



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

TESIS

**CÁNDIDA ALBICANS EN CONDUCTOS RADICULARES NECRÓTICOS
DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II**

PRESENTA:

C.D. MA. ESTHER ROMERO AYALA

PARA OBTENER EL GRADO DE

ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

ASESOR DE TESIS: M.O. LUCÍA ADRIANA ARENAS PÉREZ

CO-ASESOR DE TESIS: D.C. RUBÉN ABRAHAM DOMÍNGUEZ PÉREZ

MORELIA MICHOACÁN, FEBRERO 2018

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

La presente investigación, fue posible gracias a la invitación y colaboración realizada entre el Departamento de Endodoncia del Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en donde se recolectaron todas las muestras y el Laboratorio de Investigación de la Licenciatura y Posgrados de Odontología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro donde se procesaron y obtuvieron los resultados.

AGRADECIMIENTOS

Institución:

Agradezco al Centro Universitario de Estudios de Posgrado e Investigación “CUEPI” perteneciente a la UMSNH, lugar donde me formé como especialista.

Asesores:

Agradezco de manera especial a la M.O Adriana Lucía Arenas Pérez por su apoyo y confianza, gracias por haberme facilitado los medios suficientes para llevar a cabo el desarrollo de esta tesis, por su amabilidad y paciencia gracias.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al D.C. Rubén Abraham Domínguez Pérez, ya que sin él no hubiera sido posible el desarrollo de esta investigación. Debo destacar, por encima de todo, su disponibilidad, paciencia y generosidad para compartir su amplio conocimiento. Le agradezco también por sus siempre atentas y rápidas respuestas a las diferentes inquietudes surgidas durante el desarrollo de este trabajo, lo cual se ha visto reflejado en los resultados obtenidos.

Profesores:

A todos mis maestros del posgrado, agradezco también por compartir sus vastos conocimientos, por la confianza y por contribuir a mi formación como especialista, distintivamente para el C.D.E.E Benigo Miguel Rojas Calderón; quién siempre me apoyó desinteresadamente resolviendo dudas de redacción, proporcionándome los recursos necesarios para mejorar, muchas gracias doctor, de la misma forma agradezco al D.C. Octavio Vázquez Gómez, quién aunque no pertenece a la institución, de igual forma contribuyó atendiendo mis dudas de redacción y estadística para la obtención de resultados, al M.C Jesús Manuel Ortiz Madrigal, por su solidaridad y humildad, al M.O. Martín Alberto Loeza Ramírez por compartirme sus tips, y finalmente a las doctoras C.D.E.E Paola Pérez Negrón Pérez y la M.O Laysa Yanina García Chávez por su paciencia y dedicación.

Familia:

Y por supuesto, el agradecimiento más profundo va para mi familia. Ya que sin su apoyo e inspiración nada de esto habría sido posible. A mis padres, el Sr. Abraham Romero Corona y la Sra. María Esther Ayala Izquierdo, mis guerreros favoritos, gracias por su confianza, aliento y estricta educación con la que me formaron, son ejemplo de lucha y honestidad; gracias por demostrarme que todo es posible con dedicación y constancia, los Amo Papás.

A mi hermana Elizabeth por demostrarme que la magia existe, por transmitirme su optimismo y buena vibra, por relajarme con pedacitos de poesía e impulsarme siempre hacia lo desconocido; a mi hermano Alejandro por su inteligencia y generosidad y a mi hermano Abraham por su nobleza y ejemplo de superación.

Para mis amigos y compañeros de especialidad también tengo palabras de agradecimiento, gracias por tantos momentos de alegría, por su confianza y generosidad, también forman parte de esto: Balvir, Barush, Cintia, Cinthia, Dalila, Jaqueline, Jonás, Juan, Mayra, Selene y Yunuen.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. ANTECEDENTES	8
2.1. ANTECEDENTES GENERALES	8
2.1.1. INFECCIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR	8
2.1.2. CANDIDA ALBICANS	12
2.1.3. DIABETES MELLITUS	18
2.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	19
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
4. JUSTIFICACIÓN	24
5. HIPÓTESIS.....	25
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO	25
5.2. HIPÓTESIS NULA.....	25
6. OBJETIVOS	26
6.1. OBJETIVO GENERAL	26
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
7.1. CARACTERÍSTICAS DEL UNIVERSO DEL ESTUDIO	27
7.2. CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD	27
7.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	27
7.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	27
7.2.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	28

7.3. CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO	28
7.4. METODOLOGÍA	29
7.4.1. DEFINICIÓN DE PLAN DE PROCESAMIENTO CLÍNICO.....	30
7.4.2. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO	32
7.4.3. DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA.....	36
8 RESULTADOS	38
8.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	42
9 DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50
APÉNDICE A. ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	63

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de identificar la frecuencia de *C. albicans* en conductos radiculares necróticos con y sin presencia de lesión apical de pacientes con *Diabetes Mellitus tipo II*, tomando como grupo control conductos radiculares necróticos de pacientes sanos. Se obtuvieron muestras microbianas de 47 dientes con pulpa necrótica, identificando la presencia de *C. albicans* a través de PCR y electroforesis, cuantificando los resultados en una base de datos. Dado a que la Diabetes Mellitus favorece el desarrollo de infecciones por levaduras, se identificó con mayor frecuencia a *C. albicans* en aquellos pacientes diabéticos con muchos años de evolución de dicha enfermedad, así como aquellos que contaban con bajo control glucémico, lo cual ayuda a establecer las variables clínicas que pueden repercutir sobre el éxito del tratamiento endodóntico en este grupo de pacientes, ya que como se sabe, *C. albicans* es considerado uno de los microorganismos causantes del fracaso endodóntico.

ABSTRAC

The aim of this study was to determine the frequency of *C. albicans* associate with necrotic root canals with and without the presence of apical lesion of patients with *Diabetes Mellitus type II*, taking as a control group necrotic root canals of healthy patients. Microbial samples were obtained from 47 teeth with necrotic pulp tissues, the presence of *C. albicans* was obtained through PCR and electrophoresis, quantifying the results in a database. Given that Diabetes Mellitus favors the development of yeast infections, *C. albicans* was identified more frequently in those diabetic patients with many years of evolution of this disease, as well as those who had low glycemic control, which helps establish the clinical variables that may affect the success of endodontic treatment in this group of patients, since as is known, *C. albicans* is considered one of the microorganisms that cause endodontic failure.

(*C. albicans*, necrosis pulpar, infección primaria, Diabetes Mellitus tipo II, PCR).

1. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus actualmente se considera una pandemia con tendencia ascendente. Se estima que 346 millones de personas sufren diabetes en todo el mundo, debido a esto, la organización mundial de la salud (OMS) predice que esta cifra aumentará a 439 millones en el 2030 (1). El tipo de Diabetes Mellitus II o también llamada no insulino dependiente, representa aproximadamente el 95% de todos los casos de diabetes, se menciona que su etiología y patogenia es multifactorial (2).

Existen varios mecanismos biológicos que podrían explicar la interacción entre la Diabetes Mellitus y la enfermedad pulpar, debido a que específicamente la Diabetes Mellitus tipo II puede considerarse una manifestación de la respuesta inflamatoria del huésped, ya que la respuesta de fase aguda inducida por citoquinas está estrechamente involucrada en la patogenia de la periodontitis apical (3).

En relación a lo anterior, la hiperglucemia ejerce efectos sobre las células y tejido pulpar dañado, donde se genera una proliferación bacteriana debido a la muerte de leucocitos, por aceleración del proceso de apoptosis, inhibición de la función de los macrófagos, producido por cambios vasculares en la pulpa dental que provocan un decremento de la células de defensa y tensión de oxígeno, así como un incremento en el número de bacterias anaeróbicas (4,5).

Sin embargo, se ha establecido firmemente que *C. albicans* es uno de los patógenos oportunistas con mayor prevalencia y difícil erradicación en bocas de pacientes diabéticos, principalmente mal controlados (6). La literatura refiere diversos factores que contribuyen a su desarrollo, como es el tipo de Diabetes Mellitus, el tiempo de evolución de la enfermedad y el nivel de glucosa (7,8). En endodoncia se ha identificado la presencia de hongos en infecciones intrarradiculares primarias y secundarias, principalmente asociadas a lesiones perirradiculares. Con base a lo anterior se ha demostrado la resistencia de *Candida spp.* hacia algunos medicamentos comúnmente utilizado en endodoncia, incluido el hidróxido de calcio mezclado con vehículos inertes (9).

2. ANTECEDENTES

2.1. ANTECEDENTES GENERALES

2.1.1. INFECCIÓN DEL CONDUCTO RADICULAR

Se ha determinado que las bacterias y sus productos son el principal factor etiológico del desarrollo de caries, así como de la enfermedad pulpar y periapical, al tener éstas la capacidad de formar un biofilm (10).

El biofilm, se define como una capa viscosa, compuesta de una matriz de polisacáridos, proteínas y microorganismos, la cual es resistente y difícil de erradicar. Estas comunidades microbianas pueden incluir bacterias, hongos y espiroquetas (11).

Al infectarse el conducto radicular, se ocasiona la destrucción del tejido pulpar y la formación de una lesión periapical, posterior a la destrucción pulpar, se genera un “espacio muerto” dentro del conducto radicular, en donde hay ausencia de circulación vascular, creándose el ambiente adecuado para la colonización de microorganismos y para la degradación de los componentes proteicos proveniente de los fluidos corporales. Las principales vías de contaminación pulpar son la exposición de tubulillos dentinarios, exposición directa de la pulpa, a través de la circulación sanguínea, foraminas laterales y apicales (12).

Por lo que piezas dentales con pulpas necróticas y lesiones periapicales indican la presencia de bacterias dentro del sistema de conductos radiculares. Lo que puede ocasionar, periodontitis apical, un proceso inflamatorio que se desarrolla alrededor del ápice acompañado de resorción ósea (13,14).

Causas de la infección del conducto radicular

Miller en 1973 (10), descubrió por primera vez la invasión bacteriana en túbulos dentinarios de órganos dentales con caries, la cual consistía en cocos y bacilos. Mientras Keyes en 1960 (15), demostró que la caries dental no se desarrollaba en animales libres de gérmenes, alimentando a estos con diferentes dietas.

Tiempo más tarde Kakehashi y colaboradores en 1965 (16), establecieron que la necrosis pulpar junto con las lesiones periapicales solo se desarrollan en ratas convencionales y no en ratas libres de gérmenes, al mantener expuesta la pulpa cameral a la cavidad oral. De igual forma, en un estudio realizado en dientes de monos, Möller y colaboradores en 1981 (17) probaron que solamente pulpas necróticas infectadas indujeron la formación de lesiones perirradiculares, mientras que pulpas necróticas no infectadas por microorganismos mostraron ausencia de cambios patológicos en los tejidos perirradiculares. Sundqvist en 1976 (18), confirmó en su estudio el papel importante de las bacterias en las lesiones perirradiculares de dientes humanos, en el cual las bacterias fueron las únicas que se encontraron en conductos radiculares de dientes sin pulpa con la presencia de destrucción de hueso perirradicular.

Tal es el caso que cuando la pulpa dental es expuesta por caries, desgaste dental, iatrogenias durante preparaciones dentales, fracturas traumáticas o fisuras, las bacterias orales puede invadir fácilmente la pulpa y causar inflamación de la misma. Mientras tanto, los productos metabólicos de las bacterias son los responsables de la reacción inflamatoria y subsecuentemente de la desintegración e infección del espacio pulpar. Si la infección en el conducto persiste, la inflamación crónica del área periapical inducirá la pérdida de hueso (19).

Tipos de infección del conducto radicular

Existen diferentes tipos de infección del conducto radicular, los cuales usualmente están asociados con diferentes condiciones clínicas. La infección intrarradicular primaria, es la primera causa de afecciones perirradiculares agudas o crónicas. La infección intrarradicular secundaria o persistente es la segunda causa de una lesión perirradicular crónica, la cual ocasiona persistencia de síntomas, exudado, o fracaso del tratamiento endodóntico.

Los microorganismos que ocasionan la infección secundaria, penetran al conducto radicular durante el tratamiento endodóntico, ya sea entre citas o al finalizar el tratamiento. Por otro lado, en la infección intrarradicular persistente, los

microorganismos en algún momento resistieron o sobrevivieron a los procedimientos de desinfección y pueden ser miembros de la infección primaria o secundaria (20). En estos últimos dos tipos de infección, la microbiota se compone de una sola especie o al menos de un número pequeño de especies comparado con la infección primaria, predominando las bacterias Gram-positivas (21). Aquí únicamente los hongos pueden encontrarse en un número significativamente alto, en comparación con la infección intrarradicular primaria (22–24).

Infección intrarradicular primaria

Las infecciones endodónticas primarias son causadas por microorganismos orales, los cuales usualmente son patógenos oportunistas. Teóricamente, cualquiera de las más de 400 especies microbianas de la microbiota oral pueden invadir el conducto radicular necrótico y establecer un proceso infeccioso (25).

Factores que influyen en la microbiota

Las cepas de patógenos pueden diferir en virulencia. Tales diferencias pueden ser una de las explicaciones por las que algunas especies se encuentran en casos sintomáticos y asintomáticos. El sinergismo entre especies, en comunidades mixtas y el número de microorganismos, son otras de las posibles explicaciones. Otros factores importantes son las condiciones ambientales y la resistencia del huésped, puesto que las bacterias pueden cambiar su comportamiento, volviéndose virulentas debido a las tensiones ambientales generadas por inanición, densidad de población, pH, calcio, hierro, osmolaridad y temperatura (26,27).

Sin embargo, los principales factores ecológicos que afectan la supervivencia de las especies en un ambiente endodóntico son la disponibilidad de nutrientes, el nivel de oxígeno y pH (28,29).

Por otro lado, la patogenicidad de los microorganismos está influenciada por diversos factores, como es la interacción bacteriana, la evasión del huésped,

comunicación celular bacteriana, la liberación de LPS y la producción de enzimas proteolíticas, como son las colagenasas, fibrinolisinias o proteasas (30,31).

Microbiota (prevalencia de microorganismos)

El número de especies bacterianas en los conductos radiculares puede variar de 1 a más de 12, y el número de bacterias varía entre 10^2 y 10^8 por conducto radicular. Existe una correlación entre el tamaño de la lesión periapical y el número de especies y bacterias presentes en el conducto. Por lo tanto, los dientes con lesiones grandes generalmente albergan más especies bacterianas y tienen una mayor densidad de bacterias en sus conductos radiculares, que los dientes con lesiones pequeñas (32).

En general, las infecciones primarias son mixtas y predominan las bacterias anaeróbicas, como *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Campylobacter*. Los *Streptococos facultativos* también se encuentran comúnmente en infecciones primarias, mientras que algunas bacterias anaerobias Gram negativas están estrechamente asociadas a las lesiones perirradiculares sintomáticas, aunque, también se han observado en casos asintomáticos (33–35).

Infección extrarradicular

Las infecciones extraradiculares pueden ser primarias, secundarias o persistentes, la forma más común de éstas es el absceso perirradicular agudo y su origen proviene de una infección intrarradicular.

La mayoría de las especies detectadas en este tipo de infección, suelen ser patógenos orales oportunistas que normalmente no pueden sobrevivir en un entorno tan desfavorable (20).

El desarrollo de lesiones perirradiculares crea una barrera dentro del cuerpo para prevenir una diseminación de microorganismos. El tejido óseo se reabsorbe y se sustituye por un tejido granulomatoso que contiene elementos de defensa, tales

como células (fagocitos) y moléculas (anticuerpos y moléculas de complemento). Generalmente está presente en el foramen apical una pared densa compuesta de leucocitos polimorfonucleares o con menor frecuencia un tapón epitelial bloqueando la salida de microorganismos hacia los tejidos perirradiculares.

Dado que los microorganismos establecidos en los tejidos perirradiculares son inaccesibles a los procedimientos de desinfección endodóntica, la infección extrarradicular puede ser un factor sobre el fracaso de la terapia endodóntica (36).

2.1.2. CANDIDA ALBICANS

C. albicans, es un comensal fúngico que comúnmente puede encontrarse en boca, sistema digestivo, piel y genitales de individuos sanos (37,38), además de encontrarse en conductos radiculares, con mayor prevalencia en aquellos conductos tratados endodónticamente asociados a lesiones perirradiculares, por lo que se considera uno de los factores etiológicos del fracaso endodóntico (39).

La forma más común para que este microorganismo prolifere hacia la pulpa es a través de los túbulos dentinarios, cuyos diámetros se aproximan a 2.5 micras cuando estos se encuentran cerca de la pulpa, 1.2 micras en la porción media de la dentina y 0.9 micras cerca de la unión dentina-esmalte (22), por lo tanto cuando *C. albicans* se encuentra en forma de hifa, es fácil que éste penetre, debido a que su diámetro, oscila entre 1.9 a 2.6 micras (40,41).

Sin embargo este microorganismo es capaz de interactuar en conjunto con múltiples bacterias, efectuando irritación dentro del sistema de conductos radiculares, para producir una infección polimicrobiana, lo que desencadenará una inflamación aguda o crónica alrededor del ápice, llamada periodontitis apical (42).

Por otra parte, este microorganismo es considerado uno de los patógenos oportunistas con mayor prevalencia y difícil erradicación, principalmente en pacientes diabéticos mal controlados (6), ya que el medio ácido, como es el caso de la cetoacidosis de pacientes diabéticos, produce las condiciones óptimas para que éste microorganismo se desarrolle (43–45). Cabe señalar que *C. albicans*

puede persistir pH ácidos, alcalinos y neutros, además de ser capaz de sobrevivir en presencia y ausencia de oxígeno (6,46–49).

Existen una serie de factores que favorecen la colonización de éste hongo, como es la reducción de saliva y de sus componentes, como son las lisozimas e inmunoglobulinas A específicamente, lo que favorece la adhesión del hongo en boca de pacientes diabéticos (50). El tipo de Diabetes Mellitus, tiempo de evolución de la enfermedad, el nivel de glucosa, y el hecho de que algún paciente porte alguna prótesis dental, son factores que contribuyen a su desarrollo (7,8).

Se ha reportado que el tabaco puede contribuir en la patogénesis de *C. albicans* en pacientes diabéticos (51).

Por otro lado la administración de glucocorticoides en pacientes y animales de laboratorio se ha asociado con un incremento de infecciones por *C. albicans*, lo que convierte a los glucocorticoides en otro factor de riesgo (52,53).

Durante periodos de supresión inmunológica causada por quimioterapia, trauma, edad y cáncer, *C. albicans* al encontrarse de forma inocua, logra superar el sistema inmunológico, diseminarse y entonces causar daño al huésped (54–56).

Debido a esto, las infecciones por *C. albicans* han incrementado dramáticamente, sin excluir los tratamientos inmunosupresores de cualquier índole, cateterización en plazos largos y consumo prolongado de antibióticos de amplio espectro (57,58).

En relación a lo anterior, es importante mencionar los efectos que ejerce la hiperglucemia sobre las células y tejido pulpar dañado, donde se genera una proliferación bacteriana debido a la muerte de leucocitos, por aceleración del proceso de apoptosis, inhibición de la función de los macrófagos (adhesión, quimiotaxis y fagocitosis), producido por cambios vasculares en la pulpa dental que provocan un decremento de la células de defensa y tensión de oxígeno, así como un incremento en el número de bacterias anaeróbicas, como es el caso de los *Streptococcus* quienes interaccionan y producen sinergismo con *C. albicans*,

específicamente con *Streptococcus gordonii*, quien regula el desarrollo de *C. albicans* en boca y su proceso de infección (4,5).

Aunado a esto *C. albicans* y *Estafilococo epidermidis* también forman un biofilm mixto, ya que han sido identificados juntos en infecciones multimicrobianas (59), y por el contrario *P. aeruginosa* muestra una interacción antagonista hacia *C. albicans*, ya que se ha demostrado in vitro, que al ser colonizado *C. albicans* por *P. aeruginosa*, *C. albicans* muere, sin decir que *P. aeruginosa* elimine al hongo, es decir modifica y controla su crecimiento (60).

En un estudio en el que se evaluó a través de cultivos el efecto que ejercen las bacterias orales sobre el crecimiento y la supervivencia de *C. albicans*, se observó que *A. israelii*, bacilo grampositivo anaerobio, expuesto a altas concentraciones, inhibe la formación del biofilm de *C. albicans*, mientras que a baja concentración, incrementa significativamente la formación del biofilm. De igual forma *P. gingivalis* y *P. intermedia* en altas concentraciones inhiben el crecimiento de *C. albicans* en un 42% (61).

El mecanismo por el cual la diabetes atrae en alto porcentaje a *C. albicans* en boca, aún no está establecido, sin embargo es conocido ampliamente que niveles altos de glucosa en saliva de pacientes diabéticos favorecen el desarrollo del hongo (6).

Afinidad de C. albicans por glucosa

Hostetter (62) da a conocer que existe mayor expresión de proteínas en *C. albicans* cuando se incrementa la concentración de glucosa en sangre, sin encontrarse diferencias en el índice de crecimiento del hongo. Éste autor concretó, que *C. albicans* expresa una proteína inducida por glucosa (iC3b), la cual es estructural y funcionalmente homologa a un receptor que tienen los fagocitos de mamíferos (C3), por lo que iC3b promueve la adhesión del hongo y sobrevive ante los fagocitos, debido a que se inhibe la fijación de C3 a la superficie del hongo, afectándose de éste modo la opsonización.

En otro estudio realizado por Hostetter (63) se enfatiza que existe un incremento en la densidad de los receptores iC3b cuando *C. albicans* está en forma de micelio y cuando los niveles de glucosa superan los 180 mg/dl en sangre. También demostró que las concentraciones fisiológicas de glucosa, así como el metabolismo de ésta, promueven la expresión de estas proteínas localizadas en la matriz citoplasmática y membrana del hongo.

En el mismo contexto, Brown, Sexton & Johnston (64) mencionan otra proteína presente en *C. albicans*, la cual controla la captación de glucosa a través de la regulación de la expresión de genes que codifican a los transportadores de hexosas, denominada hgt4, la cual es sensible a niveles normales de glucosa y su expresión disminuye con niveles altos, ya que codifica a sensores con alta afinidad por azúcares, como son los hgt12, hxt10, y hgt7, los cuales son requeridos para el crecimiento, filamentación y virulencia.

Por lo que *C. albicans* posee como única característica, promover su virulencia en un ambiente hiperglucémico (65).

Debido a la forma que tiene *C. albicans*, su diseminación se facilita a través de los fluidos corporales, ya que en forma de hifa se puede extravasar en los tejidos o puede formar biofilms en forma de micelio (66,67). Cabe mencionar que la glucosa actúa como un morfogen para *C. albicans*, dado que es capaz de desencadenar la transición del hongo a hifa, lo cual determina su virulencia (68).

Otro aspecto importante es que la glucosa es una fuente de energía, que impacta sobre *C. albicans* al poseer un alto número de transportadores de hexosas, se estima que son más de 20 (69), logrando obtener más de 38 ATPs por molécula de glucosa metabolizada (70).

Cabe señalar que los sensores de glucosa (hgt4) poseen prolongaciones citoplasmáticas largas que generan señales intracelulares ante la presencia de glucosa, las cuales están ausentes en los transportadores de glucosa, es decir los sensores no pueden transportar azúcares, más bien, generan señales que inducen la expresión de genes que codifican a los transportadores de hexosas (71).

Para que se pueda llevar a cabo el metabolismo de hexosas, se requiere la fosforilación catalizada por hexoquinazas. *C. albicans* posee dos hexoquinazas (hvk1 y hvk2) y 4 glucoquinazas (glk1, glk2, glk3, y glk4), solo la hexoquinasa (hvk2) es regulada por hgt4 (72,73).

Brown, Sexton & Johnston (64) sugieren que Hgt4 se puede requerir para la fermentación, debido a que las células fermentadoras demandan un incremento en el transporte de glucosa para obtener suficiente energía de la relativa ineficiencia de la función del metabolismo.

En este sentido, el oxígeno que requiere *C. albicans* para la respiración en el torrente sanguíneo, no está disponible, dado que el oxígeno es transportado por la hemoglobina (74), por lo que se sugiere que *C. albicans* depende en parte de la fermentación (75).

Sabina & Brown (76) argumentan que la absorción de glucosa por *C. albicans* principalmente se da por 3 vías y ninguna opera de manera aislada: (vía I) SRR (receptor-represor de azúcar), (vía II) Represor de glucosa y (vía III) Adenilato ciclasa. Mencionan que cada sistema utiliza diferentes señales para la transducción de la cascada, pero existe una extensiva regulación que los mantiene juntos como mecanismo de repuesta ante la glucosa.

Asimismo, se sabe que *C. albicans* utiliza un arsenal de herramientas moleculares para debilitar las líneas de defensa del cuerpo, como son las proteínas de la pared celular (CPWs) ligadas a polisacáridos, las cuales juegan un rol importante en la adaptación y virulencia de *C. albicans*, contribuyendo a mantener la integridad de la pared celular del hongo, a promover la formación del biofilm, a mediar la adherencia a las células del huésped, a promover la invasión epitelial y de éste modo ejercer protección contra el sistema inmunológico (77,78).

No obstante, *C. albicans* al tener la habilidad de formar e integrarse en un biofilm, ya sea en superficies orgánicas o inorgánicas, convierte a este patógeno en un factor de virulencia resistente y difícil de erradicar, puesto que tiene la capacidad

de colonizar túbulos dentinarios, lo que interfiere con la acción de medicamentos endodónticos (79,80).

Resistencia de *C. albicans*

El *hgt4* de *C. albicans* parece regular la expresión de genes, incluyendo *Qdr1*, que codifica un transportador de resistencia a múltiples fármacos, y *Gal1*, que codifica la galactoquinasa, así como genes que codifican componentes de una vía de respiración alternativa. (81)

En relación a esto, considerando estudios realizados *in vitro*, *C. albicans* y otras especies de *Cándida* han demostrado tener mayor resistencia al hidróxido de calcio en comparación con *E. faecalis*, la sensibilidad de *C. albicans* hacia el hidróxido de calcio es generalmente baja, y se menciona que se requiere incubación de 16 h para eliminar el 99.9 % de las células, mientras que *E. faecalis* requiere de 20 min -1 h (82).

Así mismo se ha evaluado a través de numerosos estudios, el efecto antimicrobiano del ácido cítrico, clorhexidina y el NaOCl sobre *C. albicans*, en donde se obtuvo que ambos irrigantes endodónticos son menos efectivos sobre *C. albicans* en comparación con *E. faecalis* y esto se relacionó con la presencia de barrillo dentinario, cabe hacer mención, que el NaOCl por sí solo en ausencia de barrillo dentinario, muestra actividad anti fúngica después de 30 min (83).

En base a lo expuesto, llama la atención que un biofilm de *Cándida* sea de 30 a 2000 veces más resistente que las células planctónicas, incluso expuestos a fungicidas, incluyendo anfotericina B, fluconazol, itraconazol, miconazol, ravuconazol, nistatina, ketoconazol y clorhexidina (37,79), todo esto como consecuencia de un crecimiento alterado del hongo, un alto índice metabólico, la presencia de una matriz extracelular, la resistencia a la expresión de genes y la persistencia de células por resistencia a medicamentos, lo que transforma su genotipo y lo hereda haciéndolo cada vez más resistente. Considerando además que los nutrientes (galactosa, glucosa, fructosa y lactosa), la presencia de saliva, la disponibilidad de oxígeno, EPS y especies de *Cándida*, son elementos que

contribuyen a su desarrollo (37). Otra condición que influye en la supervivencia de éste hongo, es la temperatura, se dice que *C. albicans* es capaz de sobrevivir a temperaturas mayores a 45°C, por lo que la temperatura corporal, la cual oscila entre 37°C no representa una condición de estrés severa para éste (84).

2.1.3. DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus es un desorden metabólico, caracterizado por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, que puede deberse a una absoluta deficiencia de insulina (Diabetes Mellitus tipo I / insulino dependiente) o a la resistencia de los tejidos diana por efecto del metabolismo celular (Diabetes Mellitus tipo II / no insulino dependiente), el tercer tipo de Diabetes Mellitus, es la gestacional, esta presenta intolerancia a los carbohidratos y se desarrolla durante el embarazo (2).

En el 2011, se reportaron 366 millones de personas con diabetes mellitus en todo el mundo y se espera que incremente el número a 552 millones en el 2030 (85).

La Diabetes Mellitus tipo I, representa del 10-15% de los casos y suele manifestarse inicialmente con un cuadro metabólico agudo, en forma de poliuria intensa, polidipsia, polifagia, intensa pérdida de peso, astenia y cetoacidosis, en general antes de los 30 años. Esto se debe a la destrucción de los islotes de Langerhans (habitualmente, por un mecanismo inmunológico). La Diabetes Mellitus tipo II, es la forma más prevalente y suele presentarse de forma progresiva sin cuadro metabólico, sospechándose sobre todo por infecciones asociadas o complicaciones de la enfermedad. No tiende a la cetoacidosis y con frecuencia, se asocia a obesidad. Resulta de una combinación de insulino-resistencia con secreción defectuosa de insulina (86). Este tipo de diabetes reporta aproximadamente del 85-90% de todos los casos de diabetes y se caracteriza por resistencia a la insulina, disfunción de las células β -pancreáticas, e incremento en la producción de glucosa endógena, con niveles de insulina normales, altos o reducidos, lo que afecta el nivel de glucosa en sangre, generalmente este tipo de diabetes se asocia con la obesidad, sedentarismo,

herencia y usualmente se diagnostica después de los 40 años, aunque recientemente se ha observado en jóvenes. Su control previene complicaciones como retinopatía, nefropatía, neuropatía y enfermedades cardiovasculares (2).

2.1.4. RELACIÓN ENTRE LA DIABETES MELLITUS TIPO II Y LAS INFECCIONES ENDODONTICAS

El impacto que genera la Diabetes Mellitus sobre las infecciones endodónticas, es su agresividad y potencial de destrucción, principalmente en pacientes no controlados, lo que genera retardo en la curación (85). Estos pacientes además revelan un incremento en la prevalencia de lesiones perirradiculares de conductos tratados endodónticamente, incrementándose la incidencia de retratamientos (87).

La literatura menciona que pocos estudios reportan interferencia de la diabetes mellitus en endodoncia, sin embargo en un estudio realizado en Brasil se demostró que la prevalencia de periodontitis apical es significativamente alta en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II, en comparación con pacientes sanos. Y en contraste con lo anterior, la alta prevalencia de periodontitis apical se asoció con piezas sin tratamiento endodóntico (88,89).

En consecuencia, el tratamiento endodóntico de pacientes diabéticos con infección intraconducto tiende a disminuir su éxito, además de ser susceptibles a agudizaciones, por lo que dichos pacientes deberían recibir tratamientos basados en evaluaciones cuidadosas y protocolos antimicrobianos efectivos (90).

2.2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

En un estudio realizado en 55 pacientes, en donde se obtuvieron 60 muestras de conductos radiculares con PA, de los cuales 35 no presentaban tratamiento endodóntico y 25 si, incluyendo 59 muestras de saliva. Los pacientes seleccionados no debían tener antecedentes médicos de terapias prolongadas con antibióticos, esteroides, anemia ni diabetes. Las muestras se cultivaron en agar dextrosa sabouraud y posteriormente se obtuvieron las unidades formadoras de colonia, en donde la prevalencia de hongos en saliva fue de 32.7%, de los cuales

C. albicans fue el más prevalente (17/23 o 73.9%), la prevalencia en los conductos radiculares con periodontitis apical crónica fue de 10% en conductos no tratados y 5.7% en conductos tratados (3/8 o 16% en total), en este sentido se asoció la presencia del hongo en conductos radiculares con la presencia en saliva (91).

No obstante, se ha demostrado en estudios clínicos y experimentales mayor prevalencia de lesiones periapicales en pacientes hiperglucémicos no controlados, así como alteraciones en la pulpa dental debido a la presencia de circulación colateral limitada y daño en la respuesta inmunológica, lo que incrementa el riesgo de adquirir infección pulpar provocada por anaerobios, debido a la reducción en el transporte de oxígeno a través de los capilares, así como candidiasis oral, además de que estos pacientes son susceptibles a presentar odontalgia y ocasionalmente tendencia a necrosis pulpar causada por isquemia (90).

En el mismo sentido, se ha identificado la presencia de *C. albicans* con el uso de PCR en 24 muestras de conductos radiculares infectados, recolectadas con puntas de papel estéril y en 19 aspiraciones de abscesos o celulitis de pacientes con signos y síntomas de lesión periapical, en las cuales se detectó la presencia de *C. albicans* en 5 de 24 muestras tomadas en conductos radiculares (21%), sin embargo no se detectó su presencia en ninguna de las aspiraciones (83).

De igual manera se realizó un estudio microbiológico en 967 muestras endodónticas, las cuales debían tener periodontitis apical persistente, las muestras fueron cultivadas aeróbica y anaeróbicamente en agar sangre, como resultado se obtuvo que 48 hongos fueron aislados en 47 muestras, lo que corresponde a un 7% del total de las muestras cultivadas, donde *C. albicans* fue la especie más común, representando un 80%. En 41 (86%) muestras se encontraron bacterias junto con hongos, de estas muestras excepto en 2 se acompañaban de bacterias facultativas grampositivas y en 12 (26%) se encontraron bacterias anaeróbicas junto con hongos (22).

Por otro lado se ha demostrado que existe mayor prevalencia de *C. albicans* en boca de pacientes diabéticos que en sanos, debido a efectos secundarios por la ingesta de antibióticos, antihistamínicos y quimioterápicos (92).

Con lo anteriormente expuesto cabe mencionar que más del 77% de los pacientes diabéticos tratados con insulina albergan especies de *Cándida* en boca. De manera semejante, se sabe que pacientes diabéticos sin control médico se predisponen en mayor grado a una variedad de infecciones sistémicas y superficiales, particularmente a candidiasis oral, por lo que el curso de la infección es más complicado en este grupo de pacientes (6).

En contraste con lo anterior, en un estudio realizado en 142 pacientes diabéticos, se observó que solo 5 (3,5%) de los pacientes mostraron signos clínicos de infección oral por *Cándida*. En los pacientes diabéticos mal controlados, la *Cándida* se desarrolló en mayor grado en la Diabetes Mellitus tipo I que en el tipo II y la retinopatía asociada con la Diabetes Mellitus mostró incremento en el desarrollo de *Cándida* (93,94).

Igualmente en otro estudio se evaluó la prevalencia de *C. albicans* en boca de pacientes insulino dependientes, realizándoles una citología exfoliativa del dorso de la lengua, tomando en cuenta todos los datos de la historia médica y dental, donde se encontró que existen 3 factores predisponentes, como es la frecuencia del consumo de cigarrillos, uso de prótesis dental y niveles elevados de glucosa, concluyéndose que los pacientes con diabetes mellitus son 5 veces más predisponentes a enfermedades orales atribuibles a *C. albicans* en comparación con pacientes sanos (95).

De otro modo se investigó en 80 ratas wistar la relación que existe entre infecciones orales y la concentración de glucosa en sangre en ratas diabéticas y sanas, revelándose mayor severidad de infiltrado inflamatorio y reabsorción de hueso alveolar en las ratas diabéticas con periodontitis apical y enfermedad periodontal, además de encontrarse mayor nivel de hemoglobina glucosilada en

sangre, por lo que las infecciones orales se asocian con un incremento en la concentración de glucosa en ratas diabéticas (96).

En otro estudio, se identificaron bacterias a través de PCR en 24 muestras recolectadas con puntas de papel estéril en conductos radiculares con pulpa necrótica y periodontitis apical, asociando los microorganismos con síntomas clínicos y Diabetes Mellitus. De las 24 muestras, se obtuvieron 8 sintomáticos y 6 diabéticos (2 con Diabetes Mellitus tipo I y 4 con tipo II), 3 de ellos tenían buen control glucémico y los otros 3 control glucémico bajo, de los 18 pacientes sanos ninguno tenía niveles altos de glucosa, de las 24 muestras solo en 22 se identificaron bacterias y de las 2 restantes no se identificó nada debido a que eran piezas intactas traumatizadas, de acuerdo a los resultados se demostró que los síntomas preoperatorios estaban significativamente asociados con la presencia de *Streptococcus spp*, mientras que no hubo diferencia entre *F. nucleatum* y *P. gingivalis* y se asoció *P. gingivalis* y *P. endodontalis* con la Diabetes Mellitus (97).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, los pacientes diabéticos constituyen uno de los problemas de salud con mayor incidencia y prevalencia por su enorme repercusión sistémica y bucal, hasta el momento se sabe que existe una estrecha relación de *C. albicans* con este grupo de pacientes y su desarrollo principalmente en piel y mucosas, sin embargo no se saben las implicaciones que pudiera tener en endodoncia, por lo que es necesario conocer la frecuencia con la que se presenta *C. albicans* en conductos radiculares necróticos de pacientes con Diabetes Mellitus tipo II.

4. JUSTIFICACIÓN

Debido a la alta incidencia de *C. albicans* en boca, su difícil erradicación, así como la lenta recuperación de lesiones en pacientes diabéticos, es importante conocer la frecuencia de *C. albicans* en conductos radiculares necróticos de pacientes diabéticos ya que actualmente no existe evidencia. Su identificación y alta prevalencia impactaría directamente sobre el pronóstico del tratamiento endodóntico, por lo que ésta investigación beneficiará a todos los pacientes diabéticos, que como se sabe, la Diabetes Mellitus tipo II constituye uno de los desórdenes metabólicos más comunes que afectan a pacientes de todas las edades en todo el mundo, por lo que sería favorable impulsar el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, como irrigantes, medicamentos intraconducto y materiales de obturación que liberen moléculas con acción fungicida, quizás también se deba implementar la administración de medicamentos orales que erradiquen de manera satisfactoria a *C. albicans*, proporcionándole de esta manera al especialista las herramientas necesarias que le permitan prevenir y tratar oportunamente a estos pacientes.

5. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

C. albicans se presenta con mayor frecuencia en conductos radiculares necróticos de pacientes con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II, que en conductos radiculares necróticos de pacientes sistémicamente sanos.

5.2. HIPÓTESIS NULA

C. albicans se presenta con menor frecuencia en conductos radiculares de pacientes con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II, que en conductos radiculares necróticos de pacientes sistémicamente sanos.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la frecuencia con que se presenta *C. albicans* en conductos radiculares necróticos de pacientes con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la frecuencia con que *C. albicans* está presente en conductos radiculares necróticos de pacientes con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II.
- Identificar la frecuencia con que *C. albicans* está presente en conductos radiculares necróticos de pacientes sistémicamente sanos.
- Comparar la frecuencia con que *C. albicans* está presente en conductos radiculares de ambos grupos de pacientes.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. CARACTERÍSTICAS DEL UNIVERSO DEL ESTUDIO

La investigación se llevó a cabo a partir de muestras tomadas de conductos radiculares de piezas dentales con diagnóstico de necrosis pulpar con o sin presencia de lesión periapical, en pacientes sistémicamente sanos y con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II que acudieron al Posgrado de Endodoncia de la UMSNH, en un periodo de julio de 2016 a julio 2017.

7.2. CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD

7.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Sujetos sistémicamente sanos o con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II que presentaron:

- Órganos dentales con diagnóstico de necrosis pulpar con o sin lesión periapical.

7.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Sujetos con enfermedades sistémicas además de diabetes.
- Órganos dentales que presentaron necrosis pulpar pero que estuvieron periodontalmente comprometidos.
- Órganos dentales que presentaron fractura radicular vertical o fisuras.
- Órganos dentales con perforación de furca o del conducto radicular.
- Órganos dentales que presentaron separación de instrumentos dentro del conducto.

7.2.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Todas las piezas que se sospechó que hayan sido contaminadas.

7.3. CLASIFICACIÓN DEL ESTUDIO

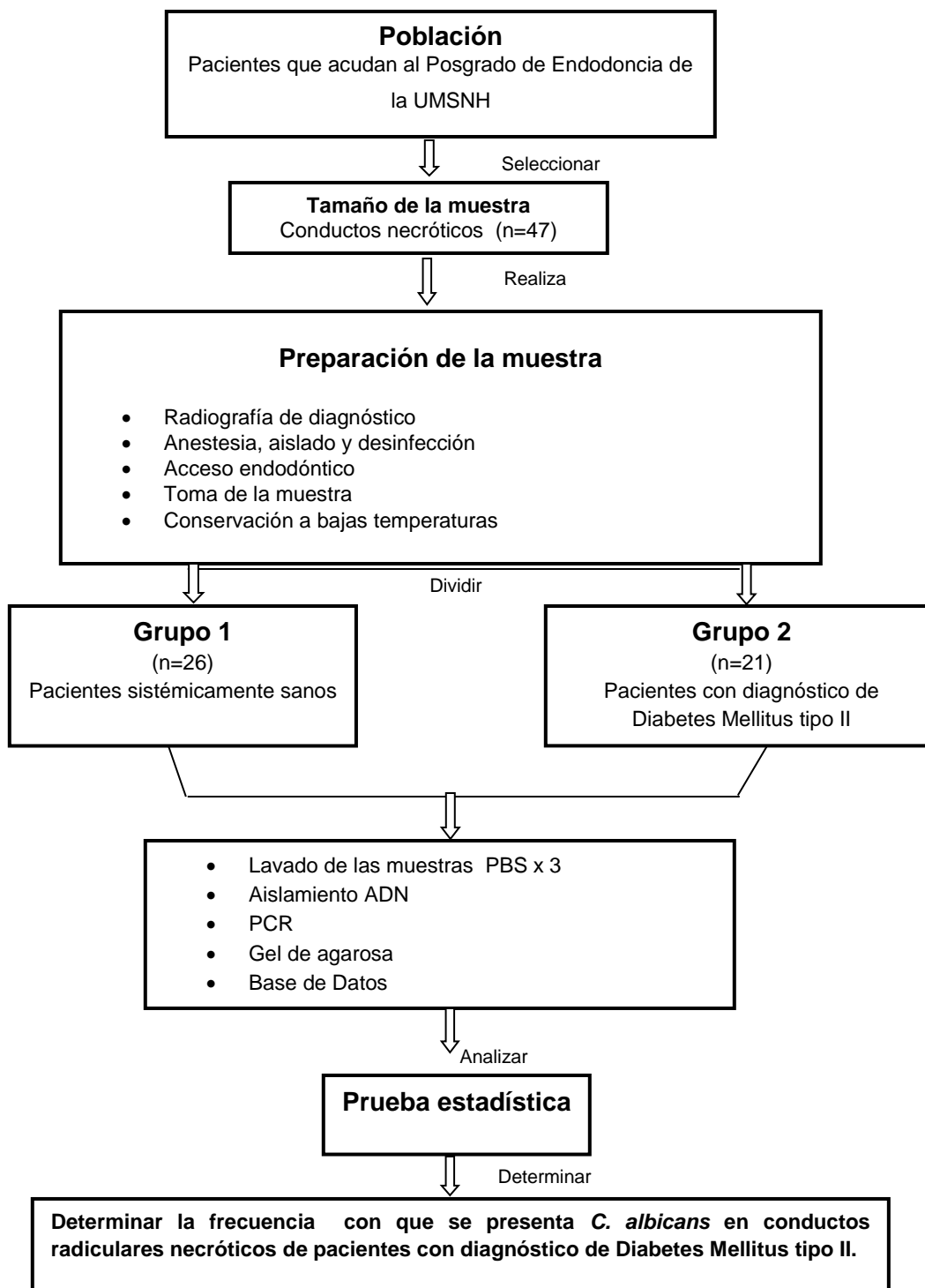
El presente estudio es **observacional**, porque se describirá el problema, tal como se presenta, sin manipular las variables.

Descriptivo, ya que se mencionará la presencia o ausencia de *C. albicans* en las variables.

Transversal Analítico, porque solo una vez será evaluado el paciente para tomarlo en cuenta en el estudio.

Comparativo, pues se van a tener dos grupos de pacientes, entre los que se compararán resultados.

7.4. METODOLOGÍA



7.4.1. DEFINICIÓN DE PLAN DE PROCESAMIENTO CLÍNICO

Se realizaron las historias clínicas, y se estableció el diagnóstico y plan de tratamiento correspondiente a cada paciente. Previo a la recolección de muestras, se les explicó e invitó a los pacientes a participar en la investigación, explicándoles detalladamente los objetivos que se buscaban y la justificación de la investigación, cuyo fin es mejorar el tratamiento de la población diabética. Si los pacientes decidían participar, se les proporcionaba una carta de consentimiento informado en donde se detalló el procedimiento, se le pidió que firmara el documento y se le proporcionó una copia. Se hizo énfasis en que sus datos personales serían confidenciales y que todo el procedimiento se realizaría bajo un estricto principio ético bajo los principios propuestos en la declaración de Helsinki.

Las muestras se recolectaron con asepsia estricta.

Por lo tanto los procedimientos aquí descritos se realizaron después de los procedimientos anestésicos y mientras estos hacen efecto.

- 1.- La pieza dental de interés, así como las dos piezas vecinas fueron talladas con una torunda de algodón empapada en peróxido de hidrógeno (dermoclean de 100 ml al 3%), teniendo cuidado de no dañar el tejido periodontal.
- 2.- Se colocó el dique de hule y se verificó su correcto sellado.
- 3.- Todas las paredes de la pieza dental fueron limpiadas con una torunda de algodón empapada en hipoclorito de sodio (Viarzoni-T, Viarden al 2.5%)
- 4.- Se realizó el acceso coronal, eliminación completa de caries y restauraciones, utilizando fresas estériles, en casos necesarios se irrigó con hipoclorito de sodio en la cámara pulpar.
- 5.- Una vez que se encontró el acceso a los conductos, se irrigó la cámara pulpar con solución fisiológica abundante para eliminar todo el hipoclorito.

6.- Se introdujo una primera lima (k-flexofile, maillefer de 25 mm) estéril con la que se estableció la longitud de trabajo, utilizando localizador de foramen apical (J. Morita USA, Inc.: Root ZX II). Todo el material recolectado con esa lima (sangre, pus, detritus o tejido) fue llevado a un tubo eppendorf con PBS, en donde se enjuagó (sacudió la lima dentro del líquido para que soltara todo el material) la lima para ser nuevamente colocada dentro del conducto repitiendo todo el procedimiento por lo menos 3 veces.

7.- Una vez hecho esto se comenzó la irrigación con solución fisiológica dentro de los conductos, se secó la cámara pulpar con una torunda o con el eyector y se colocó una punta de papel estéril (Hygienic., Coltene #20, 25 ó 30) a la misma longitud a la que se metió la lima (LT), esa punta de papel se dejó durante 30 segundos en el conducto (para que absorbiera el suero fisiológico “contaminado” y posteriormente se sacó y colocó en un tubo eppendorf distinto al anterior con PBS, esto se repitió también 3 ocasiones (3 puntas quedaron al final en un solo tubo).

8.- Los tubos bien cerrados y marcados se sometieron a congelación. Una vez realizado esto, se siguió con todo el protocolo del tratamiento endodóntico.

OBSERVACIONES

- Las puntas de papel con las que se tomaron las muestras fueron esterilizadas en autoclave y preparadas previamente en paquetillos de papel que tenían solo 3 o 4 puntas por paquetito, pues se trató de tener un control extremo para la no contaminación.
- En cada paciente se obtuvieron al final 2 tubos, uno con el material obtenido con las limas y otro con el obtenido con las puntas de papel.
- Las puntas de papel se dejaron dentro de los tubos permanentemente, mientras que las limas solo se enjuagaron (sacudieron) dentro del líquido pero sin dejar adentro la lima.
- Las muestras contuvieron sangre, pulpa, pus, restos de dentina, y todo aquello con la primer lima que se llevó hasta por lo menos 1 mm de la LT.
- Los tubos fueron marcados con la misma clave del expediente del paciente.

- En los casos en donde existió una fistula, se tomó un tubo extra a los dos normales con muestra de pus o sangre. Para esto, antes de realizar el aislamiento absoluto, pero después de anestésiar, se limpió con una torunda de algodón la zona de la fistula, para posteriormente introducir lo más profundo posible en la fístula una punta de papel que fue introducida después en el tubo eppendorf extra, esto se repitió con 3 puntas en el mismo tubo.

7.4.2. PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

9.- Aislamiento de ADN.

Se realizó el aislamiento de ADN de las 47 muestras con la siguiente técnica: Cada muestra se concentró en un pellet centrifugado a 13,000 rpm durante 10 minutos, este pellet se lavó 3 veces con PBS. Se lisó la pared bacteriana utilizando mutanolisina a 50°C durante una hora. Se precipitaron las proteínas agregando acetato de amonio y centrifugando a 13,000 rpm durante 10 minutos. Se purificó el ADN empleando fenol-cloroformo-alcohol isoamilico. Se lavó el ADN con etanol al 70%, se secó y rehidrató en agua destilada estéril. Se cuantificó la concentración de ADN utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop 2000). Aquellas muestras en donde al menos se concentraron 50 ng/ul se almacenaron a -80 °C hasta su utilización.



10.- Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).

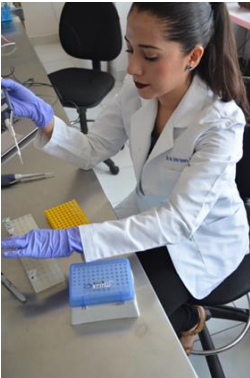
Se les realizó PCR utilizando primers específicos en reacciones de 25 ul, la reacción se realizó colocando 13.3ul de agua bidestilada estéril, 2.5 ul de solución

Buffer, 1.2ul de Mg, 0.5ul de dNTP's, 0.75ul de cada uno de los oligonucleótidos, 1ul de Taq y 5ul del ADN previamente aislado.

La Tabla 1 muestra el oligonucleótido utilizado para la detección de *C. albicans*.

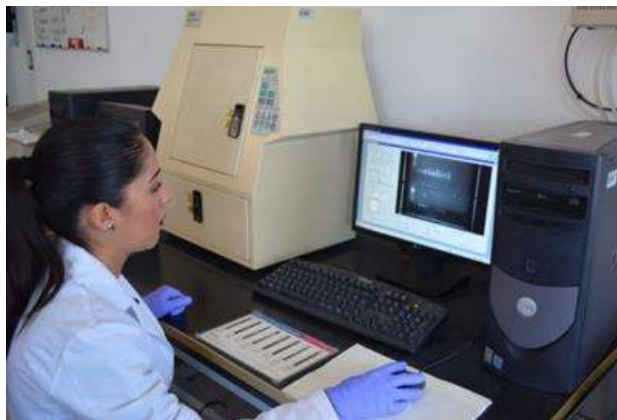
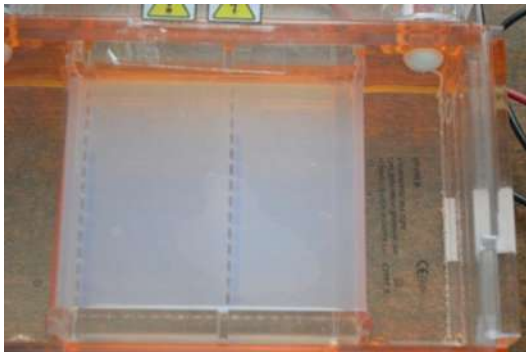
Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la detección de *C. albicans* y sus características.

Secuencia 5' - 3'	Temperatura de alineamiento	Tamaño (pb)	Referencia
GCCGGTGACGACGCTCCAAGAGCTG CCGTGTTCAATTGGGTATCTCAAGGTC	95°C	158	(Dumani, 2012)



11.- Proceso de Electroforesis.

El producto de este PCR se cargó en geles de agarosa al 2% y se sometió a electroforesis. Se tiñó el gel con bromuro de etidio y se observó en una foto documentador UV. Se identificó y documentó la presencia o ausencia de barras en el gel.



7.4.3. DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Lesión periapical:	Infección de los tejidos que circundan la porción apical de la raíz del órgano dental. Se observa radiográficamente como una lesión radiolúcida.	Se evaluara mediante una radiografía preoperatoria	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente
<i>C. albicans</i>	Comensal fúngico que habitualmente se encuentra en boca, sistema digestivo, piel y genitales de individuos sanos, ocasionalmente se ha identificado en infecciones intrarradiculares primarias, y con mayor frecuencia en conductos	Se analizará a través de PCR	Cualitativa		Presente Ausente

	con fracaso endodóntico.				
Diabetes Mellitus tipo II	También denominada Diabetes Mellitus no insulino dependiente, el cual es un trastorno metabólico que supone un 95% de todos los casos. Se caracteriza por hiperglucemia causada por un defecto en la secreción de insulina.	Se medirán los niveles de glucosa a través de glucómetro	Cualitativa	Nominal	Diagnóstico positivo Diagnóstico Negativo
Salud sistémica	Estado de completo bienestar físico y mental y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades.	Se determinará a través de la historia clínica médica	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente

8 RESULTADOS

En la Tabla 2, se muestran las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio divididos en dos grupos (sanos y diabéticos). Debido a que la edad, peso y talla así como la distribución por género en ambos grupos fueron similares, no existieron diferencias estadísticamente significativas, lo que hace la comparación entre grupos viable. Respecto al IMC, este se mostró diferente con significancia estadística, siendo mayor en el grupo de sujetos diabéticos.

Tabla 2. Características clínicas de los sujetos de estudio.

Grupo	Grupo de sujetos sanos (n=26)	Grupo de sujetos diabéticos (n=21)	Valor de p
	<i>X ± D.E. (Rango)</i>		
Edad	44.12 ± 10.54 (22 - 68)	46.76 ± 8.88 (34 - 69)	0.3915
Peso	72.33 ± 14.94 (50 - 118)	78.52 ± 11.41 (57 - 100)	0.1322
Talla	1.65 ± 0.074 (1.52 - 1.80)	1.61 ± 0.07 (1.49 - 1.74)	0.0657
IMC	26.23 ± 4.11 (20 - 36.4)	30.10 ± 3.97 (23.4 - 37.4)	0.0021*
	<i>Frecuencia (%)</i>		
Femeninos	19 (73.08)	16 (76.19)	1.000
Masculinos	7 (26.92)	5 (23.81)	

X: media de población, D.E.: desviación estándar. Prueba *t* de student, Prueba exacta de Fisher.

En la Tabla 3, se muestran las características clínicas de las piezas incluidas considerando el tipo de órgano dental, la presencia de caries, restauración y lesión apical. Se observa que en ambos grupos existieron porcentajes similares de todas las variables por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar ninguna de las variables. Ambos grupos también son homogéneos en estas variables.

Tabla 3. Características de los órganos dentales incluidos.

Grupo	Grupo sujetos sanos (n=26)	Grupo sujetos diabéticos (n=21)	Valor de p
<i>Frecuencia (%)</i>			
Órganos dentales incluidos[§]			
Incisivos	5 (19.23)	5 (23.81)	
Premolares	6 (23.08)	7 (33.33)	0.5895
Molares	15 (57.69)	9 (42.86)	
Caries [£]	20 (76.92)	15 (71.42)	0.7438
Restauración [£]	19 (73.08)	15 (71.42)	0.0592
Lesión apical [£]	8 (30.77)	8 (38.10)	0.7583

[§] Prueba X², [£] Prueba exacta de Fisher.

En la Tabla 4, se muestra la distribución y frecuencia de *C. albicans* en relación al grupo de sujetos sanos y diabéticos, existiendo mayor frecuencia, más del doble, en el grupo de pacientes diabéticos, sin embargo no se encontró diferencia significativa al realizar en análisis estadístico.

Tabla 4. Distribución y frecuencia de *C. albicans* en los grupos.

Grupo	Grupo sujetos sanos (n=26)	Grupo sujetos diabéticos (n=21)	Valor de p
<i>Frecuencia (%)</i>			
Presencia de <i>C. albicans</i>	4 (15.38)	7(33.33)	0.1807

Prueba exacta de Fisher

En la Tabla 5, se muestran las características clínicas solamente de los pacientes diabéticos, tomando en cuenta edad, peso, talla, IMC, glucosa y género, divididos en dos grupos de acuerdo a la presencia o no de *C. albicans*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las variables, sin embargo, nótese que en el grupo de pacientes que presentaron *C. albicans*, se presentaron los valores más altos de glucosa aunque sin significancia estadística.

Por otra parte, en la misma tabla se aprecia una importante diferencia (estadísticamente significativa) en relación al tiempo de diagnóstico, siendo los pacientes con más años de haber sido diagnosticados los que presentaron *C. albicans*.

Tabla 5. Características clínicas del grupo de sujetos diabéticos divididos por presencia de *C. albicans*.

Grupo	Grupo con <i>C. albicans</i> positiva (n=7)	Grupo con <i>C. albicans</i> negativa (n=14)	Valor de p
	<i>X ± D.E. (Rango)</i>		
Edad	48 ± 9.33 (38 - 67)	46 ± 9.27 (34 - 69)	0.6470
Peso	79 ± 14.69 (57 - 100)	78.29 ± 10.51 (67 - 97)	0.8989
Talla	1.62 ± 0.073 (1.52 - 1.72)	1.61 ± 0.072 (1.49 - 1.74)	0.9165
IMC	30.10 ± 4.32 (23.6 - 37.9)	30.18 ± 4.129 (23.6 - 35.2)	0.9688
Glucosa	179.86 ± 58.05 (118 - 270)	151.43 ± 80.78 (69 - 380)	0.4395
Tiempo de Diagnóstico	16.29 ± 2.91 (12 - 21)	7.50 ± 3.81 (3 - 16)	<0.0001*
	Frecuencia (%)		
Masculino	1 (14.2)	4 (28.5)	
Femenino	6 (85.7)	10 (71.4)	0.6244
Presunto Buen Control Glucémico	3 (42.86)	12 (85.71)	0.1196

X: media de población, D.E.: desviación estándar. Prueba t de student, Prueba exacta de Fisher

En la Tabla 6, se muestran características de acuerdo al tipo de órgano dental y presencia o no de lesión periapical de los pacientes diabéticos divididos en dos grupos según su presencia o no de *C. albicans*. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar la distribución de los órganos dentales, en ambos grupos fue muy similar.

Respecto a la presencia de lesión periapical en cada uno de los grupos, existió una mayor cantidad de piezas dentales con lesión en el grupo con *C. albicans* positiva, al menos tres veces más, sin embargo el análisis estadístico se quedó al borde de la significancia.

Tabla 6. Características de los órganos dentales del grupo de diabéticos divididos por presencia de *C. albicans*.

<i>Grupo</i>	<i>Grupo con C. albicans positiva (n=7)</i>	<i>Grupo con C. albicans negativa (n=14)</i>	<i>Valor p</i>
<i>Frecuencia (%)</i>			
§Órganos dentales Incluidos			
Insicivos	1 (14.29)	3 (21.43)	
Premolares	4 (57.14)	3 (21.43)	0.2579
Molares	2 (28.57)	8 (57.14)	
£ Con lesión			
Con lesión	5 (71.43)	3 (21.43)	
Sin lesión	2 (28.57)	11 (78.57)	0.0555*

§ Prueba X², £ Prueba exacta de Fisher

A continuación, en la Figura 1 se muestra una imagen representativa de un gel de electroforesis obtenida con un fotodocumentador ultravioleta.



Figura 1 Confirmación de *C. albicans* en diversas muestras por electroforesis.

A continuación, en la Figura 2 se muestra una imagen representativa de un gel de electroforesis obtenida con un fotodocumentador ultravioleta.

Muestras confirmatorias de ausencia de *C. albicans* en diversas muestras.



Figura 2 Ausencia de *C. albicans* en diversas muestras por electroforesis.

8.1 ANALISIS ESTADÍSTICO

Los resultados cualitativos fueron expresados como frecuencias y proporciones, los resultados cuantitativos como media, desviación estándar y rango.

Para determinar la distribución de las variables se aplicó la prueba t de student y para comparar las proporciones se utilizó la prueba exacta de Fisher.

La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$

9 DISCUSIÓN

En este estudio, se empleó PCR para investigar la prevalencia de *C. albicans* en conductos radiculares necróticos de pacientes sistémicamente sanos y de pacientes con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo II, la selección de los sujetos y órganos dentales se determinó de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

Los sujetos de estudio fueron atendidos por primera vez en la clínica del posgrado de endodoncia correspondiente a la facultad de odontología de la Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo.

El grupo de estudio y control consistieron en adultos cuya edad media osciló entre 44 y 46 años respecto a los dos grupos. Se observó que en ambos grupos el género femenino fue más frecuente; sin embargo no existió diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos. Hasta el momento no existen estudios que reporten al género como factor de riesgo para el desarrollo de infecciones por *C. albicans* en conductos radiculares de pacientes diabéticos.

Tampoco hubo diferencia en la edad y talla de ambos grupos. Sin embargo, se sabe que la edad adulta y el género son factores que predisponen el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo II (98).

Conforme a los datos proporcionados por la Federación Internacional de Diabetes en el 2013, la Diabetes Mellitus tipo II representa de un 85 a un 95 % del total de personas que padecen diabetes en todo el mundo, es decir 382 millones, sin contar el 46% (175 millones) de personas que no han sido diagnosticados con Diabetes Mellitus tipo II. De las cuales se refiere que el mayor número de personas corresponde a adultos con un rango de 40 y 59 años de edad, lo cual coincide en gran parte con el rango de edad de los pacientes diabéticos incluidos en este estudio, cuyo rango osciló entre 34 y 69 años de edad (99).

En cuanto al porcentaje de hombres y mujeres, se observa que en cada grupo es muy similar, así mismo se aprecia que el género femenino es el sector de población que con mayor frecuencia recibe tratamiento endodóntico, quizás debido a la presencia de factores de riesgo biológicos, a causa de cambios hormonales,

los cuales afectan la energía del metabolismo de grasas y glucosa, consecuentemente el IMC, a causa de malos hábitos de nutrición y sedentarismo, sin mencionar la situación socioeconómica, educación y apoyo social con el que cuentan (98). No obstante, la Federación Internacional de Diabetes ratifica que existe mayor número de hombres afectados por Diabetes Mellitus, es decir, 198 millones de hombres frente a 184 millones de mujeres (99).

Referente al peso, se pueden observar cifras ligeramente altas en el grupo de pacientes diabéticos, debido a que esta condición está estrechamente relacionada con la obesidad, aunque no existen diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo de pacientes sistémicamente sanos (100).

En relación a la media del IMC, los datos del grupo de sujetos diabéticos presentan valores más altos, en relación al grupo de sujetos sanos (30.10 vs 26.23), siendo estos diferentes estadísticamente, sin embargo, ambas cifras representan un riesgo de salud, ya que valores de $IMC > 25-29.99 \text{ kg / m}^2$ son considerados sobrepeso, y cifras de $IMC \geq 30 \text{ kg/ m}^2$ obesidad, por lo que el grupo de pacientes sanos está íntimamente asociado al desarrollo de Diabetes Mellitus tipo II (101).

El sobrepeso, también es considerado un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes, debido a que por cada incremento de 1 kilogramo de peso hay un riesgo aproximado del 9% para el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo II (102).

Por otro lado, los adultos obesos, con respecto a los de peso normal, tienen una prevalencia 3 veces mayor de desarrollar Diabetes Mellitus tipo II. Los adultos obesos mórbidos (obesidad clase 3, $IMC > 40 \text{ kg / m}^2$), en comparación con los adultos de peso normal, bastante peor, ya que tienen hasta 7 veces mayor prevalencia de padecer Diabetes Mellitus tipo II (103,104).

En este sentido, la OMS reportó en el 2012, que globalmente uno de cada seis adultos es obeso y de los 2 mil millones de adultos que tienen sobrepeso u obesidad, casi 2.8 millones de personas mueren cada año debido a esta causa, lo cual constituye la amenaza sanitaria mundial más grave de nuestros tiempos, ya

que la obesidad se asocia con otros trastornos metabólicos, como hipertensión, dislipidemia, osteoartritis, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares (enfermedad coronaria, inflamación, trombosis) e incluso trastornos hormonales, teniendo la obesidad la tasa más alta de mortalidad y morbilidad en comparación con las personas que no la padecen (105) .

Por otro lado, el número de órganos dentales es muy similar en cada grupo, al igual que las características de los órganos incluidos, por lo que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

Respecto a la presencia de *C. albicans* en conductos radiculares necróticos, se observó que existe mayor frecuencia en el grupo de pacientes diabéticos, en comparación con el grupo de pacientes sistémicamente sanos, aunque no se mostraron diferencias estadísticamente significativas, lo cual podría atribuirse a la gran afinidad que existe entre *C. albicans* y la glucosa, ya que al aumentarse la concentración de glucosa en sangre, se incrementa la expresión de proteínas en la matriz citoplasmática y la membrana del hongo, generándose mayor adhesión, filamentación y virulencia del hongo (63,64).

En busca de variables que se pudieran asociar a la presencia de *C. albicans* en los pacientes diabéticos, se dividió el grupo de pacientes diabéticos en dos subgrupos, los que presentaron *C. albicans* y los que no (Tabla 5). Se puede observar que la edad, género, peso, talla e IMC, son similares en ambos grupos, sin obtenerse diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado, en el grupo con *C. albicans* positiva, se presentaron de forma interesante los valores más altos de glucosa, aunque también sin diferencia estadísticamente significativa.

La única variable que se encontró estadísticamente distinta en ambos grupos fue el tiempo de diagnóstico de la diabetes. Los pacientes con menos años de haber sido diagnosticados con diabetes mellitus (en promedio 7.5 años) fueron los que no presentaron *C. albicans*, mientras que pacientes que han vivido más años con diabetes (en promedio 16.2 años) fueron los que dieron positivo a la presencia de *C. albicans*, esto podría deberse a la exposición crónica de concentraciones

elevadas de glucosa y ácidos grasos libres en el plasma, lo que afecta progresivamente la función de las células de todo el organismo de pacientes diabéticos, ocasionado por glucotoxicidad y lipotoxicidad, desencadenando estrés oxidativo crónico, apoptosis y posteriormente la fácil colonización y desarrollo de microorganismos (106).

De igual forma aunque sin diferencia estadísticamente significativa, los pacientes diabéticos que presentaron mayor “desequilibrio glucémico” fueron los que presentaron con mayor frecuencia *C. albicans*, lo que puede deberse a la disminución de la función de los monocitos y macrófagos, facilitando el desarrollo de infecciones y consecuentemente las infecciones dificultan el control de hiperglicemia, aumentándose la secreción de hormonas reguladoras con mayor gluconeogénesis e inhibiendo la secreción de insulina(107).

Aunque sin significancia estadística, se aprecia menor frecuencia de *C. albicans* en el grupo de incisivos, seguido del grupo de molares y mayor frecuencia en el grupo de premolares, estudios previos, asocian la presencia de *C. albicans* en los conductos radiculares ocasionalmente con las infecciones endodónticas primarias (108,109), sin embargo, estos microorganismos han sido encontrados con mayor frecuencia en tratamientos asociados al fracaso endodóntico (21,23,24,110) ya que a través de estudios en cultivos se ha identificado a *C. albicans* de un 3 a un 18% en muestras tomadas de conductos radiculares tratados endodónticamente asociados a lesiones perirradiculares (111–113).

Una de las causas de esta persistencia es debido a la resistencia que ejerce *C. albicans* hacia el hidróxido de calcio (uno de los medicamentos intraconducto más utilizados a nivel mundial) y por la habilidad que posee para colonizar la dentina al invadir los tubulillos dentinarios (80,114), sin embargo, los pacientes diabéticos de larga evolución y bajo control glucémico poseen alta probabilidad de desarrollar con mayor frecuencia *C. albicans*, por lo que se requerirá llevar a cabo un exhaustivo protocolo de limpieza que garantice la desinfección del conducto radicular a través del manejo de diferentes irrigantes intraconducto, con la posible administración de antimicóticos orales o quizás con el desarrollo y uso de nuevas

alternativas terapéuticas que erradiquen al hongo y garanticen éxito del tratamiento endodóntico.

Por otro lado, en la misma tabla los datos indican que en el grupo de diabéticos que presentaron *C. albicans*, existe mayor frecuencia de lesiones apicales, más del 70% de estos pacientes las tienen, una posible explicación a esto podría ser que estos pacientes presentan más *C. albicans* y esta está implicada en la formación frecuente de lesiones periapicales. Pues como cualquier otro patógeno, *C. albicans* es capaz de desencadenar una respuesta inflamatoria e inmunológica que se verá exacerbada con la condición sistémica del paciente, lo que favorecerá la colonización polimicrobiana, ocasionando necrosis pulpar y posteriormente destrucción de estructuras ósea, lo que originará la lesión apical (90).

CONCLUSIONES

El sobrepeso y la obesidad, son los principales factores etiológicos para el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo II, en esta investigación, ambos grupos presentaron como media, cifras de IMC mayores a 25 kg / m², por lo que la población de estudio demanda atención, ya que corre alto riesgo de salud. Por otro lado, el tiempo de diagnóstico y el control de la diabetes, son otras de las variables clínicas íntimamente relacionadas con el desarrollo de *C. albicans*, debido a que los pacientes que han cursado con más años de Diabetes Mellitus (en promedio 16.2 años) y con un bajo control glucémico fueron los casos que desarrollaron con mayor frecuencia *C. albicans* en conductos radiculares necróticos.

Respecto a la prevalencia de *C. albicans* en conductos radiculares necróticos de pacientes diabéticos, asociado a la presencia de lesión apical, se obtuvo un porcentaje de 71.43 %, por lo que existe una significativa relación entre ambas variables.

En general, la investigación debe beneficiar indiscriminadamente, sin embargo, cada paciente posee factores biológicos individuales, por lo que en endodoncia, los tratamientos deberán ser personalizados, tomando en cuenta las diferentes condiciones de salud que posean, e incluso considerando aspectos generales, como el género y la edad, ya que pueden ser factores que pudieran determinar la virulencia o patogenicidad de ciertos microorganismo en determinados casos.

RECOMENDACIONES

Con este estudio, se sugiere llevar a cabo un exhaustivo protocolo de limpieza que garantice la desinfección del conducto radicular en pacientes que presenten Diabetes Mellitus tipo II con larga evolución de la enfermedad, así como en aquellos que presenten bajo control glucémico, ya sea a través del manejo de diferentes irrigantes intraconducto, con la posible administración de antimicóticos orales o quizás con el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, como son los medicamentos intraconducto a base de antimicóticos o la adición de partículas con acción anti fúngica en materiales de obturación como son los conos de gutapercha y selladores endodónticos que aseguren la completa erradicación de este hongo, de modo que se consiga éxito del tratamiento endodóntico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chapple ILC, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;40(SUPPL. 14):106–12.
2. Vernillo AT. Diabetes mellitus: Relevance to dental treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91(3):263–70.
3. Santos Tunes R, Foss-Freitas MC, Nogueira-Filho G da R. Impact of periodontitis on the diabetes-related inflammatory status. *J Can Dent Assoc [Internet]*. 2010;76:a35.
4. Bender I, Bender A. Diabetes Mellitus and the Dental Pulp. *J Endod [Internet]*. 2003 Jun;29(6):383–9.
5. Bamford C V, d'Mello A, Nobbs AH, Dutton LC, Vickerman MM, Jenkinson HF. *Streptococcus gordonii* modulates *Candida albicans* biofilm formation through intergeneric communication. *Infect Immun [Internet]*. American Society for Microbiology; 2009 Sep;77(9):3696–704.
6. Soysa NS, Samaranayake LP, Ellepola ANB. Diabetes mellitus as a contributory factor in oral candidosis. *Diabet Med [Internet]*. Blackwell Publishing Ltd; 2006 May;23(5):455–9.
7. Dorocka-Bobkowska B, Budtz-Jørgensen E, Włoch S. Non-insulin-dependent diabetes mellitus as a risk factor for denture stomatitis. *J Oral Pathol Med [Internet]*. 1996 Sep;25(8):411–5.
8. Hill L V, Tan MH, Pereira LH, Embil JA. Association of oral candidiasis with diabetic control. *J Clin Pathol [Internet]*. 1989 May;42(5):502–5.
9. Siqueirajr J, Rocas I, Lopes H, Magalhaes F, Deuzeda M. Elimination of *Candida albicans* Infection of the Radicular Dentin by Intracanal Medications. *J Endod [Internet]*. 2003 Aug;29(8):501–4.
10. Love RM. Invasion of dentinal tubules by root canal bacteria. *Endod Top*

[Internet]. 2004;9(1):52–65.

11. Kaiwar A, Mehta D. Biofilm In Endodontics : New Understanding To An Old Problem. 2010;44–52.
12. Takahashi K. Microbiological, pathological, inflammatory, immunological and molecular biological aspects of periradicular disease. *Int Endod J*. 1998;31(5):311–25.
13. Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. *Aust Dent J [Internet]*. 2007 Mar;52(1 Suppl):S38-51.
14. Tronstad L. Recent development in endodontic research. *Scand J Dent Res [Internet]*. 1992 Feb;100(1):52–9.
15. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol [Internet]*. 1960 Mar;1:304–20.
16. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. the effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol [Internet]*. 1965 Sep;20:340–9.
17. Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res [Internet]*. 1981 Dec;89(6):475–84.
18. Nakamura M. Bacteriological studies of acute tonsillitis. *J Otolaryngol Japan*. 1970;73(7).
19. Weiger R, Manncke B, Werner H, Löst C. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. *Endod Dent Traumatol [Internet]*. 1995 Feb;11(1):15–9.
20. Siqueira JF. Endodontic infections: Concepts, paradigms, and perspectives.

Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology [Internet]. 2002 Sep;94(3):281–93.

21. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* [Internet]. 1998 Jan;31(1):1–7.
22. Waltimo TM, Sirén EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997;30(2):96–101.
23. Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: A long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* [Internet]. 1990 Dec;16(12):580–8.
24. Sundqvist G, Figdor D, Endo D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. 1998;85(1).
25. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 1992 Oct;7(5):257–62.
26. Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol Rev* [Internet]. 1989 Jun;53(2):210–30.
27. Mekalanos JJ. Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *J Bacteriol* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 1992 Jan;174(1):1–7.
28. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Top* [Internet]. Munksgaard International Publishers; 2003 Nov 1;6(1):3–28.
29. Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Möller AJ. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* [Internet]. 1982 Apr;90(2):134–44.

30. Graunaite I, Lodiene G, Maciulskiene V. Pathogenesis of apical periodontitis: a literature review. J oral Maxillofac Res [Internet]. Journal of Oral & Maxillofacial Research; 2012 Jan 1;2(4):e1.
31. Sundqvist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol [Internet]. 1994 Oct;78(4):522–30.
32. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. J Endod [Internet]. 1992 Sep;18(9):427–30.
33. Haapasalo M. Bacteroides spp. in dental root canal infections. Dent Traumatol [Internet]. 1989 Feb;5(1):1–10.
34. Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. Clinical significance of dental root canal microflora. J Dent [Internet].24(1–2):47–55.
35. Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae K-S, Xia T. Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. J Endod [Internet]. 1999 Jun;25(6):413–5.
36. Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can bail. Int Endod J [Internet]. 2001;34(1):1–10.
37. Seneviratne CJ, Jin L, Samaranayake LP. Biofilm lifestyle of Candida: A mini review. Oral Dis. 2008;14(7):582–90.
38. Hall RA, Gow NAR. Mannosylation in candida albicans: Role in cell wall function and immune recognition. Mol Microbiol. 2013;90(6):1147–61.
39. Nair PNR. on the Causes of Persistent Apical Periodontitis-a Review With Color Picture.Pdf. 2006;249–81.
40. Sevilla M-J, Odds FC. Development of Candida albicans Hyphae in Different Growth Media-Variations in Growth Rates, Cell Dimensions and Timing of Morphogenetic Events. Microbiology [Internet]. 1986 Nov 1 [cited 2017 Aug 6];132(11):3083–8.

41. Gow Nar, Gooday Gw. Growth Kinetics and Morphology of Colonies of the Filamentous Form of *Candida albicans*. *Microbiology* [Internet]. 1982 Sep 1;128(9):2187–94.
42. Segura-Egea JJ, Castellanos-Cosano L, Machuca G, López-López J, Martín-González J, Velasco-Ortega E, et al. Diabetes mellitus, periapical inflammation and endodontic treatment outcome. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(2):356–61.
43. Wang YD, Wang L, Li DJ, Wang WJ. Dehydroepiandrosterone inhibited the bone resorption through the upregulation of OPG/RANKL. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2006;3(1):41–5.
44. Garber SE, Shabahang S, Escher AP, Torabinejad M. The Effect of Hyperglycemia on Pulpal Healing in Rats. *J Endod* [Internet]. 2009 Jan;35(1):60–2.
45. Graves DT, Al-Mashat H, Liu R. Evidence that diabetes mellitus aggravates periodontal diseases and modifies the response to an oral pathogen in animal models. *Compend Contin Educ Dent* [Internet]. 2004 Jul;25(7 Suppl 1):38–45.
46. Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod* [Internet]. 2005 Dec;31(12):863–6.
47. Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of Growth Conditions on Susceptibility of Five Microbial Species to Alkaline Stress.
48. Mühlischlegel FA, Fonzi WA. PHR2 of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene PHR1 with an inverted pattern of pH-dependent expression. *Mol Cell Biol* [Internet]. 1997 Oct;17(10):5960–7.
49. Biswas SK, Chaffin WL. Anaerobic Growth of *Candida albicans* Does Not Support Biofilm Formation Under Similar Conditions Used for Aerobic

- Biofilm. *Curr Microbiol* [Internet]. Springer-Verlag; 2005 Aug 27;51(2):100–4.
50. Ben-Aryeh H, Serouya R, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complications* [Internet].7(1):57–62.
 51. Willis AM, Coulter WA, Fulton CR, Hayes JR, Bell PM, Lamey PJ. Oral candidal carriage and infection in insulin-treated diabetic patients. *Diabet Med* [Internet]. 1999 Aug;16(8):675–9.
 52. Louria DB, Fallon N, Browne HG. The influence of cortisone on experimental fungus infections in mice. *J Clin Invest* [Internet]. American Society for Clinical Investigation; 1960 Sep;39(9):1435–49.
 53. Meunier-Carpentier F, Kiehn TE, Armstrong D. Fungemia in the immunocompromised host. Changing patterns, antigenemia, high mortality. *Am J Med* [Internet]. 1981 Sep;71(3):363–70.
 54. Leroy O, Gangneux J-P, Montravers P, Mira J-P, Gouin F, Sollet J-P, et al. Epidemiology, management, and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005–2006). *Crit Care Med* [Internet]. 2009 May;37(5):1612–8.
 55. Klevay MJ, Ernst EJ, Hollanbaugh JL, Miller JG, Pfaller MA, Diekema DJ. Therapy and outcome of *Candida glabrata* versus *Candida albicans* bloodstream infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2008 Mar;60(3):273–7.
 56. Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 2005 Apr;43(4):1829–35.
 57. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host:

- experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* [Internet]. 1992 Mar;14 Suppl 1:S43-53.
58. Pla J, Gil C, Monteoliva L, Navarro-García F, Sánchez M, Nombela C. Understanding *Candida albicans* at the molecular level. *Yeast*. 1996;12(16):1677–702.
 59. Al-Fattani MA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *J Med Microbiol* [Internet]. 2006 Aug 1;55(8):999–1008.
 60. Hogan DA, Kolter R. *Pseudomonas-Candida* Interactions: An Ecological Role for Virulence Factors. *Science* (80-) [Internet]. 2002 Jun 21;296(5576):2229–32.
 61. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Effect of oral bacteria on growth and survival of *Candida albicans* biofilms. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2006;672–80.
 62. Hostetter MK. Handicaps to Host Defense: Effects of Hyperglycemia on C3 and *Candida albicans*. *Diabetes* [Internet]. 1990 Mar 1;39(3):271–5.
 63. Hostetter MK, Lorenz JS, Preus L, Kendrick KE. The iC3b Receptor on *Candida albicans*: Subcellular Localization and Modulation of Receptor Expression by Glucose. *J Infect Dis* [Internet]. 1990 Apr 1;161(4):761–8.
 64. Brown V, Sexton JA, Johnston M. A Glucose Sensor in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* [Internet]. 2006 Oct 1;5(10):1726–37.
 65. Hostetter MK. Perspectives in Diabetes Handicaps to Host Defense. 1990;39(March):271–5.
 66. Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol* [Internet]. 2004 Jul;12(7):317–24.
 67. Bendel CM, Hess DJ, Garni RM, Henry-Stanley M, Wells CL. Comparative

- virulence of *Candida albicans* yeast and filamentous forms in orally and intravenously inoculated mice. *Crit Care Med* [Internet]. 2003 Feb;31(2):501–7.
68. Hudson DA, Sciascia QL, Sanders RJ, Norris GE, Edwards PJB, Sullivan PA, et al. Identification of the dialysable serum inducer of germ-tube formation in *Candida albicans*. *Microbiology* [Internet]. 2004 Sep 1;150(9):3041–9.
 69. Fan J, Chaturvedi V, Shen S-H. Identification and Phylogenetic Analysis of a Glucose Transporter Gene Family from the Human Pathogenic Yeast *Candida albicans*. *J Mol Evol* [Internet]. 2002 Sep 1;55(3):336–46.
 70. Dumitru R, Hornby JM, Nickerson KW. Defined anaerobic growth medium for studying *Candida albicans* basic biology and resistance to eight antifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 2004 Jul;48(7):2350–4.
 71. Ozcan S, Dover J, Johnston M. Glucose sensing and signaling by two glucose receptors in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* [Internet]. European Molecular Biology Organization; 1998 May 1;17(9):2566–73.
 72. Wieczorke R, Krampe S, Weierstall T, Freidel K, Hollenberg CP, Boles E. Concurrent knock-out of at least 20 transporter genes is required to block uptake of hexoses in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* [Internet]. 1999 Dec 31;464(3):123–8.
 73. Johnston M, Flick JS, Pexton T. Multiple mechanisms provide rapid and stringent glucose repression of GAL gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* [Internet]. American Society for Microbiology (ASM); 1994 Jun;14(6):3834–41.
 74. Jensen FB. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. *Acta Physiol Scand* [Internet].

2004 Nov;182(3):215–27.

75. Lan C-Y, Newport G, Murillo LA, Jones T, Scherer S, Davis RW, et al. Metabolic specialization associated with phenotypic switching in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2002 Nov 12;99(23):14907–12.
76. Sabina J, Brown V. Glucose Sensing Network in *Candida albicans*: a Sweet Spot for Fungal Morphogenesis. *Eukaryot Cell* [Internet]. 2009 Sep 1;8(9):1314–20.
77. Gonzalez M, de Groot PWJ, Klis FM, Lipke PN. Glycoconjugate structure and function in fungal cell walls. In: *Microbial Glycobiology* [Internet]. Elsevier; 2010. p. 169–83.
78. Nather K, Munro CA. Generating cell surface diversity in *Candida albicans* and other fungal pathogens. *FEMS Microbiol Lett* [Internet]. 2008 Aug;285(2):137–45.
79. Ning Y, Hu X, Ling J, Du Y, Liu J, Liu H, et al. *Candida albicans* survival and biofilm formation under starvation conditions. *Int Endod J*. 2013;46(1):62–70.
80. Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP, Elias CN, de Uzeda M. Fungal infection of the radicular dentin. *J Endod*. 2002;28(11):770–3.
81. Sexton JA, Brown V, Johnston M. Regulation of sugar transport and metabolism by the *Candida albicans* Rgt1 transcriptional repressor. *Yeast* [Internet]. 2007 Oct;24(10):847–60.
82. Haapasalo M, Udnæs T, Endal U. Persistent , recurrent , and acquired infection of the root canal system post-treatment. *Endod Top*. 2003;29–56.
83. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* [Internet]. 2000;26(12):695–8.
84. Klis FM, Sosinska GJ, De Groot PWJ, Brul S. Covalently linked cell wall proteins of *Candida albicans* and their role in fitness and virulence. *FEMS*

Yeast Res. 2009;9(7):1013–28.

85. Cintra LTA, Da Silva Facundo AC, Prieto AKC, Sumida DH, Narciso LG, Mogami Bomfim SR, et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod*. 2014;40(8):1139–44.
86. Castellanos-Cosano L, Martín-González J, Calvo-Monroy C, López-Frías FJ, Sánchez-Domínguez B, Llamas-Carreras JM, et al. Asociación entre la diabetes mellitus y las infecciones crónicas orales de origen endodóncico. *Av Odontoestomatol*. 2011;27(5):259–66.
87. Leite MF, De Lima A, Massuyama MM, Otton R. In vivo astaxanthin treatment partially prevents antioxidant alterations in dental pulp from alloxan-induced diabetic rats. *Int Endod J*. 2010;43(11):959–67.
88. Marotta PS, Fontes T V., Armada L, Lima KC, Rôças IN, Siqueira JF. Type 2 diabetes mellitus and the prevalence of apical periodontitis and endodontic treatment in an adult brazilian population. *J Endod*. 2012;38(3):297–300.
89. Segura-Egea JJ, Jimenez-Pinzon a, Rios-Santos J V, Velasco-Ortega E, Cisneros-Cabello R, Poyato-Ferrera M. High prevalence of apical periodontitis amongst type 2 diabetic patients. *Int Endod J* [Internet]. 2005;38(8):564–9.
90. Lima SMF, Grisi DC, Kogawa EM, Franco OL, Peixoto VC, Gonçalves-Júnior JF, et al. Diabetes mellitus and inflammatory pulpal and periapical disease: A review. *Int Endod J*. 2013;46(8):700–9.
91. Egan MW, Spratt DA, Ng YL, Lam JM, Moles DR, Gulabivala K. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J*. 2002;35(4):321–9.
92. Fisher BM, Lamey PJ, Samaranayake LP, MacFarlane TW, Frier BM. Carriage of *Candida* species in the oral cavity in diabetic patients: relationship to glycaemic control. *J Oral Pathol* [Internet]. 1987

May;16(5):282–4.

93. Manfredi M, McCullough MJ, Al-Karaawi ZM, Hurel SJ, Porter SR. The isolation, identification and molecular analysis of *Candida* spp. isolated from the oral cavities of patients with diabetes mellitus. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 2002 Jun;17(3):181–5.
94. Aly FZ, Blackwell CC, Mackenzie DA, Weir DM, Clarke BF. Factors influencing oral carriage of yeasts among individuals with diabetes mellitus. *Epidemiol Infect* [Internet]. Cambridge University Press; 1992 Dec;109(3):507–18.
95. Guggenheimer J, Moore P a, Rossie K, Myers D, Mongelluzzo MB, Block HM, et al. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies: II. Prevalence and characteristics of *Candida* and Candidal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000;89(5):570–6.
96. Cintra LTA, Samuel RO, Facundo ACS, Prieto AKC, Sumida DH, Bomfim SRM, et al. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *Int Endod J*. 2014;47(3):228–37.
97. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, et al. PCR-Based Identification of Bacteria Associated with Endodontic Infections PCR-Based Identification of Bacteria Associated with Endodontic Infections. 2002;40(9):3223–31.
98. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278–316.
99. IDF. *IDF DIABETES ATLAS (Sixth Edition)*. 2013.
100. Astrup A, Finer N. Redefining Type 2 diabetes: “Diabesity” or “Obesity

Dependent Diabetes Mellitus”? *Obes Rev* [Internet]. 2000 Oct;1(2):57–9.

101. OMS. Factors Influencing the development of overweight and obesity [Internet]. *Obesity preventing and managing the global epidemic*. 1997. p. 114–8.
102. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Nelson DE, Engelgau MM, Vinicor F, et al. Diabetes trends in the U.S.: 1990-1998. *Diabetes Care* [Internet]. 2000 Sep;23(9):1278–83.
103. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* [Internet]. 2003 Jan 1;289(1):76–9.
104. Field AE, Coakley EH, Must A, Spadano JL, Laird N, Dietz WH, et al. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Arch Intern Med* [Internet]. 2001;161(13):1581–6.
105. Dholakiya D, Alodaria N, Vyas K, Shah D, Gupta SN. Multi modal treatment approach in management of Sthaulya (Obesity). *J Ayurveda Integr Med Sci* [Internet]. 2017;2(4).
106. Cornell S. Continual evolution of type 2 diabetes: an update on pathophysiology and emerging treatment options. *Ther Clin Risk Manag* [Internet]. Dove Press; 2015;11:621–32.
107. Cristea SA, Catrinoiu D, Craciun LR. Late Controlled Type 2 Diabetes Mellitus with Severe Acute Systemic Infection. *ARS Medica Tomitana* [Internet]. 2017 Jan 24;23(2).
108. Siqueira JF, R????as IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;93(2):174–8.
109. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Endod Dent Traumatol* [Internet].

1995 Feb;11(1):6–9.

110. Hancock HH, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2001 May;91(5):579–86.
111. Siqueira JF, R??as IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):85–94.
112. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* [Internet]. 2001 Sep;34(6):429–34.
113. Cheung GSP, Ho MWM. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 2001 Dec;16(6):332–7.
114. Waltimo TMT. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J* [Internet]. 1999 Mar;32(2):94.

APÉNDICE A. ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

PROGRAMA DE TRABAJO. FEBRERO DE 2016 A OCTUBRE DE 2017.

Febrero-Abril 2016	Definición del tema del anteproyecto, búsqueda de información en las bases de datos, selección de la información. Se comienza la escritura del anteproyecto.
Mayo – Junio 2016	Escritura del protocolo y revisiones del protocolo
Julio 2016	Revisiones del protocolo y correcciones de protocolo.
Julio 2016 - Julio 2017	Toma de muestras en pacientes
Agosto 2016 - Febrero 2017	Redacción de la tesis.
Julio 2017	Procesamiento de muestras
Julio - Octubre 2017	Análisis de los resultados. Terminar la redacción de la tesis. Comenzar proceso de titulación.

GLOSARIO:

C. albicans: Comensal fúngico que habitualmente se encuentra en boca, sistema digestivo, piel y genitales de individuos sanos, ocasionalmente se ha identificado en infecciones intrarradiculares primarias, y con mayor frecuencia en conductos con fracaso endodóntico.

Necrosis pulpar: Es la muerte de la pulpa, la cual puede ser total o parcial dependiendo el grado de afectación pulpar. Es una secuela de la inflamación, puede también ocurrir por traumatismos, donde la pulpa es destruida antes de que se desarrolle una reacción inflamatoria. Como resultado se produce un infarto isquémico y necrosis.

Lesión periapical: Infección de los tejidos que circundan la porción apical de la raíz del órgano dental. Radiográficamente se observa como una lesión radiolúcida.

Diabetes mellitus tipo II: También denominada diabetes mellitus no insulino dependiente, el cual es un trastorno metabólico que supone un 95% de todos los casos. Se caracteriza por hiperglucemia causada por un defecto en la secreción de insulina.

Salud sistémica: estado de completo bienestar físico y mental y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades.



CONSIDERACIONES ÉTICAS

Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo

Facultad de odontología CUEPI

Consentimiento informado para participar en proyecto de:

“C. albicans en conductos radiculares necróticos de pacientes con Diabetes Mellitus tipo II”

Con fundamento en lo dispuesto en la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud Artículo 100 fracción IV, Artículo 102 y 103 NOM-168-SSA1-1998 del expediente clínico en su numeral 4.2,

Por medio de la presente, se invita a usted a participar en este proyecto de investigación en el área odontológica. Antes de decir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad de cuestionar cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que usted decida participar, se le pedirá que firme esta carta donde da su consentimiento.

OBJETIVO: Identificar si los pacientes con Diabetes Mellitus presentan con mayor frecuencia infecciones dentales por *C. albicans*, comparado con pacientes sin diabetes mellitus, esto ayudará a diseñar tratamientos más específicos que den mejores pronósticos.

PROCEDIMIENTO: se le realizaran todos los procedimientos de rutina para la atención endodóntica que usted está solicitando en esta institución. El procedimiento extra a eso consiste en que se tomará una muestra de su pieza dentaria durante el mismo procedimiento endodóntico.

ACLARACIONES: el procedimiento endodóntico de toma de muestra no le afectará en ninguna forma y totalmente indoloro, usted no realizará ningún gasto producto de esta muestra, ni tampoco recibirá un pago por su participación. La información obtenida de este estudio es completamente confidencial.

Si considera que no hay dudas y desea participar, sírvase a firmar en la parte inferior de este documento.

Yo _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en la investigación pueden ser publicados con fines científicos sin comprometer mi identidad y manejados de forma CONFIDENCIAL. Por consiguiente y en pleno uso de mis facultades autorizo para que durante mi tratamiento odontológico, el médico tratante realice los procedimientos necesarios para la toma de muestra.

Firma del paciente

fecha