello la posibilidad de reinfecciones periodontales o recubrimiento dentario excesivo. Cuando el sobrecrecimiento se mantiene durante un tiempo, el equilibrio entre células y fibras se desplaza a favor de estas últimas, constituyendo un entramado que mantiene y perpetúa el sobrecrecimiento, incluso si la causa original del mismo desaparece.⁵⁵

La erupción pasiva o retardada así como los alargamientos coronarios determinan la necesidad de reducir la cantidad de encía que circunda los dientes, para favorecer su estética o su función y con ello la lesión a nivel de los tejidos periodontales donde se realice la cirugía, observando cambios microscópicos y produciendo lesión celular.⁵⁶

⁵⁴Ibid; p. 34.

⁵⁵ TAL, H.y STAHL, S. S. Periodontal attachment responses to surgical injury in the cat. Removal of buccal bone with and without placement of foreign body at ligament periphery. En: Journal of clinical periodontology. Enero, 1986, vol. 13, no. 1, p. 45-51.

⁵⁶Ibid; p.34

4.3.1 Etiología. Hay tres tipos de medicamentos de uso común que causa el aumento de las encías: ciclosporina A, fenitoína o epinutim de sodio y bloqueadores de los canales de calcio, siendo las manifestaciones clínicas de estos fármacos son similares. Sin embargo la hiperplasia gingival está estrechamente relacionada con la acumulación del biofilm dental, así como con la duración del tiempo de ingestión de drogas, la susceptibilidad individual, la predisposición genética y los factores hormonales.⁵⁷

La fibromatosis gingival hereditaria congénita es una condición rara, benigna, que se caracteriza por el aumento de volumen parcial o generalizado, lento y progresivo, incluyendo la encía libre. Puede afectar tanto mandíbula como maxila determinando importantes consecuencias estéticas y funcionales. Este aumento se manifiesta clínicamente por la producción de tejido gingival, indoloro, sin sangrado y manteniendo el color rosa punteado de la superficie, llegando a causar trastornos oclusales, aumento de overjet, y sobre-mordida cruzada. Radiográficamente, los dientes están plenamente instalados en el hueso alveolar, sin retraso temporal de erupción, sino que con un enmascaramiento de la posición normal debido a sobrecrecimiento gingival.⁵⁸

⁵⁷GUIDUCCI RC, Op.cit; 35.

⁵⁸GUIDUCCI RC, Op.cit; 35.

Puede ser de herencia autosómica dominante o recesiva; la mayoría de los informes de fenotipos recesivos, que son pocos en relación con el fenotipo dominante, proviene de los matrimonios consanguíneos y / o genes mutantes.⁵⁹

Por otra parte, existen crecimientos gingivales clínicamente similares a los causados por otros factores con causa desconocida asociada pero con fuerte asociación a un trastorno genético. La mayoría de los tipos de hiperplasia idiopática son histológicamente similar a otros tipos de hiperplasia y la mayoría de ellos están vinculados a los cambios genéticos acompañados de otros síntomas, por lo que el nombre de idiopático puede ser sustituido por un trastorno genético.⁶⁰

La asociación entre la higiene bucal y biofilm dental se asocia directamente a la prevalencia y gravedad de sobre-crecimiento gingival inducido por las drogas, lo que sugiere que la inflamación gingival causada por la placa bacteriana desempeña un papel importante en el desarrollo y la expresión de los cambios gingivales.⁶¹

4.3.2 Histopatología. El agrandamiento gingival inflamatorio crónico presenta las siguientes características: líquido inflamatorio y exudado celular, degeneración del

⁵⁹GUIDUCCI RC, Op.cit; 36.

⁶⁰CLOCHERET, K., *et al.* Dynamic frictional behaviour of orthodontic archwires and brackets. En: European journal of orthodontics. Abril, 2004, vol. 26, no. 2, p. 163-170.

⁶¹NISHIKAWA, S. I., *et al.* Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK1+VE-cadherin+ cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages. En: Development. Mayo, 1998, vol. 125, no. 9, p. 1747-1757.

epitelio y tejido conectivo, neoformación de capilares, ingurgitación capilar, hemorragia, proliferación del epitelio y tejido conectivo, nuevas fibras colágenas.

Los componentes microscópicos e histológicos determinan las características clínicas del agrandamiento como color, consistencia y textura. Las lesiones en cuya composición hay predominancia de células inflamatorias y líquidos corresponden a alteraciones degenerativas son de color rojo o rojo azulado, blandas y fiabiles, con una superficie lisa y brillante, y sangra con facilidad. Las lesiones con predominio fibroso, abundantes fibroblastos y haces colágenos son relativamente firmes, resilentes y rosadas.

4.4 Agrandamiento gingival por ortodoncia

Movimiento dental ortodóncico es provocada por la aplicación prolongada de la fuerza en el aparato de inserción. Esto da lugar a cambios celulares y extracelulares dentro del periodonto. Como se muestra en numerosos estudios, movimiento de los dientes se logra después de la remodelación de hueso alveolar y la respuesta del ligamento periodontal a la fuerza mecánica. Aunque también se han encontrado cambios gingivales que pueden ser un factor importante en la respuesta general, el efecto de movimiento ortodóncico de los dientes en la encía ha sido investigado en menor medida. A si mismo se sostiene que los Aparatos de ortodoncia, así como los procedimientos mecánicos, son propensos a evocar respuestas de tejidos blandos locales en la encía. Estos efectos pueden ser ya

sea de carácter positivo, (remodelación fisiológica), ayudando el movimiento dental o los negativos, que deben ser evitados. La principal fuente de resultados negativos implica los accesorios ortodóncico, que inhiben la eliminación eficaz de biopelículas bacterianas (placa dental).La encía gruesa de color rosa y no presenta tendencia a la hemorragia.⁶²

4.4.1 Histopatología: Aún se desconoce el mecanismo fisiopatológico por el cual se origina el agrandamiento gingival inducido por ortodoncia, pero se cree que puede existir un mecanismo de interacción del huésped frente a los diferentes componentes de la aparatología ortodóncica que genere el agrandamiento gingival.

En las muestras gingivales de la Pacientes con agrandamiento gingival, se observa un epitelio bien estructurado, engrosado en todas sus capas, con papilas alargadas muy gruesas insertadas en el tejido conectivo fibroso, se evidencian haces de fibras de colágeno engrosado en el tejido conectivo y abundante infiltrado de células inflamatorio.⁶³

⁶²KRISHNAN, Vinod, *et al.* Gingiva and Orthodontic Treatment. En: Seminars in Orthodontics. 2007, vol. 13, no. 4, p. 257-271.

⁶³GURSOY, UlviKahraman, *etal.* The role of nickel accumulation and epithelial cell proliferation in orthodontic treatment-induced gingival overgrowth. En: European journal of orthodontics. Diciembre, 2007, vol. 29, no. 6, p. 555-558.

4.5 BIOPSIAS

La biopsia es un procedimiento de elucidación diagnóstica a través de la remoción de tejido vivo para el estudio macro y microscópico, que se puede realizar en el consultorio dental cuando se quiera hacer el diagnóstico definitivo de alguna patología bucal. El examen de la biopsia puede realizarse de dos maneras: en tejido vivo, en el caso que se quiere mostrar resultados dinámicos de la fisiología tisular y celular; también, se puede hacer en tejido fijado (formol al 10%), el cual se limita a la observación de las estructuras y hacer una descripción de la misma.⁶⁴

La biopsia de la mucosa bucal en la atención dental, está indicada:

- Para lesiones que no pueden ser diagnosticadas por otros métodos.
- Como ayuda en evolución diagnóstica de enfermedades infecciosas, micóticas y bacterianas.
- Para determinar el tipo de tumor maligno o su grado de malignidad en la clase V de Papanicolaou.
- En lesiones con sospecha de cáncer.
- Cualquier lesión de aspecto clínico compatible con úlcera, ulceración, erosión, ampolla, y que no muestre evidencia de curación en 5 a 10 días.
- Nódulos de crecimiento rápido.

⁶⁴AREMBAND, D.y WADE, A. B. A comparative wound healing study following gingivectomy by electrosurgery and knives. En: Journal of periodontal research. 1973, vol. 8, no. 1, p. 42-50.

No existe ninguna contraindicación para la realización de una biopsia. Por ser el retiro de la lesión más importante para el mantenimiento de la propia vida del paciente. Para las lesiones de pequeño tamaño, cuando se realiza la remoción total (biopsia excisional), interviniendo en áreas vecinas del tejido normal, no existe contraindicación. Aun con el riesgo de diseminar la lesión, en la biopsia incisional, no se puede dejar de realizar la biopsia. Siempre debe obtenerse la autorización del paciente para realizar una biopsia.⁶⁵

Es probable que algunas condiciones sistémicas o generales, contraindiquen una biopsia de la mucosa bucal, como es el caso de:

- Pacientes diabéticos no compensados.
- Pacientes hipertensos no compensados.
- Pacientes cardiópatas no compensados.
- Pacientes anémicos y hemofílicos no compensados.
- Hemangiomas, en la biopsia incisional por el sangrado difícil de controlar.
- Melanomas, en la biopsia incisional puede ocurrir proliferación celular en el interior de los vasos en 24 horas y ocurrir la metástasis.

⁶⁵ARANDA, Jorge, PLATA, Hugo. Conceptos acerca de las biopsias transrectales. En: colegio mexicano de urología. Abril-Junio, 2003.vol. 18, no. 2, p. 45-46.

4.5.1 Clasificación de las biopsias. Son múltiples las formas como se clasifican este examen de laboratorio. Será distinto realizar la biopsia de un fragmento de la lesión o de su totalidad; también veremos que no es lo mismo retirar material sólido y retirar líquidos.⁶⁶

Es así que se tiene en la actualidad las siguientes clasificaciones:

- En cuanto al material retirado, se ve que se puede retirar un fragmento de la lesión, con su porción de tejido sano para hacer las comparaciones; es la biopsia incisional. También se puede remover la totalidad de lesión, con su respectivo margen de seguridad; es la biopsia excisional. En cualquiera de los casos es preciso recoger una cantidad suficiente de tejido.⁶⁷
- En cuanto al posible contenido de la lesión y material utilizado; se pueden clasificar en aquellos que se realizan con bisturí o con “punch” (saca bocados); son las biopsias en material sólido. También se puede retirar el material a evaluar con jeringas de agujas de grueso calibre y con curetas; se refiere a las biopsias a materiales o especímenes líquidos.⁶⁸

⁶⁶ARTAL EM. MAYAYO ARTAL, Emilio. Histopathological diagnosis of mycoses. En: Revista iberoamericana de micología. Marzo, 2004, vol. 21, no. 1, p. 1-9.

⁶⁷Ibid; p. 41

⁶⁸Ibid; p. 421

4.6 ESTUDIOS CON MICROSCOPIA OPTICA

El tipo de microscopio más utilizado es el microscopio óptico, que se sirve de la luz visible para crear una imagen aumentada del objeto. El microscopio óptico más simple es la lente convexa doble con una distancia focal corta. Estas lentes pueden aumentar un objeto hasta 15 veces. Por lo general se utilizan microscopios compuestos, que disponen de varias lentes con las que se consiguen aumentos mayores. Algunos microscopios ópticos pueden aumentar un objeto por encima de las 2.000 veces.⁶⁹

El microscopio compuesto consiste en dos sistemas de lentes, el objetivo y el ocular, montados en extremos opuestos de un tubo cerrado. El objetivo está compuesto de varias lentes que crean una imagen real aumentada del objeto examinado. Las lentes de los microscopios están dispuestas de forma que el objetivo se encuentre en el punto focal del ocular. Cuando se mira a través del ocular se ve una imagen virtual aumentada de la imagen real. El aumento total del microscopio depende de las longitudes focales de los dos sistemas de lentes.⁷⁰

El equipamiento adicional de un microscopio consta de un armazón con un soporte que sostiene el material examinado y de un mecanismo que permite acercar y alejar el tubo para enfocar la muestra. Los especímenes o muestras que se examinan con un microscopio son transparentes y se observan con una luz que

⁶⁹ GENESER F. Histología. México DF Editorial Médica Panamericana. 1996;768.

⁷⁰ Ibid; p. 42.

los atraviesa, y se suelen colocar sobre un rectángulo fino de vidrio. El soporte tiene un orificio por el que pasa la luz. Bajo el soporte se encuentra un espejo que refleja la luz para que atraviese el espécimen. El microscopio puede contar con una fuente de luz eléctrica que dirige la luz a través de la muestra.⁷¹

La fotomicrografía, que consiste en fotografiar objetos a través de un microscopio, utiliza una cámara montada por encima del ocular del microscopio. La cámara suele carecer de objetivo, ya que el microscopio actúa como tal. El término microfotografía, utilizado a veces en lugar de fotomicrografía, se refiere a una técnica de duplicación y reducción de fotografías y documentos a un tamaño minúsculo para guardarlos en un archivo.⁷²

4.7 TÉCNICAS DE PREPARACIÓN HISTOLÓGICAS

Se denomina técnica histológica a todo aquel conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico con la finalidad de conferirle las condiciones óptimas para observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través del microscopio óptico o electrónico.⁷³

⁷¹Ibid; p. 43.

⁷²TERRAZAS, José, *et al.* Nefrectomía laparoscópica con bisturí armónico asistida con la mano y tres puertos en un riñón con pielonefritisxantogranulomatosa: presentación de un caso. En: Revista Mexicana de Urología. Septiembre –Octubre 2005, vol. 65 no. 5, p. 351-356.

⁷³EBEL SEPÚLVEDA, Luis, *et al.* Cáncer evanescente de la próstata: Presentación clínica y revisión histológica. En: Actas Urológicas Españolas. 2009, vol. 33, p. 956-959.

Se pueden distinguir dos tipos de procedimientos:

1. **Inmediatos o vitales:** en los que la muestra a observar se encuentra en el mismo líquido de su hábitat (linfa, suero sanguíneo, agua de estanque, etc), o bien, en algún medio que lo reemplace (solución salina balanceada). Así, es posible observar las células aún vivas, como protozoos, células descamadas o disociadas, estructuras delgadas o translúcidas, sin necesidad de tinciones (observación al estado fresco); hay casos en que la observación de alguna estructura celular específica se facilita con colorantes inocuos para las células, sin modificar su estructura o función (coloración vital). algunos ejemplos de estos colorantes son: tinta china, carmín de litio, azul tripan, verde de Jano, rojo neutro, azul de metileno o naranja de acridina.⁷⁴

2. **Mediatos o postvitales:** permiten observar células de seres vivos que han detenido sus procesos vitales y es necesario conservar su estructura [Sepúlveda et al. 2009]. Para esto es necesario seguir varios pasos:
 - Toma de muestra: biopsia (muestra de tejido u órgano de un ser vivo) o necropsia (obtener muestras a partir de un individuo muerto).

 - Fijación: su fin es dar término a la vida de las células impidiendo cualquier modificación postmortem (procesos autolíticos), manteniendo así la forma de los tejidos sin cambios notables en ellos. Para esto es necesario aplicar

⁷⁴Ibid; p. 44.

fijadores que se clasifican en dos grupos: OXIDANTES (ácido ósmico, ácido crómico, ácido acético, entre otros) y REDUCTORES (formaldehído, glutaraldehído, alcohol metílico, entre otros). Un fijador debe ser fácil de conseguir y manipular, no debe disolver componentes celulares, debe dar cierta dureza a los tejidos sin llegar al punto de hacerlos quebradizos y debe ser de bajo costo económico.

Este proceso se refiere al tratamiento del tejido con sustancias químicas que tienen varias finalidades:

- Conservar los tejidos de forma que muestren el mayor parecido posible a su estado *in vivo*.
- Aumentar la dureza del tejido para facilitar la preparación de finas películas de éste.
- Destruir bacterias y gérmenes que pudieran encontrarse en ellos.
- Interrumpir los procesos celulares dinámicos que ocurren a la muerte de la célula.
- Esto se logra al inactivar ciertas enzimas celulares que de otra manera iniciarían la Autólisis y llevarían a la degeneración post mortem.
- La fijación mantiene las estructuras al estimular la formación de enlaces cruzados entre las proteínas.

- **Deshidratación:** después que la muestra es fijada se elimina el fijador y se deshidrata. Debido a que una gran parte del tejido está constituida por agua, se aplica una serie gradual de soluciones acuosas de menor a mayor de agente deshidratante, por ejemplo, Alcohol Etilico o Acetona. Iniciando con alcohol al 50 %, luego con una solución de 60%, 70%, 80%, 90%, 96% y alcanzando de manera paulatina el alcohol al 100 % para eliminar el agua. Esto se hace porque si se colocara el tejido en una solución al 100% de alcohol inmediatamente, el agua saldría muy rápido del tejido y se deformaría.
- **Aclaramiento:** luego de deshidratar el tejido, se pasa a una solución de una sustancia que es miscible tanto con el alcohol como con el medio de inclusión a utilizar (en la mayoría de los casos se utiliza como medio de inclusión Parafina líquida). La sustancia comúnmente utilizada es el Xileno o Xilol. De la misma manera se coloca la muestra de tejido en un recipiente de Xilol, el Xilol solo es soluble en alcohol al 100%. Se llama aclaramiento ya que el tejido se torna transparente o claro en el xileno, esto se debe a que cambia su índice de refracción. También se pueden utilizar Tolueno, Benzol o Cloroformo como medios de aclaramiento.
- **Inclusión:** a fin de que se puedan obtener cortes suficientemente finos para ser observados al microscopio, los tejidos tienen que ser incluidos y envueltos por una sustancia de consistencia firme. Las sustancias usadas para este fin son: gelatina y parafina. El objeto de la inclusión es:

- Distinguir entre sí las células superpuestas en un tejido y la matriz extracelular.
- Tener un objeto lo suficientemente duro para su manejo y corte.

La inclusión se logra al infiltrar la parafina líquida o cualquier medio de inclusión en estado líquido al tejido, que disuelve el medio de aclaramiento y penetra en el tejido. Por lo general se coloca la muestra de tejido en un recipiente y se le agrega la parafina fundida a 60° C, colocando la muestra en una estufa de 30 minutos a 6 horas manteniendo la temperatura a 60° C.⁷⁵

Debido al calor, el xilol o el benzol se evaporan y los espacios anteriormente ocupados por ellos son ahora ocupados por la parafina. Después se coloca la pieza y un poco de parafina fundida en un molde de papel o metal de forma rectangular y se deja solidificar a temperatura ambiente, formándose un bloque sólido de parafina con el trozo de tejido incluido, a este bloque se le denomina Taco.⁷⁶

- **Obtención del corte:** el taco ahora se puede cortar en secciones lo suficientemente delgadas como para permitir el paso de la luz. La mayor parte de los preparados para microscopía óptica tienen un grosor entre 3 a 10 micrómetros a través del micrótopo, instrumentos mecánicos que

⁷⁵ ARCE, Roger Mauricio, *et al.* Apoptosis of gingival fibroblasts in periodontitis. En: Colombia Médica. 2007, vol. 38, no. 3, p. 197-209.

⁷⁶ *Ibid*; p. 47.

permiten obtener cortes de un grosor uniforme a partir del bloque de parafina con la muestra incluida. Los cortes van siendo colocados en el portaobjetos facilitando esto con una gota de agua que “recibe” el corte.⁷⁷

- **Coloración o tinción:** permite que una estructura celular o tisular adquiera una coloración específica. Se considera teñido cuando al ser lavada la estructura con el disolvente del colorante, esta no se decolora.⁷⁸ Colorante es aquella sustancia capaz de transferir su color a otro cuerpo. Los colorantes pueden ser clasificados en:

- **Naturales:** se extraen de animales como la “chinita” (carmín) o de vegetales (hematoxilina).

Los anteriores pueden ser ácidos, básicos, neutros o indiferentes. Son ácidos o básicos dependiendo si la sal posee la parte ácida o básica con color, respectivamente. Las sustancias que atraen los colorantes ácidos se denominan acidófilas (*eosina*), mientras que las que atraen a los básicos se denominan basófilos (*hematoxilina*). Los neutros en cambio proporcionan color tanto por su parte ácida como por la básica (*azul de metileno, giemsa*). Los indiferentes no forman sales, por lo que no poseen capacidad de disociación electrolítica; son insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos como el

⁷⁷Ibid; p. 48.

⁷⁸Ibid; p. 48.

alcohol, y también grasas o lípidos, por ello son utilizados para detectar presencia de estos elementos en las células y tejidos (*Sudán III*).⁷⁹

Además, de acuerdo a como se tiñen las muestras se reconocen varios tipos de coloraciones.

- **Directa:** tinción de una estructura al contacto con el colorante (azul de metileno=>núcleos)
- **Indirecta:** requiere sustancias intermediarias que faciliten adhesión del colorante (laca o mordiente). Hematoxilina requiere mordiente por ejemplo.
- **Progresiva:** de acuerdo a paso del tiempo se regula la intensidad de la coloración, deteniendo el proceso cuando alcance el nivel deseado.
- **Regresiva:** se sobrecolorea corte y aplicando un diferenciador se extrae parte del colorante hasta lograr la intensidad deseada de tinción.
- **Simple:** se utiliza un solo colorante para teñir una estructura en específico (tionina=>núcleos).
- **Compuesta:** varios colorantes se aplican sobre el corte para contrastar estructuras. Simultánea o sucesiva (hematoxilina-eosina, por ejemplo).
- **Ortocromática:** estructura adquiere el mismo color del colorante (la mayoría de los colorantes).

⁷⁹Ibid; p.49

- **Metacromática:** colorean algunas estructuras del mismo color y otras de color distinto (azul de toluidina).

- **Pancromática:** producida por los colorantes neutros. Tiñen a través de sus partes ácidas y básicas, pero a la vez tiñen otras estructuras de otro color (Giemsa).⁸⁰
 - **Montaje:** consiste en agregar alguna sustancia adherente (resina natural como el bálsamo de Canadá, o resina sintética) diluida en xilol sobre el corte colocado en el portaobjetos ya teñido; las resinas deben tener un índice de refracción similar al del vidrio. Finalmente se coloca el cubreobjeto, cuidando que no queden burbujas; se debe dejar que el xilol se evapore y la resina se solidifique a una temperatura de unos 45° a 50°C durante 24 a 48 horas.⁸¹

4.7.1 TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA

La inmunohistoquímica (IHQ) es un procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de un anticuerpo específico, previamente marcado mediante un enlace químico con una enzima que puede transformar un sustrato en visible, sin afectar la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno,

⁸⁰ Ibid; p. 50.

⁸¹ Ibid; p. 50.

aplicado a una muestra de tejido orgánico, correctamente fijada e incluida en parafina.

Con la utilización de alguna de las técnicas específicas con la (peroxidasa antiperoxidasa, fluoresceína, etc.), el complejo antígeno -anticuerpo así formado puede localizarse e identificarse en las muestras tisulares o citológicas a estudiar, con lo que se identifican los marcadores antigénicos característicos de distintas líneas de diferenciación y funcionalismo celular y se determina el tipo de célula involucrado en la muestra. Esto puede utilizarse para localizar una proteína de interés.

Para la realización de la inmunohistoquímica se utilizan los Cúmulo de diferenciación (CD), estas son moléculas marcadoras en la superficie celular, que reconocen ciertos anticuerpos, usadas para la identificación del tipo de célula, estadio de diferenciación celular y actividad de la misma. Son un sistema de antígenos de superficie celular de los leucocitos humanos, que se caracterizan mediante anticuerpos monoclonales, permitiendo la categorización de los leucocitos y otras células hematopoyéticas (de la sangre). También se conocen como cúmulo de determinantes o de designaciones.

Durante su maduración y diferenciación, los linfocitos inmaduros van recibiendo en su superficie una serie de receptores inmunitarios que van apareciendo a modo secuencial conforme progresa la maduración y luego la diferenciación de los linfocitos. Se les denomina marcadores de *diferenciación* pues le dan a la célula linfocítica componentes fenotípicas únicas del estadio de diferenciación

en que estén. Existen diversos marcadores inmunohistoquímicos para tipificar las poblaciones celulares, entre los que se encuentran CD 20 y CD23 para linfocitos B, CD3, CD4, CD25 para linfocitos T, vimentina para visualizar los fibroblastos, CD68 para macrófagos y KI 67 para la proliferación de fibroblastos. Para tipificar la población celular se emplearon los siguientes anticuerpos monoclonales: CD20 para la población general de linfocitos B; CD3 para la población general de linfocitos T y Vimentina para visualizar la población de fibroblastos;⁸² CD68 como inmunomarcador para los macrófagos y Ki-67 para la proliferación celular de los fibroblastos. Se decidió utilizar estos marcadores después de hacer una revisión de la literatura donde se encontró que en la mayoría de estudios donde utilizaban anticuerpos monoclonales utilizaron estos marcadores, porque presentaban una mayor seguridad y eran específicos para determinar el tipo general de células T y B, y a su vez los fibroblastos y macrófagos, además se sabe que el Ki 67 no solo determina la proliferación de fibroblastos sino también de cualquier tipo de células en proliferación.⁸³

⁸² FONSECA, Ismael Bernardo, *et al.* Expresión inmunohistoquímica de vimentina, CD 34 y c-Kit (CD 117) en tumores estromales gastrointestinales (GISTs). En: International Journal of Morphology. 2010, vol. 28, no. 2, p. 453-459.

⁸³ GOLDSTEIN, Marshay WATKINS, Simon. Immunohistochemistry. En: Current Protocols in Molecular Biology. 2008, p. 14.16. 11-14.16. 23.

4.7.1.1 MATERIALES ADICIONALES

Tejido fragmento o incluido en parafina sección 10% (v / v) % de formalina tamponada neutra o 4 (w / v) en PBS, pH 7.4 (ANEXO 2)

100%, 95%, y 80% de etanol Xilenos Histoclear 0,3% (v / v) H₂O₂/ Metanol

4.7.1.2 PASOS:

1. Sumergir el fragmento de tejido en 10% formalina tamponada neutra% o 4-paraformalde hyde en PBS durante 6 a 8 horas, dependiendo del tamaño del tejido. El tamaño óptimo para el fragmento de tejido es 5 x 5 x 3 mm.

2. Procesar el tejido: Deshidratar 15 minutos en 80% de etanol; 15 y después 20 min en 95% etanol; tres veces, 20 minutos cada uno, en 100% de etanol, y, finalmente, tres veces, 20 min cada uno, en xilenos. Insertar en parafina, sección 5 a 8-m.m de grosor, y coloque las secciones en poli-L Diapositivas-lisina.

3. Después que los cortes de tejido se encuentran en la diapositiva-lisina, se seca la diapositiva 1 hora en un horno a 60°.

Este procedimiento de secado elimina el agua debajo de la sección de tejido y hace que la sección se adhiera mejor a la diapositiva.

4. Desparafinar la diapositiva colocándola por dos cambios de 5 minutos cada uno en Histoclear, 100% etanol, y 95% de etanol.

5. Para bloquear la peroxidasa endógena, incubar el portaobjetos 10 min en 0,3% de H₂O₂/ Metanol.

6. Lavar los portaobjetos dos veces en PBS, 10 min cada uno a temperatura ambiente.
7. Añadir solución de bloqueo a la diapositiva y se incuba 15 min. Incline la diapositiva para eliminar la solución. Antes de ir a la siguiente etapa (la aplicación del anticuerpo), eliminar la mayor cantidad de el líquido como sea posible, sin tocar el tejido o dejando que la parte seca.
8. Aplicar el anticuerpo primario diluido en cantidad suficiente para cubrir el tejido dentro del área marcada por el lápiz de cera. Incubar durante 30 a 60 min a temperatura ambiente.
9. Lavar el portaobjetos dos veces en PBS, 10 minutos cada uno.
10. Aplicar. Diluyó el anticuerpo secundario biotinilado al tejido dentro del contorno de cera. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
11. Lavar el portaobjetos dos veces en PBS, 10 minutos cada uno.

Detectar anticuerpos unidos

12. Incubar el portaobjetos 20 min en conjugado con HRPO complejo avidina-biotina (ABC).
13. Lavar el portaobjetos dos veces en PBS, 10 minutos cada uno.
14. Añadir la solución de sustrato AEC a la diapositiva y se incuba 5 a 10 minutos.
15. Transferir el portaobjetos a un recipiente de Coplin o recipiente de tinción y lavar 10 minutos en la gestión del grifo agua. Dirigir la corriente de agua en una esquina del recipiente para proporcionar una buena circulación y para evitar el contacto con el tejido en el portaobjetos.

Contrateñir tejido

16. Sumerja el portaobjetos en contratinción con hematoxilina durante 30 segundos a 2 minutos.
17. Lavar el portaobjetos 10 minutos en agua del grifo.
18. Coloque 1 ó 2 gotas de Aquamount en el tejido.
19. Coloque un cubreobjetos sobre el tejido y, si lo desea, selle con esmalte de uñas transparente para evitar secado. ⁸⁴

4.8 BISTURÍ CONVENCIONAL

Los antecedentes más remotos del bisturí corresponden al período mesolítico, hacia el año 8000 AC, cuando el hombre creaba objetos filosos a partir de rocas y vidrio volcánico, para perforar el cráneo y dejar salir a los demonios que provocaban dolores de cabeza y epilepsia. También fueron utilizados como cuchillas, láminas delgadas de marfil, palmeras endurecidas y dientes de tiburón dentro del armamentarium de instrumentos que en la antigüedad se utilizaban. ⁸⁵

Sin embargo el primero en describir un instrumento quirúrgico fue el médico griego Hipócrates: en documentos que datan del año 400 AC, el llamado padre de la medicina occidental se refiere al uso del macairion (término derivado de makhaira,

⁸⁴HOFMAN, Florence. Immunohistochemistry. En: Current protocols in immunology / edited by John E. Coligan et al.. Agosto, 2002, vol. 21, no6 p. 21- 24.

⁸⁵AREMBAND D,.Op.cit; 55.

un tipo de espada antigua) como herramienta de cirugía. También el médico y filósofo griego Galeno (129-216 DC), destacado cirujano en Roma, utilizó la palabra *smilé* para denominar al escalpelo (del latín *scalpere*: cortar), cuchillo de hoja puntiaguda y cortante utilizado en procedimientos quirúrgicos.⁸⁶

El término *bisturí*, proveniente del francés *bistouri*, comenzó a utilizarse a partir del siglo XV (en algunas regiones del mundo se sigue denominando con el nombre derivado del latín y en otras se usan los dos nombres como sinónimos). El médico francés Ambroise Paré (1510-1590), considerado el padre de la cirugía moderna, contribuyó a refinar el *bisturí*. Pero fue a mediados del siglo XVIII cuando comenzó a producirse con un acero más trabajado y resistente a la corrosión y aparecieron las primeras fábricas de cuchillería quirúrgica en Alemania, Francia y Holanda.⁸⁷

En el siglo XIX, el médico escocés William Macewen, pionero en osteotomía y neurocirugía, introdujo la hoja de bisel simétrico para cortes precisos y controlados de huesos. Su aporte fue determinante, pues aún a finales del siglo XX se utilizaban escalpelos basados en ese modelo para operaciones ortopédicas.⁸⁸

Los cortes microscópicos, sumamente finos y precisos, se hicieron posibles gracias al médico y científico venezolano Humberto Fernández Morán, quien a

⁸⁶AREMBAND D,Op.cit; 56.

⁸⁷AREMBAND D,Op.cit; 56.

⁸⁸AREMBAND D,Op.cit; 56.

finales de la década de los cuarenta inventó el bisturí de diamante. Esta herramienta tiene la ventaja adicional de mantener su filo por largo tiempo.

Hoy se producen bisturíes diseñados para distintos tipos de incisiones: con hojas redondeadas o triangulares y largas o cortas.⁸⁹

El tipo de bisturí más frecuente tiene un mango reutilizable con una hoja desechable. La hoja se fija al mango resbalando la hendidura dentro de las muescas del mango. Al fijar o sacar la hoja del mango nunca utilizar los dedos, todo por medio de pinza. Las hojas difieren en tamaño y forma; para los mangos de bisturí número 3 y número 7 se utilizan las hojas del número 11 al 15, y para el mango de bisturí número 4 se utilizan las hojas número 20 al 24.⁹⁰

4.8.1 Condiciones que requiere un bisturí

- Que la hoja sea lo suficientemente fuerte para que no se doble
- Que el mango sea del tamaño y grosor suficiente para ser manejado con comodidad.
- Que la punta y el borde cortante estén bien afilados⁹¹

⁸⁹AREMBAND D,Op.cit; 57.

⁹⁰AREMBAND D,Op.cit; 57.

⁹¹AREMBAND D,Op.cit; 57.

5. METODOLOGÍA

5.1 TIPO DE ESTUDIO:

El tipo de estudio que se realizó fue descriptivo comparativo.

5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población de este estudio fueron los individuos que acudían al postgrado de ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena en el periodo comprendido entre febrero y abril del 2013.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se tuvo en cuenta un error tipo 1 del 5% y una diferencia esperada, con respecto a la cantidad de células inflamatorias, de 44,4 entre el grupo de muestras con agrandamiento gingival (34,5) y sin agrandamiento gingival (78,9) dando un tamaño de 32 muestras, a esto se le ajustó un 10% por daños de muestra, dando un total de 36 muestras.⁹² De las cuales, se escogieron 18 para el grupo “Con AG” (muestras de encía con agrandamiento gingival) y 18 para el grupo “Sin AG” (muestras de encía sanas). Este segundo grupo a su vez se dividió en dos subgrupos: **Subgrupo A:** 9 muestras provenientes de individuos sanos gingivalmente con al menos un año de tratamiento ortodóncico y por razones estéticas requieran alargamiento coronal.

⁹² AIMETTI, Mario, *et al.* Non-surgical periodontal treatment of cyclosporin A-induced gingival overgrowth: immunohistochemical results. En: Oral diseases. Abril, 2008, vol. 14 no. 3, p. 244-250.

Subgrupo B: 9 muestras provenientes de individuos sanos gingivalmente sin antecedentes de tratamiento ortodóncico y que necesiten alargamiento coronal como requisito pre-protésicos o por razones estéticas.

Las unidades muestrales del grupo “Con AG” se obtuvieron por donación voluntaria de sujetos que presentaron agrandamiento gingival asociado al uso de aparatología ortodóncica y cuya cirugía estuvo indicada dentro de su plan de tratamiento. Así mismo, las unidades muestrales del grupo “Sin AG” fueron donaciones voluntarias pero procedentes de individuos sanos gingivalmente que solicitaron alargamiento coronal por motivos estéticos o como cirugía pre-protésica.

5.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN.

5.3.1 Criterios de selección de los sujetos

Para la selección de los participantes, se tuvo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

	CRITERIOS DE INCLUSION	CRITERIOS DE EXCLUSION
INDIVIDUOS SANOS	<ul style="list-style-type: none"> - Profundidad de sondeo \leq de 3 mm, sin pérdida de inserción clínica. - Ausencia de sangrado al sondaje. - Porcentaje de Placa bacteriana $<$ 30%. - Sujetos mayores de edad. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sujetos fumadores. - Mujeres embarazadas. - Sujetos con compromiso sistémico y hormonal: pacientes diabéticos, hipertensos, epilépticos, con antecedentes de infarto, alteraciones hematológicas o con VIH bocio y acromegalia. - sujetos que consuman o hayan consumido durante los últimos tres meses medicamentos como antiepilépticos, antagonistas de los canales de calcio, ciclosporina o antibióticos. - Sujetos que tengan alteraciones gingivales, periodontales y dentales como el apiñamiento dental.
INDIVIDUOS CON AGRADAMIENTO GINGIVAL POR EL USO DE APARATOLOGIA ORTODONTICA	<ul style="list-style-type: none"> - Sujetos que se encuentren en tratamiento ortodóntico, desde hace un año independiente de la técnica empleada. - sujetos con agrandamiento gingival asociado a tratamiento de ortodoncia. - Porcentaje de Placa bacteriana $<$ 30 %. - sujetos mayores de edad. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sujetos fumadores. - Mujeres embarazadas. - Porcentaje de Placa bacteriana $>$ 70 %. - Sujetos con enfermedad gingivo-periodontal coexistente - Sujetos con compromiso sistémico: pacientes diabéticos, hipertensos, epilépticos, con antecedentes de infarto, alteraciones hematológicas o con VIH bocio y acromegalia. - Sujetos que consuman o hayan consumido durante los últimos tres meses medicamentos como antiepilépticos, antagonistas de los canales de calcio, ciclosporina o antibióticos.

5.3.2 Criterios de selección para las unidades muestrales (biopsias).

Para seleccionar las muestras gingivales se tuvo en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

CRITERIOS DE INCLUSION	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
<ul style="list-style-type: none">• La excisión quirúrgica debe ser con bisturí convencional.• El espécimen debe ser de suficiente espesor para realizar los diversos cortes histológicos.• Al realizar la tinción con Hematoxila-Eosina se debe observar epitelio y tejido conectivo.	<ul style="list-style-type: none">• Especímenes que no hayan sido procesado correctamente.• Especímenes que no muestren apropiadamente las estructuras histológicas.

5.4 VARIABLES DE ESTUDIO

VARIABLE	UBICACION	NATURALEZA	MEDICION	COMO SE VA A MEDIR
FIBROBLASTOS	TEJIDO CONECTIVO	CUALITATIVA/ CUANTITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE CANTIDAD	MAGNIFICACION 40X 10 CAMPOS
NEUTROFILOS	TEJIDO CONECTIVO	CUALITATIVA/ CUANTITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE CANTIDAD	MAGNIFICACION 40X 10 CAMPOS
CELULAS MONONUCLEARES	TEJIDO CONECTIVO	CUALITATIVA/ CUANTITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE CANTIDAD	MAGNIFICACION 40X 10 CAMPOS
INFILTRADO INFLAMATORIO	TEJIDO CONECTIVO	CUALITATIVA/ CUANTITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE CANTIDAD	MAGNIFICACION 40X 10 CAMPOS LEVE - MODERADO- SEVERO
HIPERQUERATOSIS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
PARAQUERATOSIS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
ENLONGACION DE REDES DE CRESTA	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
ACANTOSIS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
ESPONGIOSIS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
BALONIZACION	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/ PRESENTE	MAGNIFICACION 10X
EXOCITOSIS DE LEUCOSITOS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/P RESENTE	MAGNIFICACION 10X
GRADO DE EXOCITOSIS DE LEUCOSITOS	EPITELIO	CUALITATIVA	AUSENTE/P RESENTE	MAGNIFICACION 10X LEVE- MODERADO- SEVERO

5.5 PROTOCOLO DE ESTUDIO CLÍNICO Y DE LABORATORIO.

5.5.1 Protocolo de estudio clínico.

5.5.1.1 Selección de los individuos

A los individuos que acudieron a la clínica del postgrado de ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena, dentro del periodo señalado, solicitaron interconsulta con un especialista en periodoncia, con una experiencia mayor de 15 años en cirugías mucogingivales, para realizar el examen clínico periodontal pertinente. Teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión ya expuestos y presentando el consentimiento informado (Anexo 2), el especialista en periodoncia seleccionó los individuos candidatos a donantes de tejido gingival; luego procedió a anestesiar en las arcadas dentales comprometidas con Roxicaina carpule al 2% 1: 80.0000 ppm para dar inicio a la cirugía periodontal con bisturí convencional (Bard Parker hoja de bisturí número 10).

5.5.2 Protocolo de laboratorio.

5.5.2.1 Procesamiento de las muestras.

El espécimen obtenido se incluyó en un recipiente, el cual contuvo solución de fijación (formalina al 10% tamponada) para mantener la estructura de la muestra. Posterior a esto se condujo (en un tiempo menor a 48H y temperatura ambiente),

hasta el laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena para su procesamiento rutinario:

El procesamiento de las muestras fue realizado por la histotecnóloga del departamento de patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cartagena, con una experiencia mayor de 31 años en procesamiento de biopsias.

Una vez obtenida la muestra en formalina al 10% tamponada, se procedió a ser la inclusión de estas muestras en bloques de parafina para luego realizar los cortes finos. Teniendo una serie de paso:

Primero se procedió hacer la Deshidratación con alcohol isopropilico al 96%, tres veces durante una hora cada uno, después una mezcla de alcohol + xilol (alcohol 50% + xilol 50%), tres veces durante una hora cada uno. Posteriormente se realizó el aclaramiento de las muestras con xilol, tres veces durante una hora cada uno durante. Consecutivamente se hizo la penetración de la parafina a las muestras, estas muestras se sumergieron en parafina líquida parafina líquida (Parafina New Erbaplast sin DMSO CE. Paraffin additivated 56°C-58°C erbaplast for histology) en un procesador automático de tejido (Shandon, citadel 2000), durante 3 horas. Por último se procedió a realizar la formación del bloque de parafina en moldes de plomo, se colocó la parafina líquida en el molde y se incluyó la muestra de tejido y se esperó que se condensará la parafina, posterior a esto se refrigeró el bloque para terminar el proceso de endurecimiento total.

Una vez obtenido el bloque de parafina se procedió a realizar un corte para la tinción con hematoxilina-eosina de 4 μ de grosor a través de un micrótopo marca Leyca (Micrótopo Leyca RM2125 RTS, Leyca micro systems Nussloch 6mbH D 69226). Después se procedió a colocar los cortes de la muestras en láminas de Poli-lisinas para realizar el desparafinado con xilol durante 10 minutos, seguidamente se realizó hidratación de las muestras en diversas concentraciones de etanol de manera decreciente 100%, 96% y 80% a su vez se procedió hacer lavado de las muestras con agua destilada para luego realizar la tinción con hematoxilina durante 3 minutos, se lavó con agua destilada y después se sumergió en eosina durante 30 segundos y se lavó con agua destilada, inmediatamente a estose realizó una deshidratación con diversas concentraciones de etanol de manera creciente 80%, 96% y 100% y por último se ejecutó un lavado con xileno para luego realizar el montaje, se utilizó como medio de montaje bálsamo de Canadá y finalmente se colocó un cubre objeto para tener lista la placa. Como el presente estudio en un avance preliminar ello, no se llevó a cabo el procesamiento de las muestras con la técnica inmunohistoquímica.

La estandarización y calibración de examinadores se llevó a cabo por una patóloga con 17 años de experiencia en medición histológica. Los resultados de la prueba piloto realizada para el grado de interrelación inter-observador (Coeficiente de Kappa) arrojaron resultados > 0.81. Además, se estableció que era factible realizar un conteo por 5 campos y no por 10 campos, como usualmente se hacen

en los exámenes patológicos, debido a que la mayoría de las muestras histológicas presentaba un pequeño tamaño.

5.5.3 Análisis histológico con hematoxilina-eosina

Las diferentes características histológicas se analizaron a través de 5 campos aleatorios con la utilización de un microscopio óptico binocular marca Nikon (Microscopio óptico BA 310, Motic Group., Speed Fair Group Ltd.) con alta potencia de magnificación (magnificación de 10x 40x), la cual contiene una cámara y un software Nis Elements Imaged software Nikon versión 3.01. Esto fue utilizado por profesionales expertos entrenados y cegados con respecto a la toma y rotulación de muestra. Se observó la presencia y cantidad de neutrófilos, presencia de fibroblastos, células inflamatorias mononucleares presentes en el tejido conectivo y los cambios epiteliales existentes como: inflamación, infiltrado inflamatorio, paraqueratosis, acantosis, balonización, hiperqueratosis, espongirosis, exocitosis de leucocitos y redes de cresta.

5.5.4 Análisis histológico con el método de tinción con inmunohistoquímica

Después de observar los cortes con Hematoxilina-Eosina, la tipificación de las células mononucleares será posible a través de la tinción IHQ.

La inmunohistoquímica se llevará a cabo en secciones de tejido en láminas portaobjeto revestidas de poli-L-lisina (láminas cargadas) la cual se encarga de adherir el tejido a la lámina para que no se caiga.

- Se manejará el método avidina-biotina-peroxidasa utilizando el empleo de soluciones de anticuerpos (Ac) monoclonales específicos contra antígenos presente en las células. Las secciones serán rehidratadas y cubiertas de parafina, se incubarán durante 30 minutos en H₂O₂/metanol al 3% para apagar la actividad de la peroxidasa endógena y después se aclara durante 20 minutos en solución tampón de fosfato salino (PBS).
- Las secciones serán incubadas durante 30 min. a temperatura ambiente con el anticuerpo monoclonal primario respectivo. Los anticuerpos monoclonales que se emplearán para tipificar la población celular son: **CD-20** para la población general de linfocitos T; **CD-3** para la población general de linfocitos B; **Vimentina** para visualizar la población de fibroblastos; **CD-68** como inmunomarcador para los macrófagos y **Ki-67** para la proliferación celular de los fibroblastos.
- Se lavará 4 veces con PBS y se almacenará el anticuerpo secundario biotinilado durante 20 min. Posterior a lavar con PBS los inmunocomplejos se incuban durante 20 minutos en solución de estreptavidina conjugada con peroxidasa para ser detectados. Nuevamente se lava 4 veces con PBS, se añade diaminobenzidina (DAB) al 0,1% y peróxido de hidrógeno al 0,02%

durante el desarrollo de color (3-5 minutos) y se enjuaga con agua destilada.

- Se lavará durante 2 minutos con agua, los cortes serán contrastados con Hematoxicilina de Mayer (1min) y montados con un cubreobjetos mediante un medio de montaje permanente para ser examinados por microscopio óptico de luz.

La técnica estándar de inmunoperoxidasa se utilizará para detectar el PCNA (índice de proliferación celular). El cual se expresa como la relación porcentual del total de células marcadas con el número total de células contadas.

Las diferentes características histológicas se analizarán, también, a través de 5 campos aleatorios con la utilización de un microscopio óptico binocular marca Nikon (Microscopio óptico BA 310, MoticGroup., SpeedFairGroup Ltd.) con alta potencia de magnificación (magnificación de 10x 40x), la cual contiene una cámara y un software NisElementsImaged software Nikon versión 3.01. Esto será utilizado por profesionales expertos entrenados y cegados con respecto a la toma y rotulación de muestra.

5.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

La presente investigación se desarrolló sobre seres humanos que presenten agrandamiento gingival asociado a tratamiento ortodóncico y en pacientes gingivalmente sanos que necesiten cirugía mucogingival como tratamiento

estético, con el fin de establecer un perfil inflamatorio y determinar la proliferación celular existente en esta patología y comparar los resultados con un grupo. Por ello, se tiene en cuenta la ética profesional como ciencia normativa que estudia los deberes y los derechos de nuestra profesión, debido a esto se tiene como objetivo mantener la conciencia de responsabilidad, en todos y cada uno de los pasos que se realizarán para la construcción y desarrollo de la misma.

Para el desarrollo del presente proyecto de investigación, se acoge plenamente las condiciones, sugerencias y lineamientos que describe la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia. Se establece el riesgo como mayor que el mínimo para la salud de los seres humanos por lo que se acepta de esta resolución del capítulo 1 los artículos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11. Sin embargo, el presente estudio fue sometido a evaluación por parte del Comité de Ética de la Universidad de Cartagena; quien en su Acta N°64 de 18 de Abril de 2013 emitió un concepto de aprobación (Anexo 3).

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Después de la recolección de datos se procedió a incluirlos en una tabla matriz en Microsoft Excel versión para Windows 7. Los análisis estadísticos se realizaron con el software IBM SPSS Statistics v.20 (Statistical Package for the Social Sciences). Inicialmente se realizó un análisis descriptivo de los datos teniendo en

cuenta parámetros de centralización (frecuencia absoluta, frecuencia relativa y media); así como parámetros de dispersión (desviación estándar).

El análisis bivariado estuvo dado por la comparación de los hallazgos histológicos cualitativos entre las muestras gingivales “Sin AG” Vs “Con AG” en tablas de contingencia. Para esto se realizaron pruebas de χ^2 con corrección de Yates, Test exacto de Fisher para los casos de frecuencias esperadas menor de 5, y la Prueba Z de comparación de proporciones con corrección de Bonferroni del valor de p .

Para el caso de las variables cuantitativas (conteo celular) se realizó la prueba de Kolmogorov Smirnov. Esta mostro una distribución de normalidad, por lo que utilizo la prueba t -Student para comparar los grupos de estudio. Se tuvieron en cuenta como dato significativo valores de $p < 0.05$

6. RESULTADOS

En el presente estudio se evaluaron 24 muestras de tejido gingival por medio de la tinción Hematoxilina-Eosina, obtenidas quirúrgicamente con bisturí convencional. Estas muestras fueron donadas por individuos con al menos un año de tratamiento ortodóncico e individuos sanos que solicitaron alargamiento coronal por motivos estéticos o como cirugía pre-protésica, que acudieron a la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena. El tamaño de las muestras se redujo de 36 a 24 debido a mal orientación del tejido al ser incluido en parafinay por no presentar epitelio y/o tejido conectivo suficiente para el análisis histológico. De las 24 muestras, 8 de ellas correspondieron a encía sana (Sin AG) y 16 a encía con agrandamiento gingival (Con AG). En la Tabla 1 se hace una descripción de la población de estudio.

Tabla 1. Descripción de la población de estudio

	Frecuencia n= 24	Porcentaje (%)
Estado de la Enfermedad		
Sin AG	8	33.3
Con AG	16	66.7
Sexo		
Mujer	19	79.2
Hombre	5	20.8
Edad	Media 33	DE 15.03

DE = Desviación Estándar

6.1 Descripción de los hallazgos histológicos en tejido conectivo.

El 75% de las muestras presentó inflamación, destacando un 50% de infiltrado inflamatorio severo, con predominio de células mononucleares (Tabla 2.).

Tabla 2. Descripción de los hallazgos histológicos en tejido conectivo

		Frecuencia n= 24	Porcentaje (%)
Fibroblastos			
	Presente	24	100
Leucocitos Polimorfos nucleares			
	Ausente	8	33.3
	Presente	16	66.7
Células Mononucleares			
	Presente	24	100
Infiltrado Inflamatorio			
	Leve	6	25
	Moderado	6	25
	Severo	12	50
Inflamación del Tejido conectivo			
	Ausente	6	25
	Presente	18	75

6.2 Descripción de los hallazgos histológicos en tejido epitelial.

Todas las muestras mostraron un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con variación en la longitud de las redes de crestas. El 58,3% de los casos presentaron cambios epiteliales asociados a inflamación, caracterizados por hallazgos como espongiosis 54,2% (n=13) y balonización de 33,3% (n=8) (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de los hallazgos histológicos en tejido epitelial

	Frecuencia n= 24	Porcentaje (%)
Balonización		
Ausente	16	66.7
Presente	8	33.3
Espongiosis		
Ausente	11	45.8
Presente	13	54.2
Exocitosis de Leucocitos		
Ausente	1	4.2
Presente	23	95.8
Grado de Exocitosis		
Leve	6	25
Moderado	6	25
Severo	12	50
Cambios epiteliales asociados a inflamación		
Ausente	10	41.7
Presente	14	58.3

6.3 Comparación de hallazgos de tejido conectivo.

A partir de los hallazgos histológicos observados sobre el tejido conectivo, se compararon dos tipos de muestras gingivales: “Sin AG” Vs “Con AG”. Para esto, se elaboraron tablas de contingencia que permitieron realizar pruebas de χ^2 con corrección de Yate, Test exacto de Fisher para los casos de frecuencias esperadas menor de 5, y la prueba Z de comparación de proporciones con corrección de Bonferroni del valor de p . Se observó una diferencia

estadísticamente significativa en cuanto a la presencia de inflamación sobre tejido conectivo entre las muestras Con AG y Sin AG (n=16 Vs n=2; $p=0.00$, respectivamente). El grado de inflamación se asoció con las muestras Con AG, presentándose mayor severidad en este grupo 75% (n=12) Vs 0% (n=0) Sin AG ($p=0.00$). En ninguna de las muestras del grupo “Sin AG” presentaron leucocitos polimorfonucleares en tejido conectivo ($p=0.00$) (Tabla4).

□

Tabla 4. Comparación de hallazgos de tejido conectivo

	Sin AG		Con AG		Valor de P
	Frecuencia n=8	Porcentaje (%)	Frecuencia n=16	Porcentaje (%)	
Leucocitos Polimorfonucleares					
Ausentes	8	100	0	0	0.00*
Presentes	0	0	16	100	
Células Mononucleares					
Ausentes	0	0	0	0	---
Presentes	8	100	16	100	
Infiltrado inflamatorio					
Leve	6	75	0	0	0.000*
Moderado	2	25	4	25	
Severo	0	0	12	75	
Inflamación conectivo					
Ausente	6	75	0	0	0.000*
Presente	2	25	16	100	

Prueba de Chi-cuadrado con corrección de continuidad de Yate

Test exacto de Fisher, en los casos de frecuencia esperada < 5

Prueba Z de comparación de proporciones con corrección de Bonferroni del valor de p

AG = Agrandamiento Gingival

* Valor de $p < 0.05$

□

6.4 Comparación de hallazgos epiteliales

A nivel de epitelio se observó que las muestras “Con AG” (n=13) presentaron un 81,3% de cambios epiteliales asociados a inflamación y arrojaron valores estadísticamente significativos al comparar estos resultados con el grupo “Sin AG” ($p=0.002$). Manifestaciones como balonización y espongiosisse presentaron con mayor frecuencia en las muestras con AG ($p=0.047$ y $p=0.008$).El hallazgo de exocitosis de leucocitos no mostró diferencia entre las muestras “Sin AG” y “Con AG” (Tabla5).

Tabla 5. Comparación de hallazgos de tejido epitelial

	Sin AG		Con AG		Valor de P
	Frecuencia n=8	Porcentaje (%)	Frecuencia n=16	Porcentaje (%)	
Balonización					
Ausente	8	100	8	50	0.047*
presente	0	0	8	50	
Espongiosis					
Ausente	7	87,5	4	25	0.008*
Presente	1	12,5	12	75	
Exocitosis de leucocitos					
Ausente	1	12,5	0	0	0.333
Presente	7	87,5	16	100	
Grado de exocitosis de leucocitos					
Leve	4	50	2	12,5	0.135
Moderado	1	12,5	5	31,3	
Severo	3	37,5	9	56,3	
Cambios epiteliales asociados a inflamación					
Ausente	7	87,5	3	18,8	0.002*
Presente	1	12,5	13	81,3	

Prueba de Chi-cuadrado con corrección de continuidad de Yate

Test exacto de Fisher, en los casos de frecuencia esperada < 5

Prueba Z de comparación de proporciones con corrección de Bonferroni del valor de p

AG = Agrandamiento Gingival

* Valor de $p < 0.05$

6.5 Comparación del recuento de células inflamatorias

Se compararon los conteos celulares totales y de los 5 campos histológicos observados por corte, a una magnificación de 40X, las poblaciones de leucocitos polimorfonucleares y mononucleares en tejido conectivo y la exocitosis de leucocitos en epitelio. En el recuento de cada tipo celular se observaron niveles significativos de células en las muestras Con AG (medias de los conteos totales en las muestras con AG = 42,3; 362 y 25,1 células; $p=0.00$, 0.00 y 0.037 , respectivamente) (Tabla6).

Tabla 6. Comparación del recuento de células inflamatorias

	Sin AG		Con AG		Valor de P
	Media	DE	Media	DE	
Leucocitos Polimorfosnucleares					
Conteo General	0	0	42.31	28.3	0.00*
Campo 1	0	0	9.25	2.22	0.01*
Campo 2	0	0	8.19	6.55	0.00*
Campo 3	0	0	7.69	4.96	0.00*
Campo 4	0	0	8.75	4.56	0.00*
Campo 5	0	0	8.44	5.95	0.00*
Células Mononucleares					
Conteo General	84.88	23.302	362.19	202.964	0.000*
Campo 1	13.75	3.059	74.94	52.363	0.000*
Campo 2	16.5	6.164	65.94	57.928	0.004*
Campo 3	19.00	6.845	74.19	47.627	0.000*
Campo 4	19.13	13.611	70.19	38.256	0.000*
Campo 5	16.5	7.672	76.94	44.303	0.000*
Exocitosis de Leucocitos					
Conteo General	12.88	10.842	25.13	15.556	0.037*
Campo 1	2.5	3.024	4.75	5.000	0.186
Campo 2	1.25	1.389	4.63	4.924	0.020*
Campo 3	2.5	1.604	4.38	2.680	0.045*
Campo 4	3.50	3.817	5.25	3.568	0.299
Campo 5	3.13	2.357	6.13	3.845	0.028*

Prueba t de Student

* valor de $p < 0.05$

7. DISCUSIÓN

El presente estudio presento diversas limitaciones: el tamaño de las muestras del grupo "Sin AG" sólo se escogieron del subgrupo A (encías sanas sin antecedentes de ortodoncia). Además, la tinción con la técnica de inmunohistoquímica y la medición de las redes de crestas no se realizó, respectivamente, por disponibilidad de los reactivos y lentes micrométricos.

A pesar de todas estas limitantes y de ser un reporte preliminar, con el uso de la tinción Hematoxilina-Eosina se logró determinar diferentes hallazgos histológicos a nivel del tejido epitelial y tejido conectivo, así como la descripción de población celular y la cuantificación de estas. Se pudo observar que la presencia de exocitosis de leucocitos es una manifestación epitelial común entre los dos grupos por ello no se tomó como un hallazgo asociado a inflamación, en cambio, la presencia de balonización y espongiosis pueden ser hallazgos asociados a inflamación debido a que observan con mayor frecuencia en el grupo "con AG".

En esta investigación también se demostró el aumento significativo de linfocitos y la presencia de leucocitos polimorfonucleares sólo en las muestras provenientes de individuos que presentaban AG, con este hallazgo se consiguió realizar una clasificación del grado de la inflamación del tejido conectivo en leve, moderado y severo, clasificación que la literatura no reporta de manera contundente para los diferentes tipos de agrandamientos gingivales. Aun así, es necesario aumentar la

muestra y seguir comparando estos hallazgos entre en un grupo de casos y un grupo control para verificar sí los resultados siguen siendo similares.

Una evaluación histomorfológica realizada por Gordon et al. En el 2008 en cortes teñidos a través de la técnica H-E y analizados bajo microscopía de luz, revelaron que la mucosa oral normal presentaban las características descritas por Stern *et al.* en 1989,⁹³ o sea, un revestimiento epitelial estratificado paraqueratinizado e hiperparaqueratinizado; la lámina propia subyacente era constituida por un tejido conectivo fibroso de densidad variable, tal tejido era moderadamente vascularizado exhibiendo, ocasionalmente, discreto infiltrado inflamatorio mononuclear en posición predominantemente perivascular.⁹⁴ Aunque la mayoría de las biopsias en dicho estudio eran de labio inferior y muy pocas eran de tejido gingival, esta descripción es similar a los resultados obtenidos en el grupo “Sin AG”.

Castro *et al.* en el 2010 realizaron un estudio histopatológico en muestras de encía con agrandamiento gingival asociado al consumo de nifedipino, los cuales presentaron un epitelio escamoso estratificado con predominio de paraqueratinización con áreas de acantosis y variación en la longitud de las redes

⁹³STERN, IRy BHASKAR, SN. Membrana mucosa oral. En: BHASKAR, SN Histología e embriología oral de Orban. 1989, vol. 10, p. 275-351.

⁹⁴GORDÓN-NÚÑEZ, Manuel Antonio, *et al.* Análisis Clínico e Histomorfológico de la Mucosa Oral Normal, Hiperplasia Fibroepitelial Inflamatoria Oral y Displasia Epitelial Oral. En: International Journal of Morphology. 2008, vol. 26, no. 2, p. 345-352.

de crestas, además el tejido conectivo subyacente presentó un número variable de fibroblastos, haces de colágeno típicos y vasos sanguíneos, características similares a los hallazgos encontrados en el presente estudio. Sin embargo, el infiltrado inflamatorio encontrado en dicho estudio fue muy escaso o inexistente tanto en el grupo de casos como el grupo control.⁹⁵ Esto es un indicio de que es necesario indagar aún más sobre las características microscópicas de los diferentes tipos de agrandamiento gingival y comparar los hallazgos encontrados, para determinar si existen o no variaciones en el comportamiento histopatológico.

Herrera *et al.* en el 2012, en un estudio también realizado en biopsias gingivales provenientes de individuos con AG asociado al uso de aparatología ortodóncica fija, reportaron presencia de infiltrado inflamatorio con predominio de células linfocitarias y en diferentes niveles de penetración en conectivo y la presencia de exocitosis de leucocitos y acantosis a nivel epitelial, pero no fue determinada la cantidad de leucocitos mononucleares, el grado de severidad de dicha inflamación, ni se compararon los hallazgos encontrados con un grupo control.⁹⁶

Es necesario recalcar no se han culminado a cabalidad los objetivos planteados dentro de este documento, es necesario aumentar el número de muestra tanto del

⁹⁵CASTRO, Luciano ., *et al.* Long-term effects of nifedipine on human gingival epithelium: a histopathological and immunohistochemical study. En: Journal of oral science. Marzo, 2010, vol. 52, no. 1, p. 55-62.

⁹⁶HERRERA HERRERA, A, *et al.* Cambios histológicos en muestras de agrandamientos gingivales obtenidas a través de biopsias con electrobisturí y bisturí convencional. En: Avances en Odontostomatología. 2012, vol. 28, no. 3, p. 141-150.

grupo Sin AG como del grupo Con AG, especialmente muestras de encía sana procedentes de individuos con antecedentes de aparatología ortodóncica fija. La tinción inmunohistoquímica con miras a tipificar las poblaciones de leucocitos mononucleares para discriminar entre linfocitos T, B y macrófagos ya que la cuantificación eficiente de estas poblaciones no es posible con tinción de Hematoxilina-Eosina, además, con el uso de esta técnica de inmunoperoxidasa, se puede determinar la proliferación fibroblástica en los diferentes grupos de estudio. Al realizar todo lo planteado es cuando se puede realizar una clasificación soportada por datos válidos y una relación de los hallazgos histológicos con las características clínicas del AG.

8. CONCLUSIONES

A partir de los hallazgos preliminares se puede concluir, que el diagnóstico histológico con H-E del agrandamiento gingival por aparatología ortodóncica fija está determinado por la presencia de neutrófilos y cambios epiteliales asociados a inflamación como balonización y espongirosis. Aun así, es necesario recolectar un mayor número de muestras, especialmente de encía sana provenientes de individuos con antecedentes de aparatología ortodóncica fija, con la finalidad de corroborar su influencia en dicha patología.

9. RECOMENDACIONES

- Para la recolección de futuras muestras se aconseja que después de la escisión quirúrgica del tejido se fije inmediatamente en un papel absorbente para mantener la posición original en boca.
- Se propone en futuras ocasiones comparar sí el grado de inflamación clínica concuerda con el grado de inflamación histológica.
- Para la recolección de muestras en futuras investigaciones se sugiere establecer la zona de los cortes de encía, para evaluar sí el grado de la respuesta inflamatoria varia en las diferentes zonas de la arcada maxilar o mandibular.

BIBLIOGRAFÍA

AIMETTI, Mario, *et al.* Non-surgical periodontal treatment of cyclosporin A-induced gingival overgrowth: immunohistochemical results. En: Oral diseases. Abril, 2008, vol. 14, no. 3, p. 244-250.

ALBERS, HK, *et al.* Clinical and histological studies on the effect of a surfactant containing toothpaste on the gingiva. En: Deutsche zahnärztliche Zeitschrift. Mayo, 1978, vol. 33, no. 8, p. 559.

ANGUITA, E., *et al.* Interrelation of some dental disciplines and periodontal diseases. En: Revista dental de Chile. Jan-Feb, 1966, vol. 56, no. 1, p. 32-37.

ARANDA, Jorge, PLATA, Hugo. Conceptos acerca de las biopsias transrectales. En: colegio mexicano de urología. Abril-Junio, 2003. vol. 18, no. 2, p. 45-46.

ARCE, Roger Mauricio, *et al.* Apoptosis of gingival fibroblasts in periodontitis. En: Colombia Médica. Abril, 2007, vol. 38, no. 3, p. 197-209.

AREMBAND, D.y WADE, A. B. A comparative wound healing study following gingivectomy by electrosurgery and knives. En: Journal of periodontal research. Junio, 1973, vol. 8 no. 1, p. 42-50.

BAHAMONDES, Carlos.y GODOY, Jorge. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia: report of one case. En: Revista medica de Chile. Marzo, 2007, vol. 135, no. 3, p. 370-374.

BENOIST, HM, *et al.* Gingival hypertrophy during orthodontic treatment: contribution of external bevel gingivectomy. Case report. En: Odonto-stomatologiet ropicale. Tropical dental journal. Junio, 2007, vol. 30, no. 120, p. 42.

BULUT, Sule, *etal.* Immunohistochemical analysis of lymphocyte subpopulations in cyclosporin A-induced gingival overgrowth. En: Journal of periodontology. Agosto, 2002, vol. 73, no. 8, p. 892-899.

CARDOSO, Cristina Ribeiro, *et al.* Characterization of CD4+CD25+ natural regulatory T cells in the inflammatory infiltrate of human chronic periodontitis.En: Journal of leukocyte biology. Julio, 2008, vol. 84, no. 1, p. 311-318.

CASTRO, Luciano., *et al.* Long-term effects of nifedipine on human gingival epithelium: a histopathological and immunohistochemical study. En: Journal of oral science. Marzo, 2010, vol. 52, no. 1, p. 55-62.

CÉSPEDES, Rubén Darío Rivarola. gingivales inducidos por fármacos. En: Revista oficial del Círculo de Odontólogos del Paraguay. Noviembre, 2011, vol 36, no.7,p.456-465.

CLOCHERET, K., *et al.* Dynamic frictional behaviour of orthodontic archwires and brackets. En: Europeanjournal of orthodontics. Abril, 2004, vol. 26, no. 2, p. 163-170.

DANNEWITZ, Bettina, *et al.* Cyclosporine-induced gingival overgrowth correlates with NFAT-regulated gene expression: a pilot study. En: Journal of clinical periodontology. Junio 2011, vol. 38, no. 11, p. 984-991.

DUTTA, Hemonta Kumar. Jaw and gum tumours in children. En: Pediatric surgery international. Abril, 2009, vol. 25, no. 9, p. 781-784.

EBEL SEPÚLVEDA, Luis, *et al.* Cáncer evanescente de la próstata: Presentación clínica y revisión histológica. En: Actas Urológicas Españolas. Septiembre, 2009, vol. 33, p. 956-959.

EL-QADERI, S. S. y QUTEISH TA'ANI, D. Assessment of periodontal knowledge and periodontal status of an adult population in Jordan. En: International journal of dental hygiene. Agosto, 2004, vol. 2, no. 3, p. 132-136.

FONSECA, Ismael Bernardo, *et al.* Expresión inmunohistoquímica de vimentina, CD 34 y c-Kit (CD 117) en tumores estromales gastrointestinales (GISTs). En: International Journal of Morphology. Febrero 2010, vol. 28, no. 2, p. 453-459.

FRYDMAN Jorge. Ortodoncia en adultos, fundamentos biológicos e histológicos. En: Odonto-stomatologie tropicale= Tropical dental journal. Marzo, 2006, vol. 31, no. 120, p. 42.

GOLDSTEIN, Marshay WATKINS, Simon. Immunohistochemistry. En: Current Protocols in Molecular Biology. Junio 2008, vol. 34, no. 3, p. 14.16.

GONG, Yiming, *et al.* Clinical, microbiologic, and immunologic factors of orthodontic treatment-induced gingival enlargement. En: American journal of

orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics. Julio, 2011, vol. 140, no. 1, p. 58-64.

GARCIA, Frankil, *et al.* Microscopia Óptica de la Encía de Niños y Electrónica con Malnutrición Severa. En: archivos dominicanos de pediatría. Mayo-Agosto, 1978, vol. 14, no. 2, p. 265-278

GORDÓN-NÚÑEZ, Manuel Antonio, *et al.* Análisis Clínico e Histomorfológico de la Mucosa Oral Normal, Hiperplasia Fibroepitelial Inflamatoria Oral y Displasia Epitelial Oral. En: International Journal of Morphology. Junio, 2008, vol. 26, no. 2, p. 345-352.

GUIDUCCI, R, *et al.* Tratamiento de la hiperplasia gingival en una escuela odontológica de Brasil. Conceptos generales, diagnóstico y tratamiento. En: Int. J. Odontostomat. Mayo, 2009, vol. 3, no. 1, p. 55-60.

GUPTA, Iray VANDANA, KL. Alterations of the marginal soft tissue (gingival margin) following periodontal therapy: A clinical study. En: Journal of Indian Society of Periodontology. Febrero, 2009, vol. 13, no. 2, p. 85.

GURSOY, UlviKahraman, *et al.* The role of nickel accumulation and epithelial cell proliferation in orthodontic treatment-induced gingival overgrowth. En: European journal of orthodontics. Diciembre, 2007, vol. 29, no. 6, p. 555-558.

HERNÁNDEZ-CHAVARRÍA, Francisco, *et al.* Un método rápido de reprocesamiento para microscopia electrónica de cortes histológicos en parafina.

En: Revista Costarricense de Ciencias Médicas. Agosto, 2001, vol. 22, no. 1-2, p. 51-56.

HERRERA HERRERA, A, *et al.* Cambios histológicos en muestras de agrandamientos gingivales obtenidas a través de biopsias con electrobisturí y bisturí convencional. En: Avances en Odontoestomatología. Julio, 2012, vol. 28, no. 3, p. 141-150.

HOFMAN, Florence. Immunohistochemistry. En: Current protocols in immunology. Agosto, 2002, vol 21, p. 21-24.

KAVVADIA, K., *et al.* Gingival fibromatosis and significant tooth eruption delay in an 11-year-old male: a 30-month follow-up. En: International journal of paediatricdentistry / the British Paedodontic Society and the International Association of Dentistry for Children. Julio, 2005, vol. 15, no. 4, p. 294-302.

KHERA, P., *et al.* Diffuse gingival enlargement. En: Journal of the American Academy of Dermatology. Marzo, 2005, vol. 52, no. 3, p. 491-499.

KRISHNAN, Vinod, *et al.* Gingiva and Orthodontic Treatment. En: Seminars in Orthodontics. Septiembre, 2007, vol. 13, no. 4, p. 257-271.

LAI, L. L., *et al.* [Hereditary gingival fibromatosis: a case report]. En: Changgengyixuezhazhi / Changgengjinianyiyuan = Chang Gung medical journal / Chang Gung Memorial Hospital. Diciembre, 1995, vol. 18, no. 4, p. 403-408.

MAYAYO ARTAL, Emilio. Histopathological diagnosis of mycoses. En: Revista iberoamericana de micología. Marzo, 2004, vol. 21, no. 1, p. 1-9.

MARÍN, Ramona H. Estudio comparativo de las características histológicas de encías clínicamente normales e inflamadas en niños. En: Journal of periodontology. Agosto, 2003, vol. 72, no. 7, p. 892-899.

MEKHLOUFI, G., *et al.* pH-Induced structural transitions during complexation and coacervation of beta-lactoglobulin and acacia gum. En: Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids. Enero, 2005, vol. 21, no. 1, p. 386-394.

MIRANDA, J., *et al.* Reliability of two measurement indices for gingival enlargement. En: Journal of periodontal research. Diciembre, 2012, vol. 47, no. 6, p. 776-782.

NAKAJIMA, T., *et al.* Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. En: Journal of dental research. Julio, 2005, vol. 84, no. 7, p. 639-643.

NISHIKAWA, S. I., *et al.* Progressive lineage analysis by cell sorting and culture identifies FLK1+VE-cadherin+ cells at a diverging point of endothelial and hemopoietic lineages. En: Development. Mayo, 1998, vol. 125, no. 9, p. 1747-1757.

ONG, Marianne.y WANG, Hom-Lay.Periodontic and orthodontic treatment in adults.En: American journal of orthodontics and dentofacialorthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies,

and the American Board of Orthodontics. Octubre, 2002, vol. 122,no. 4, p. 420-428.

O'VALLE, Francisco., *et al.* Immunohistochemical study of 30 cases of cyclosporin A-induced gingival overgrowth. En: Journal of periodontology. Julio, 1994, vol. 65, no. 7, p. 724-730.

REDLICH, MEIR, *et al.* Gingival response to orthodontic force. En: American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. Febrero, 1999, vol. 116, no. 2, p. 152-158.

RAMADAN, Ahmed Abdel-Fattah. Effect of nickel and chromium on gingival tissues during orthodontic treatment: a longitudinal study. En: World journal of orthodontics. Diciembre, 2004, vol. 5, no. 3, p. 230-234.

SOTO, Jorge Ey NAICIPA, Mario. Agrandamientos gingivales inducidos por drogas. En: revista estomatología. Junio, 1995, vol. 5, no. 1, p. 230-234.

STERN, IRy BHASKAR, SN. Membrana mucosa oral. En: BHASKAR, SN Histologia e embriologia oral de Orban. Agosto, 1989, vol. 10, p. 275-351.

TAL, H.y STAHL, S. S. Periodontal attachment responses to surgical injury in the cat. Removal of buccal bone with and without placement of foreign body at ligament periphery.En: Journal of clinical periodontology. Enero, 1986, vol. 13, no. 1, p. 45-51.

TERRAZAS, José Efraín Flores, *et al.* Nefrectomía laparoscópica con bisturí armónico asistida con la mano y tres puertos en un riñón con pielonefritis xantogranulomatosa: presentación de un caso. En: Revista Mexicana de Urología. Abril, 2005, vol. 65, no. 5, p. 351-356.

TSAMTSOURIS, A.y SAADIA, A. M. Gingivitis in children. En: The Journal of pedodontics. Julio, 1981, vol. 5, no. 2, p. 173-182.

SMALL, BW.Esthetic evaluation and treatment of the maxillary anterior--a case report.En: General dentistry. Marzo, 2003, vol. 51, no. 4, p. 314.

URDANETA, Ser o. Efecto de Tres Diferentes Enjuagues Bucales sobre la Mucosa Gingival Humana. Estudio Histológico.En: Investigación Clínica.Agosto, 2009, vol. 20, no. 1, p. 244-250.

ANEXOS

**ANEXO 1.
CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA TOMA VOLUNTARIA DE
MUESTRAS QUIRÚRGICAS DE ENCÍAS SANAS Y CON AGRADAMIENTO
GINGIVAL ASOCIADO AL USO DE APARATOLOGÍA ORTODÓNTICA**

Grupo Interdisciplinario de Investigación y Tratamientos Odontológicos Universidad De Cartagena (GITOUC), dentro de su línea de investigación de Morfofisiología oral, tienen por objeto, a través de análisis inmunohistoquímico, la cualificación y la cuantificación la expresión y la proliferación de células inflamatorias en muestras de cortes quirúrgicos de pacientes con agrandamiento gingival asociado a aparatología ortodóntica y en pacientes con encías sanas.

YO: _____

C.C: _____

LUGAR DE NACIMIENTO: _____

DIRECCIÓN Y TELÉFONO: _____

DIAGNOSTICO PERIODONTAL: _____

MOTIVO DE CIRUGÍA PERIODONTAL: _____

Siendo mayor de 18 años en uso pleno de mis facultades mentales y en completo conocimiento de la naturaleza, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que más abajo índico, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla por parte del grupo de investigadores GITOUC, coordinados por el doctor Antonio Díaz Caballero, de todos los aspectos relacionados con la realización del proyecto de investigación **PERFIL INFLAMATORIO Y PROLIFERACIÓN FIBROBLÁSTICA DEL AGRANDAMIENTO GINGIVAL INDUCIDO POR ORTODONCIA**, el cual pretende medir el infiltrado inflamatorio y caracterizar la población celular de pacientes con periodontitis crónica y de pacientes con periodonto sano.

2. Haber sido informado de que mi participación en el proyecto consiste en donar de manera voluntaria la muestra quirúrgica de encía obtenida de una cirugía periodontal que está incluida dentro de mi plan de tratamiento.

3. Que la muestra quirúrgica de encía que acepto donar así como la información que suministre al equipo de investigadores será utilizada única y exclusivamente para cualificar y la cuantificar la expresión y la proliferación de células inflamatorias en muestras de cortes quirúrgicos de pacientes con agrandamiento gingival asociado a aparatología ortodóntica y en pacientes con encías sanas, como es mi caso.

4. Que el equipo de investigadores me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como de cualquier información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto

antes mencionado.

5. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud, además de los riesgos más usuales durante una cirugía periodontal como sangrado, dolor, inflamación, laceraciones a nivel de cavidad oral

6. Que estoy de acuerdo con los fines académicos que se quieren obtener a partir de las muestras quirúrgicas donadas.

7. Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me podré dirigir a la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena, campus de la salud, Zaragocilla. Cartagena, Bolívar, o comunicarme al número de teléfono **301-357-9188**, para ser resuelta de manera oportuna por parte del investigador principal del proyecto, Luisa Arevalo Tovar, o por alguno de los co-investigadores del mismo.

8. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO:

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

A.- Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores mencionados, a realizar el referido estudio en las muestras quirúrgicas de encía que acepto donar a los fines previamente indicados.

B.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Nombre y firma del voluntario

Firma del Investigador principal

Lugar y Fecha: _____

ANEXO 3

Tabla matriz

Codigo	Estado	Edad	Sexo	Fibroblastos	Neutrofilos	Num_Neutro_total	Num_Neutro_Prom	Neutro_C1	Neutro_C2	Neutro_C3	Neutro_C4	Neutro_C5	Monocitos	Num_Mono_total	Num_Mono_Prom	Mono_C1	Mono_C2	Mono_C3	Mono_C4	Mono_C5	Infiltrado_Inflam	Infla_conec	Paraqueratosis	Hiperkeratosis	Balonzionizacion	Espongiosis	Exo_Leucocitos	Num_Leuco_total	Num_Leu_Prom	Exo_Leu_C1	Exo_Leu_C2	Exo_Leu_C3	Exo_Leu_C4	Exo_Leu_C5	Grado_Exocitosis	Infla_Epitelio	
9	Control	55	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	85	17	8	13	16	27	21	Leve	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	0	Leve	Ausente
11	Control	40	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	58	12	16	11	12	9	10	Leve	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	12	2	1	1	5	2	3	Moderado	Ausente	
1	Control	41	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	78	16	14	12	17	20	15	Leve	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	20	4	3	2	4	5	6	Severo	Ausente	
5	Control	35	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	79	16	13	19	21	15	11	Leve	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	8	2	2	1	1	3	1	Leve	Ausente	
12	Control	57	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	93	19	16	30	20	9	18	Leve	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	6	1	0	0	2	1	3	Leve	Ausente	
10	Control	38	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	98	20	13	18	19	15	33	Moderado	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	18	4	6	2	3	4	3	Severo	Ausente	
4	Control	35	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	130	26	18	16	34	49	13	Moderado	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	34	7	8	4	3	12	7	Severo	Ausente	
6	Control	35	Mujer	Presente	Ausente	0	0	0	0	0	0	0	Presente	58	12	12	13	13	9	11	Leve	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	5	1	0	0	2	1	2	Leve	Presente	
5E	Casos	26	Mujer	Presente	Presente	19	4	5	0	3	6	5	Presente	149	30	29	10	33	25	52	Moderado	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	57	11	20	17	11	4	5	Severo	Ausente	
9G	Casos	30	Mujer	Presente	Presente	25	5	7	3	5	6	4	Presente	374	75	158	32	90	50	44	Severo	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	9	2	0	0	2	4	3	Leve	Ausente	
2B	Casos	29	Hombre	Presente	Presente	22	4	2	4	5	7	4	Presente	676	135	110	220	70	128	148	Severo	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	15	3	2	0	4	4	5	Moderado	Ausente	
7A	Casos	26	Mujer	Presente	Presente	22	4	2	4	4	5	7	Presente	105	21	15	20	15	25	30	Moderado	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	21	4	2	2	4	7	6	Severo	Presente	
5H	Casos	28	Mujer	Presente	Presente	81	16	18	15	17	12	19	Presente	210	42	55	23	44	56	32	Moderado	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	11	2	1	4	3	2	1	Moderado	Presente	
8C	Casos	22	Hombre	Presente	Presente	52	10	8	10	7	15	12	Presente	339	68	68	24	50	70	100	95	Severo	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	56	11	7	12	8	14	15	Severo	Presente
6A	Casos	24	Mujer	Presente	Presente	33	7	4	7	10	3	9	Presente	345	69	52	9	99	57	128	Severo	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente	26	5	5	6	4	4	7	Severo	Presente	
CGG	Casos	25	Mujer	Presente	Presente	53	11	10	9	8	12	14	Presente	670	134	120	125	140	135	150	Severo	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	6	1	1	0	2	1	2	Leve	Presente	
2D	Casos	28	Mujer	Presente	Presente	48	10	15	17	6	7	3	Presente	337	67	97	79	88	40	33	Severo	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente	17	3	9	0	1	3	4	Moderado	Presente	
9J	Casos	31	Mujer	Presente	Presente	122	24	35	25	20	19	23	Presente	223	45	20	65	37	44	57	Moderado	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	40	8	5	9	6	8	12	Severo	Presente	
8E	Casos	14	Hombre	Presente	Presente	16	3	2	5	4	3	2	Presente	226	45	43	50	47	38	46	Severo	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	16	3	2	3	2	4	5	Moderado	Presente	
8A	Casos	27	Hombre	Presente	Presente	36	7	5	4	7	12	8	Presente	228	46	25	27	78	48	50	Severo	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	41	8	9	2	8	10	12	Severo	Presente	
1D	Casos	23	Mujer	Presente	Presente	22	4	8	3	2	5	4	Presente	310	62	120	37	38	65	50	Severo	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	25	5	3	5	4	8	5	Severo	Presente	
4E	Casos	31	Hombre	Presente	Presente	27	5	3	6	5	8	5	Presente	342	68	56	64	50	74	98	Severo	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	20	4	6	0	3	4	7	Severo	Presente	
3F	Casos	24	Mujer	Presente	Presente	30	6	4	5	8	7	6	Presente	424	85	90	88	78	100	68	Severo	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	17	3	4	7	3	0	3	Moderado	Presente	
8C	Casos	17	Mujer	Presente	Presente	69	14	20	14	12	13	10	Presente	837	167	185	156	210	138	148	Severo	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	25	5	0	7	5	7	6	Severo	Presente	

ANEXO 3.

Carta de aval ético

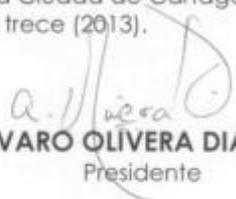


**EL PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIONES DE LA
UNIVERSIDAD DE CARTAGENA**

HACE CONSTAR:

Que, el proyecto titulado **"PERFIL INFLAMATORIO Y PROLIFERACIÓN FIBROBLÁSTICA EN BIOPSIAS CON AGRANDAMIENTO GINGIVAL ASOCIADO AL USO DE APARATOLOGÍA ORTODÓNTICA FIJA"**, presentado por **LUISA LEONOR ARÉVALO TOVAR**, docente investigadora de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena, no presenta impedimentos éticos, de acuerdo a lo contemplado en la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud y en el Reglamento de Ética de la Universidad de Cartagena, tal como consta en el Acta N° 64 del Comité de Ética en Investigaciones del día 18 de Abril de 2013.

Para constancia se firma en la Ciudad de Cartagena, a los dieciocho (18) días del mes de Abril del año dos mil trece (2013).


ALVARO OLIVERA DIAZ, MD
Presidente

Wayna Mendiny



Vicerrectoría de Investigaciones
Centro – Cra. 4 No. 38-40, Claustro de la Merced Telefax 6642663
E-mail: investigaciones@unicartagena.edu.co web: www.unicartagena.edu.co
Cartagena de Indias, D.T. y C. – Colombia

SC-CER133415