

EVALUACION CUANTITATIVA DEL SISTEMA FAGOCITARIO DE LA SALIVA EN DIFERENTES ESTADIOS CLINICOS DE INFECCION HIV/SIDA

Manuel Taboada*.

Eduardo Ticona**. Oscar Valderrama***. Ricardo Vásquez***. Luis Cisneros***. Mónica Valencia****.

Resumen

Los porcentajes de los resultados obtenidos en 32 individuos sanos y 66 pacientes infectados por el SIDA, arrojaron diferencias significativas: Estadios III y IV; II y IV. No hubo significancia estadística en el grupo control y en el Estadio II, en el II y III. Existe concordancia entre la información existente y los síntomas estomatológicos con tendencia hacia la desviación derecha (Esquemas de Arneth).

Palabras claves: SIDA. PMNs. Colector Kuboki.

Summary

The porcentaje of the results obtained in 32 healthy people and 66 patients with SIDA, showed significant differences: Stages III or IV; II or IV. There was no statistical significance in the control group, in Stage II, in II or III. There is between existing information and the results obtained with reference to Stage of HIV, stomatology symptoms with tendency to right deviation. (Arneth's Schemes).

Key words : SIDA.PMNs.Colector of saliva Kuboki.

ANTECEDENTES

MILATIALI, S.; JUGGI, S., 1995 estudiando en ratas el rol de los PMN-L y los PMNs sobre el funcionamiento del corazón, concluyeron: 1. La actividad de los PMNs producen significativamente cantidad de peróxido de nitrógeno (medida de la capacidad fagocitaria) 2. Durante la perfusión, los PMNs producirían depresión en la función sistólica y diastólica del corazón de la rata, como consecuencia de una mayor generación de oxígeno de los radicales libres 3. Los PMNs agudizan la isquemia globular en el corazón injuriado de las ratas. 4. La generación del oxígeno de los radicales libres por los polimorfos nucleares salivales, la catalasa, la función diastólica, mientras que la función sistólica muestra poco mejoramiento. DIMURO y Cbs., 1995 señalan que los leucocitos PMN están conectados en las enfermedades periodontales y en la inflamación gingival. YAMAMOTO, M.; SAEKI, K.; UTSAMI, K., 1991

revelan que la respuesta fagocitaria de los PMN-L están conectados con los mecanismos inmunológicos sobre la boca. CLAY, 1987 señala que los niveles de desarrollo de la placa dental con la consiguiente inflamación gingival está relacionada con la disminución del complemento de activación del agente microbiano por parte de la capacidad opsonica de los polimorfos nucleares salivales. SCULLY, S., 1982 señala que existen evidencias clínicas que los PMNs son importantes en la protección frente a las enfermedades periodontales. SELA, MN; ARTHUR, W.; TSAI, C., 1981 descubren que la capacidad bactericida de los PMNs conjuntamente con los PMN-L ante la acción patógena de la candida albicans unida a la salmonella typhi, actuarían como receptor, dando lugar a una alta significancia porcentual fagocitaria sobre estos microorganismos. LAMSTER, Y., 1982 manifiesta que en los procesos periodontales hay baja de la actividad fagocitaria relacionada a la actividad prioritaria de los PMN de sangre periférica con los

* Profesor Principal del Departamento Académico Ciencias Básicas. Facultad de Odontología. UNMSM.

** Jefe del servicio de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Hospital Dos de Mayo.

*** Profesores Asociados. Facultad de Odontología. UNMSM.

**** Profesora Principal de Departamento Académico Estomatología Rehabilitadora. Facultad de Odontología. UNMSM.

de la saliva y con la sintomatología bucal. COGEN, R., 1981 sostiene que los PMN-L sólo causarían daño en la íntima vascular estando inhibidos fagocitariamente el agente invasor, encontrándose en los exudados de sueros de procesos inflamatorios.

OBJETIVOS

1. Demostrar en pacientes portadores del VIH, que las alteraciones del sistema fagocitario de la sangre guardan relación con la capacidad fagocitaria de la saliva (PMNs).
2. Comprobar las alteraciones y propiedades físico-químicas de la saliva en pacientes seropositivos en relación con el tiempo de infección por el VIH/SIDA.

MATERIAL Y METODO

1. colector de saliva Kuboki,
2. Equipo de punción venosa.
3. Equipo estomatológico (pipetas de Thoma, Shall, Cámara de Newbauer).
4. Láminas porta objetos
5. Tubos de prueba 13 x 10
6. EDTA al 1%
7. Prueba de Thevenon
8. Aceite de inmersión
9. Reactivo de Turk
10. Papel de filtro Watmen 1
11. Reactivo de Wrigth.
12. Material de vidrio, micropipetas de 0 a 10ul.
13. Microscopio.
14. Centrífuga.
15. Cámara refrigerante
16. Balanza analítica.

METODOLOGIA

1. Grupo control: 50 alumnos de la Facultad de Odontología.
2. 90 pacientes seropositivos en los estadios II, III, IV del VIH.
3. Llenado de la historia clínica y examen estomatológico (alumnos de Odontología y pacientes portadores del HIV en los estadios II, III, IV, Hospital Nacional Dos de Mayo).
4. Análisis de sangre: Hemograma de Shilling, recuento de leucocitos, monocitos, linfocitos en suero y saliva.
5. Láminas de muestra de frotis de sangre sin coagulante. Posteriormente fueron coloreadas con el reactivo de Wrigth durante 1 minuto y neutralizándose después con tampón durante 6

minutos. Se realizó el recuento leucocitario, poniéndose énfasis en los PMN, analizando sus características morfológicas tanto en sangre como en saliva. Grupo Problema: Muestras de sangre de 90 pacientes infectados por el HIV/SIDA en los estadios II, III, IV se les hiciera el mismo procedimiento el utilizado en el grupo control.

6. Colección de la muestra de saliva; En todas las muestras del grupo control (50 alumnos sanos de la Facultad de Odontología) y 90 pacientes seropositivos (estadios II, III, IV) se utilizó el colector KUBOKI, no empleando elemento alguno que estimulase la secreción salival (glándulas salivales del piso de la boca), como alimentos, ingesta de sal, otros y sin microfiltro, a fin de conseguir el mayor número de células fagocitarias (PMNs) con un volumen de 4ml. Cada una de las muestras fueron centrifugadas, tomando del precipitado 100 ul., luego llevándolo a un extendido de frotis sobre láminas porta objetos (reactivo de Turk), haciendo el análisis respectivo mediante el microscopio. Una vez colectado la saliva con el fin de descartar vestigios de sangre es sometida a la prueba del Thevenon.
7. Muestra Problema: 90 pacientes infectados por el HIV en los estadios II, III, IV y a los 50 alumnos sanos de la Facultad de Odontología se les practicó análisis en sangre y saliva respectivamente.

RESULTADOS

En el grupo control el recuento leucocitario de sangre venosa se encuentra dentro de los límites normales fluctuando de 3500 (ligera leucopenia hasta 8400 PMN x mm³ de sangre, Los valores normales son: 4000 a 11000 leucocitos.

La fórmula leucocitaria revela de los 32 casos, uno de ellos ligera leucopenia, otros hipocromía, es decir; 6.12% del 100%.

Se observa que el número de PMN salivales se encuentran disminuidos con respecto al recuento leucocitario en sangre periférica en personas aparentemente sana. también los datos estomatológicos no revelan significativamente interés clínico bucal en lo referente a las alteraciones del periodonto, gingivitis simple como producto del trauma oclusal y maloclusiones.- Ausencia de ganglios a nivel de la región submaxilar.

Para las observaciones microscópicas se ha considerado saliva total y centrifugada a 3500 rpm. por un espacio de cinco minutos, con el fin de que

las células presentásen la misma forma , tamaño y color con los reactivos y método empleado en sangre.

Ver el siguiente cuadro:

CASOS	TOTALES			
	POLIMORFONUCLEARES SANGUINEOS		POLIMORFONUCLEARES SALIVALES	
1	6600	64.76	700	6.86
2	5850	56.96	800	7.87
3	5250	51.11	690	6.71
4	7950	77.40	1550	15.09
5	7950	77.40	1690	16.45
6	6050	58.90	585	5.60
7	7900	76.92	1555	15.14
8	5900	67.18	700	7.97
9	6150	59.88	625	6.08
10	6700	65.88	750	7.30
11	8350	81.30	1650	16.06
12	4300	41.80	505	4.90
13	5250	51.11	685	6.68
14	5250	51.11	685	6.85
15	5550	54.03	695	6.76
16	5750	56.08	700	6.81

Dando como resultado:

- a) Diferencia: PMN leucocitario 60, 96 y PMN salivales 28.44 = 32.52%
- b) Significando en porcentaje el valor de 114.34 % entre PMN-L y PMN- salivales a favor de los PMN- leucocitarios.

17	4300	41.86	495	4.81
18	4500	43.81	500	4.86
19	6450	62.80	650	6.32
20	8400	81.78	1750	17.03
21	7650	74.48	1100	10.70
22	4850	56.24	585	6.55
23	5450	53.06	700	6.81
24	3500	34.07	400	3.89
25	7350	71.56	1100	10.70
26	5900	57.44	745	7.23
27	7400	72.05	1100	10.71
28	5050	49.17	665	6.47
29	7450	72.53	1100	10.70
30	6900	67.18	750	7.30
31	6050	58.90	625	6.08
32	6450	62.80	650	6.32
TOTAL	198400	1950.90	27463	410.14
X	6200	60.96	858.21	28.44

Cuadro N° 1.- Recuento de polimorfonucleares salivales y sanguíneos del grupo conyrol. (Cámara de Neubauer)

ANALISIS ESTADISTICO

N°	ESTADIO II					ESTADIO III					ESTADIO IV				
	ABASTON	NEUTROF	SEGMENT	LINFOCIT.	MONOCIT.	ABASTON	NEUTROF	SEGMENT	LINFOCIT.	MONOCIT.	ABASTON	NEUTROF	SEGMENT	LINFOCIT.	MONOCIT.
1	0	56	56	37	1	6	97	91	20	1	0	74	74	25	1
2	7	82	75	16	2	3	63	60	28	6	4	80	76	17	1
3	2	60	58	30	10	0	70	70	24	0	20	93	73	1	6
4	2	82	80	18	1	3	88	85	8	3	7	85	78	15	0
5	0	48	48	48	4	0	77	77	13	10	2	92	90	8	0
6	1	62	61	40	2	0	54	54	34	2	8	96	88	3	1
7	5	79	74	18	2	2	80	78	16	1	4	80	76	17	1
8	0	86	86	11	3	6	64	58	26	4	9	98	89	2	0
9	1	60	59	42	4	0	74	74	16	0	7	70	63	16	10
10	2	62	60	42	3	0	44	44	50	4	6	82	76	14	4
11	4	76	72	40	2	1	56	55	37	1	4	102	98	8	0
12	4	70	66	41	3	2	72	70	22	1	0	89	89	11	0
13	0	66	66	45	4	5	85	80	26	0	0	98	98	2	0
14	2	75	73	44	3	0	70	70	47	4	9	98	89	2	0
15	0	75	75	42	4	0	55	55	30	3	5	95	90	5	0
16	5	75	70	48	3	1	62	61	16	8	6	74	68	20	6
17	4	82	78	42	2	1	73	72	23	0	0	90	90	8	0
18	4	66	61	38	1	3	78	75	15	5	7	88	81	9	3
19	3	55	52	40	4	5	68	63	18	1	0	80	80	20	0
20	4	80	76	39	6	4	68	64	15	3	2	75	73	25	2
21	5	77	72	35	5	5	74	69	36	2	6	94	88	6	0
22	0	60	50	19	2	4	64	60	19	0	6	96	90	14	0

Estadísticas de las variables descriptas

2

X	2.5	66.8	66.3	35.2	3.2	2.3	69.8	67.5	24.5	2.7	5.1	87.7	82.6	11.3	1.6
s	2.1	11.8	10.9	11.2	2	2.2	12.1	11.3	10.9	2.7	4.5	9.4	9.5	7.5	2.7
S ²	4.5	139.5	117.9	126.2	4	4.7	146.7	127.6	118.4	7.4	20.4	89.3	90.1	56.3	7.1

Cuadro N° 2.- Cuadro comparativo de los PMN, Linfocitos, monocitos sanguíneos de pacientes infectados en los estadios II - III - IV del HIV (SIDA)

One Sample Test

t	Test Value = 0				
	df	Sig.(2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower	Upper
ABAST2	5.557	0.000	2.50	1.56	3.44
ABAST3	4.014	0.000	2.32	1.36	3.28
ABAST4	5.290	0.000	5.09	3.09	7.09
LINFOC2	14.709	0.000	35.23	30.25	40.21
LINFOC3	10.563	0.000	24.50	19.68	29.32
LINFOC4	7.047	0.000	11.27	7.95	14.60
MONOC2	7.575	0.000	3.23	2.34	4.11
MONOC3	4.633	0.000	2.68	1.48	3.89
MONOC4	2.798	0.011	1.59	0.41	2.77
NEUTRO2	27.309	0.000	68.77	63.54	74.01
NEUTRO3	27.035	0.000	69.82	64.45	75.19
NEUTRO4	42.574	0.000	87.50	83.23	91.77
SEGMENT2	28.625	0.000	66.27	61.46	71.09
SEGMENT3	28.028	0.000	67.50	62.49	72.51
SEGMENT4	40.017	0.000	82.41	78.13	86.69

Cuadro 3.- Prueba T para cada una de las variables en los Estadios II - III - IV del HIV - (SIDA)

Comparación en los Estadios II y III

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Men
Pair SEGMENT2	66.27	22	10.86	2.32
1 SEGMENT4	82.41	22	9.66	2.06

	Paired Differences					t	df	Sig (2-tailed)
	95% Confidence Interval of the Difference							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Men	Lower	Upper			
Pair SEGMENT2-SEGMENT4	-16.14	14.07	3.00	-22.38	9.90	-5.378	21	0.000

Comparación en los Estadios III y IV

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Men
Pair SEGMENT2	66.27	22	10.86	2.32
1 SEGMENT3	67.50	22	11.30	2.41

	Paired Differences					t	df	Sig (2-tailed)
	95% Confidence Interval of the Difference							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Men	Lower	Upper			
Pair SEGMENT2	66.27	10.86	2.32	-8.28	5.83	-0.362	21	0.721

Comparación en los Estadios II y IV

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Men
Pair SEGMENT3	67.50	22	11.30	2.41
1 SEGMENT4	82.41	22	9.66	2.06

	Paired Differences					t	df	Sig (2-tailed)
	95% Confidence Interval of the Difference							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Men	Lower	Upper			
Pair SEGMENT3-SEGMENT4	14.91	15.73	3.35	21.88	-7.93	-4.446	21	0.000

Cuadro 4.- Estadísticas pareadas dos a dos. Prueba de hipótesis para pacientes infectados en los estadios II - III - IV.

Como se puede observar en el gráfico, los valores pertenecientes a los elementos de defensa del Sistema Inmune de pacientes infectados, vemos que los segmentados en el Estadio IV, es mayor que los del Estadio III, y este a su vez a los de el Estadio II, por consiguiente queda demostrado que como hay un incremento de los segmentados entonces avanza la enfermedad.

DISCUSION

Clay (3), sostiene que los niveles de los PMN durante el desarrollo de la placa bacteriana induciendo a la inflamación gingival, aparentemente está relacionada al complemento de activación bacteriano y además su proliferación dependería por parte por la capacidad opsonica de los neutrofilos polimorfonucleares.

Los resultados obtenidos en muestras de sangre y saliva (total y centrífugada), observamos que el número de PMN, conforme disminuye en la sangre, también disminuye en saliva (ver página N.), pero su disminución es distinta a la de la sangre en el Grupo Control.

Asi mismo, las observaciones microscópica, revelarían una variedad de PMN salivales en forma y tamaño distintas a los de la sangre, mostrando una afinidad por el reactivo Wright.

En el recorrido del frotis, no se han encontrado eosinófilos, basófilos, monocitos, linfocitos.

Por otra parte por la información recibida, son poco los trabajos que se refieren a los polimorfonucleares salivales. La mayoría de ellos se vinculan a investigaciones experimentales, inflamaciones gingivales y enfermedad periodontal (en muestra de sangre).

Sin embargo es importante conocer la capacidad fagocitaria de los PMN salivales, puesto que se ha observado que los pacientes infectados por el HIV (SIDA), sus análisis arrojan porcentaje elevados de polimorfonucleares sanguíneos estando generalmente este incremento a los últimos estadios y fase terminal del SIDA; mientras que acusan de una leucocitosis dentro de los valores normales.

CONCLUSIONES

1. El número de polimorfonucleares sanguíneos y salivales, guardan relación directa con los estadios clínicos de pacientes infectados con el HIV / SIDA.
2. La agudización de las lesiones de los tejidos duros y blandos de la boca dependería del mayor o menor número de PMN-L, y PMN-s y de la evolución de los estadios clínicos de la infección del HIV.
3. Profundizar los resultados obtenidos y tener en cuenta la capacidad fagocitaria (opsónica) de los polimorfonucleares leucocitarisod y salivales.

BIBLIOGRAFIA

- * **BISELLI, R.**, Colab., flow cytometric approach to human polymorphonuclear leukocyte activation induced by gingival crevicular fluid in periodontal disease, inflammation, 479-87, Aug.,19(4) 1995.
- * **COGEN, R. B.**, Colab., Detachment of Endothelial cells by polymorphonuclear leukocytes in Vitro: Potentiation by antibody coating and Prevention by inflammatory exudate. J.Periodontol, 52 (11), November. 1981.
- * **CLAY, A.H.**, Relationships of serum Opsonins and Complement in human experimental gingivitis, J. Periodontol, 58,3 , March (1987).
- * **CHAPMAN, K.W.**, Polyamines four in gingival fluid enhance the secretory and oxidative function of human polymorphonuclear leukocytes in vitro, J. Periodontal-R es, 167-71, May,30 (3), 1995
- * **DI-MURRO, Colab.**, Influence of gingival crevicular washing on the expression of polymorphonuclear leukocyte membrane receptors before and after periodontal therapy, J. Clin., Periodontal, 578-83, July, 22(7), 1995
- * **ENCICLOPEDIA IBEROAMERICANA DE HEMATOLOGIA**, Ediciones Universidad Salamanca, 1992.
- * **GANONG, W.**, Fisiología Médica, 1993.
- * **GOULTSCHIN, J.**, Inhibition of superoxide generation by human polymorphonuclear leukocytes with chlorhexidine. Its possible relation to Periodontal disease, J. Periodontal, July, 1986.
- * **GUYTON**, Tratado de Fisiología Médica. 'va. Edición Interamericana Mc. Graw-Hill, 1991.
- * **HAKINS, D.**, Neutrophilic leukocytes in immunologic reactions: Evidence for the selective release of lysosomal constituents. J. Immunol. 108:310, 1972.
- * **HUJANEM-ES, Col.**, Polymorphonuclear leukocyte chemotaxis induced by zinc, copper and nickel in vitro, Biochim-Biophys-Acta 1245 (2) : 145-52, Oct. 19, 1995.
- * **KRAUS, W., Col.**, Peroxide and peroxidogenic bacteria in human saliva, J. Bacteriol, 73:727-57, 1957.
- * **LAMSTER, I.B., Col.**, An analysis of Peripheral, blood and salivary Polymorphonuclear leukocyte function. Circulating Immune complex levels and ral status in patients with inflammatory Bowel Disease, J. Periodontal, April, 1982.
- * **LAGUENS, Col.**, In vitro induction of human polymorphonuclear leukocyte damage by junin virus, Medicina (B. Aires) 46 (1), 79-84, 1986.
- * **MOUYNET, P., Col.**, Ex vivo studies of polymorphonuclear neutrophils from patients with early-onset periodontitis (III) CR3 and LFA-1 expression by peripheral blood and gingival crevicular polymorphonuclear neutrophils. J. Clin Periodontol, 110-7, Feb.22(2)1995.
- * **POALANTONIO, M., Col.**, The effect of subgingival irrigation with acetyl salicylate on the polymorphonuclear leukocyte count in periodontal pockets of medium depth, Minerva, Stomatol, 265-7, Jun: 44(6), 1995.
- * **ROBBINS**, Patología Estructural y Funcional, Sta. edición, 1995.
- * **SCULLY**, Phagocytic and killing activity of human blood gingival crevicular and phagocytic activity of blood crevicular and salivary Polymorphonuclear leukocytes in Rhesus Monkeys, Immunology, 9: 101-7, 1980.
- * **MILATIALI, SA., JUGGI, JG.**, Role of polymorphonuclear leukocytes in reperfusion injury of globally ischemic rat heart, Cand J-Cardiol. feb. 11(2): -50, 1995.
- * **SELA, MN., NCARTHUR, WP**, Phagocytosis and binding via complement receptors by salivary Polymorphonuclear leukocytes. Modulation by saliva and gingival exudate, Inflammation, DFE.5(4): 335-4, 1981.
- * **YAMAMOTO, N., SAEKI, K., UTSAMI, K.**, Isolation of human salivary polymorphonuclear leukocytes and their stimulation coupled responses. Arch-Biophys, Aug. 15:289(1).76-82, 1991.