



Asociación entre la periodontitis crónica y la respuesta inmunológica TH2

Angelina C Vega-Navarro,* José F Zambrano-Zaragoza,§ Olga Arciniega Ruiz de Esparza,§ Ethel A García-Latorre,§ Salvador Arroniz-Padilla,^{||} Luis A Jiménez-Zamudio§

RESUMEN

La enfermedad periodontal afecta una gran parte de la población mundial. Dicha enfermedad es resultado de la interacción del hospedero con los microorganismos de la biopelícula, por lo cual, el tipo de respuesta inmunológica que prevalezca determinará el grado de la enfermedad. Se determinó el balance TH1/TH2 por la determinación inmunohistoquímica de interferón gamma e interleucina-13 en cortes histológicos de biopsias de encía de sujetos diagnosticados clínicamente e histológicamente, encontrando un predominio de la respuesta Th1 en salud, que se va perdiendo, con equilibrio Th1/Th2 en gingivitis y finalmente, un predominio Th2 en la periodontitis.

Palabras clave: Enfermedad periodontal, Th1, Th2.

Key words: Periodontal disease, Th1, Th2.

ABSTRACT

The periodontal disease affects a great part of the world's population. This disease is a result of the interaction of the host with the microorganisms in the biofilm; therefore the type of immunological reaction will determine the grade of the disease. The Th1/Th2 balance, was determined by immunohistochemistry (using interferon gamma and interleukin-13) in histological sections of biopsies of the gum of patients previously diagnosed clinical and histologically. The result was a prevalence of Th1 in health and a balance Th1/Th2 in gingivitis with a trend toward Th2 in periodontitis

INTRODUCCIÓN

Entre los padecimientos más frecuentes del periodo se encuentra la enfermedad periodontal crónica, que consiste en la inflamación que comienza en la encía (gingivitis), la cual al extenderse a las estructuras de soporte del diente se transforma en periodontitis. Desafortunadamente ésta es resultado, en gran medida, de la respuesta del hospedero contra los microorganismos de la biopelícula.^{1,2}

En 1976 Page y Shoeder relacionaron la imagen histopatológica con la patogenia de la enfermedad, dividiéndola en cuatro estadios: lesión inicial, lesión temprana, lesión establecida y lesión avanzada. En la lesión establecida predominan linfocitos T y macrófagos, mientras que en la lesión avanzada se observa un incremento de linfocitos B y células plasmáticas.^{1,3-11}

Por otra parte, Brex et al^{12,13} reportan la presencia de células inflamatorias en la encía sana, principalmente linfocitos T, con pocos linfocitos B y células plasmáticas. Asimismo, se ha publicado que la acumulación de placa provoca el aumento del infiltrado de linfocitos, principalmente células plasmáticas, que persisten aun meses después de haberse controlado la enfermedad.¹⁴

Además, se ha asociado la presencia de linfocitos B con niveles aumentados de IgG en las lesiones periodontales activas.¹⁵⁻¹⁷

Los linfocitos T se clasifican en dos subpoblaciones: los CD4+ o cooperadores y los CD8+ o citotóxicos. A su vez, los CD4+ se subdividen en TH1 y TH2, dependiendo del patrón de citocinas que secretan; así, los TH1 secretan IFN- γ , TNF- β e IL-2, mientras que los TH2 secretan IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Los linfocitos TH1 están asociados con la respuesta celular, y los TH2 con la respuesta humoral.¹⁰

Fujihashi et al, en 1994,¹⁸ aislaron linfocitos T CD4+ gingivales de pacientes con periodontitis crónica y analizaron la expresión de RNAm para diferentes citocinas, y encontraron que siempre se expresan IFN- γ , IL-6 e IL-13, ocasionalmente IL-10 y no se detectó la expresión de IL-2, IL-4 ni IL-5.

* Departamento de Inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Becario PIFI.

§ Departamento de Inmunología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.

^{||} Especialización en Endoperiodontología. FES Iztacala. UNAM.

El objetivo de este trabajo fue determinar la asociación de la respuesta Th1 y Th2 en biopsias de encía de sujetos con salud periodontal, gingivitis y periodontitis.

METODOLOGÍA

Sujetos de estudio

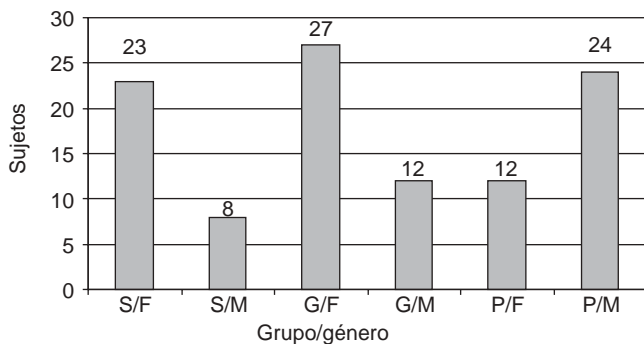
Se incluyeron 108 pacientes con edad entre 20 a 65 años de la UNAM-FES- Iztacala, Clínica Iztacala y del CICS, Unidad Santo Tomás, IPN. A los sujetos que participaron en este estudio se les realizó una evaluación de las condiciones periodontales, para clasificarlos como sanos, gingivitis (leve, moderada o severa) y periodontitis (leve, moderada o severa). El estado sistémico fue determinado por la historia clínica médica y los signos clínicos. Se excluyó a todos aquellos que bajo terapia antiinflamatoria o inmunológica.

Se obtuvieron muestras de los grupos descritos en la (Figura 1).

Conforme a la edad el grupo de sujetos sanos y con gingivitis fue muy similar, promedio para los sanos de 30.16 y en gingivitis de 31.08, en el caso de periodontitis ésta aumentó a 51.51 (Figura 2).

Clasificación de la enfermedad periodontal

Se realizaron periodontogramas, registrando las características clínicas del periodonto, así como profundidad de bolsa (sonda periodontal tipo Michigan), lesión en furca (sonda de Nabers), índice de placa,



En la figura se observa que el número de mujeres sanas (S/F) comprende al triple de los hombres sanos (S/M), mientras que en el grupo de gingivitis de mujeres (G/F) abarca un poco más del doble, en relación al grupo de los hombres (G/M); por último el grupo de periodontitis presenta un cincuenta por ciento menor en el grupo de las mujeres (P/F) comparado con el de los hombres (P/M).

Figura 1. Distribución de los sujetos estudiados por diagnóstico y género.

pérdida de adherencia y se obtuvo la pérdida ósea a través de radiografías periapicales.

Procesamiento de la muestra

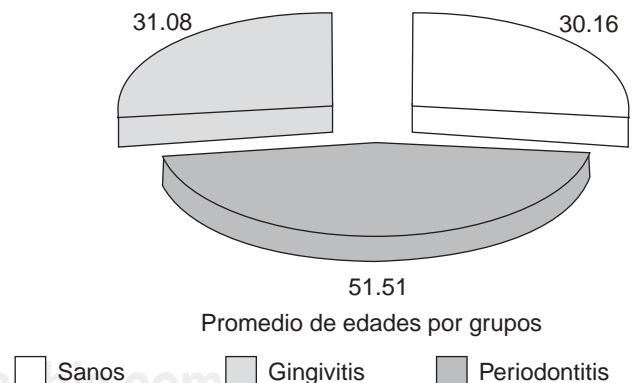
Se anestesió con xilocaína con epinefrina al 2% de forma local para retirar el tejido gingival con la técnica quirúrgica apropiada (gingivectomía, gingivoplastia, cuña distal o mesial, ENAP). El tejido fue fijado en formol amortiguado, en el que permanecieron por un mínimo de 72 horas, para proseguir con la deshidratación e inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes de 5 µm con el micrótopo American Optical rotatorio 820.

Los cortes fueron desparafinados y rehidratados para realizar en cada uno la técnica de hematoxilina-eosina (H-E) y las técnicas de inmunohistoquímica.

Se emplearon anticuerpos primarios anti IL-13 (Anti-human IL-13 monoclonal antibody, clona JES10-5A2, isotipo IgG₁ de rata para inmunohistoquímica de BD Pharmingen) y anti-IFN-gamma (Anti-human IFN-γ monoclonal antibody, clona B27, isotipo IgG₁ de ratón, para inmunohistoquímica de DB Pharmingen). Se revelaron con el anticuerpo secundario correspondiente (anti-rat IgG₁ y anti-mouse IgG₁ de DB Pharmingen). Se empleó estreptavidina-peroxidasa y se reveló con DAB (3'3'-diaminobencidina) y se contrastó con hematoxilina de Harris.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se contabilizaron 10 campos a 100X en cada muestra, una por sujeto para



Se observa un promedio de edad similar en los grupos de sanos y de gingivitis, mientras que la periodontitis aumenta.

Figura 2. Distribución de los sujetos estudiados de acuerdo con el promedio de edad.

cada citocina, y se analizaron las que dieron positiva la reacción, sin importar la intensidad, número de células o área, contra las negativas, empleando la prueba estadística de chi-cuadrada, Kruskal-Wallis o la prueba exacta de Fisher.

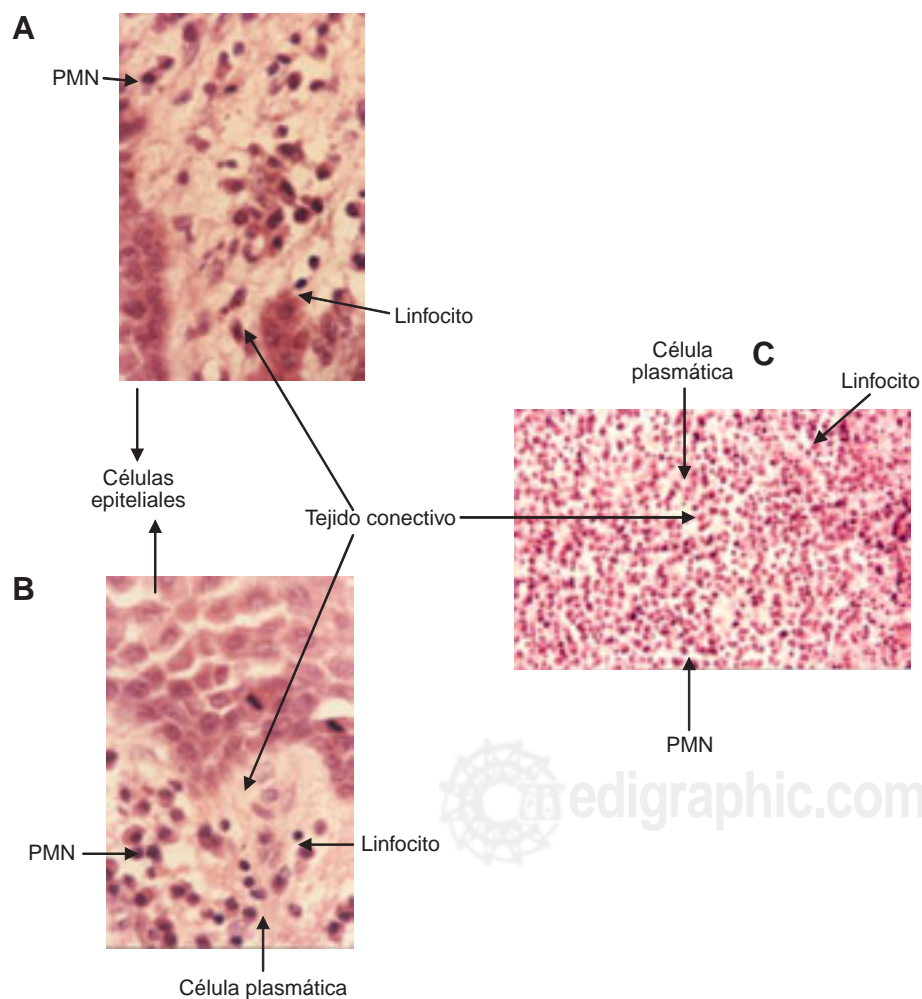
RESULTADOS

El estudio histopatológico demostró la presencia de células inflamatorias, predominantemente linfocitos, en los sujetos sanos, pero se observó un aumento, conforme se incrementó la gravedad de la enfermedad. La cantidad de células inflamatorias varía entre los sujetos de un mismo grupo y aun entre los campos observados de cada muestra (Figura 3).

La prueba de Kruskal-Wallis demostró que no hay diferencia significativa en la positividad a IFN-gamma entre las gingivitis (leve, moderada y severa) ($P = 0.800$) ni entre las periodontitis (leve, moderada y severa) ($P = 0.200$).

Con la chi-cuadrada se determinó la diferencia estadística del IFN-gamma entre los diferentes grupos, obteniéndose entre salud contra gingivitis una $P = 0.031$, entre salud contra periodontitis una $P = 0.001$ y entre gingivitis contra periodontitis una $P = 0.006$. Por la misma prueba estadística se compararon los diferentes subgrupos, obteniendo diferencia sólo entre salud y gingivitis severa ($P = 0.011$) y salud contra periodontitis severa ($P = 0.001$) (Cuadro I).

Los resultados de IL-13 se evaluaron de la misma forma que los de IFN-gamma. No se obtuvo diferencia entre los subgrupos de gingivitis ($P = 0.333$) ni entre los de periodontitis ($P = 0.933$) realizados con la prueba de Kruskal-Wallis. Con chi-cuadrada se compararon los subgrupos con los sanos, mostrando sólo diferencia significativa entre sanos y periodontitis severa ($P = 0.001$), con la misma prueba entre grupos sanos contra gingivitis no muestran diferencia significativa ($P = 0.070$), pero sí entre sanos y periodontitis



Tejido conectivo de encía marginal con diferentes estados periodontales. En A, el tejido de un sujeto clínicamente sano, en el cual se distingue exudado inflamatorio crónico HE, 100X. En B, el corte histológico de encía de un sujeto con gingivitis HE, 100X, se observa mayor cantidad de células inflamatorias. En C, el tejido gingival de un sujeto con periodontitis; se aprecia el abundante exudado en el tejido conectivo. HE, 40X.

Figura 3. Grados de inflamación en diferentes estados periodontales.

($P = 0.001$). Con la prueba exacta de Fisher se determinó la diferencia entre gingivitis y periodontitis ($P = 0.016$).

Se compararon las muestras positivas y negativas para IL-13 contra las de IFN-gamma obteniéndose diferencia significativa en salud ($P = 0.001$), donde se presenta más el IFN-gamma, en gingivitis no se presentó diferencia ($P = 1.0$), y en periodontitis la diferencia se vuelve a presentar pero con un predominio de IL-13 ($P = 0.001$) (Figura 4 y Cuadro II).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demuestran que todas las muestras, aun las diagnosticadas clínica y radiográficamente como sanas, presentan células inflamatorias crónicas. Es igualmente notable la presencia de angiogénesis y varias de las muestras presentan zonas de necrosis.

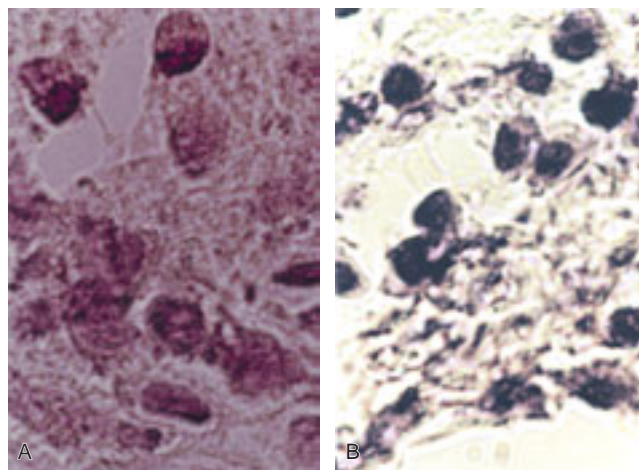
A pesar de la persistente inflamación, los grados de avance de la enfermedad periodontal sí corresponden a la cantidad de células inflamatorias presentes. Cabe destacar que aun las muestras que fueron tomadas de un paciente a un mismo tiempo presentan diferencias tanto clínicas como histológicas. Este hallazgo coincide con lo reportado por varios autores, quienes afirman que la enfermedad periodontal puede variar de un diente a otro o inclusive en el mismo diente encontrar áreas con diferente grado de avance de la enfermedad. Esto lleva sin duda a más interrogantes, ya que es probable que sitios cercanos estén siendo agredidos por los mismos microorganismos periodontopatógenos o sus productos y resultaría difícil pensar que la respuesta inmune del mismo huésped sea eficaz en un área del diente más que en otra.

Los hallazgos histológicos coinciden con los reportados con Page y Shoeder (1974) en cuanto al aumento de células inflamatorias, aunque en nuestro caso no se detectó el estado de salud histológico, no por esto se afirmaría que la encía siempre presenta células inflamatorias. En relación con esto se han realizado di-

ferentes estudios de gingivitis experimental, aun en humanos, donde se ha demostrado que el tejido gingival puede estar ausente de exudado inflamatorio.

Los estudios de inmunohistoquímica demostraron que en la salud periodontal predomina el IFN-gamma, por tanto, predomina una respuesta TH1, a diferencia de la gingivitis, donde no hay una diferencia entre las dos citocinas estudiadas, sin predominio de TH1 o de TH2. Al analizar las periodontitis, especialmente en los estadios severos, se ve el cambio hacia la respuesta donde predomina la TH2, establecida por la presencia de IL-13.

Es importante recordar, que este estudio está enfocado en determinar el microambiente que favorece una respuesta TH1 o TH2 en la gingivitis y periodontitis crónica, así como en estados de salud. Probable-



En la figura A se observa una reacción positiva a la citocina, mientras en la figura B se presenta una reacción negativa.

Figura 4. Reacción positiva y negativa por inmunohistoquímica.

Cuadro I. Muestras positivas y negativas al IFN- γ .

Grupos	Positivas	Negativas
Salud	25	0
Gingivitis	15	4
Periodontitis	7	24

Se observa cómo todas las muestras del grupo de sanos dieron positivos al IFN- γ , al igual que la mayoría de las gingivitis, pero en el caso de periodontitis la mayoría es negativa a esta citocina. Esto indica que el IFN- γ se encuentra en salud y va disminuyendo en gingivitis y aún más en periodontitis.

Cuadro II. Muestras positivas y negativas a la IL-13.

Grupos	Positivas	Negativas
Salud	14	15
Gingivitis	17	4
Periodontitis	42	1

La presencia de IL-13 es muy peculiar ya que se presenta casi en la mitad de las muestras en salud, mientras en la gingivitis la mayor parte de los tejidos son positivos y en la periodontitis sólo una es negativa. Es decir, en la periodontitis predomina la presencia de IL-13. Hay que recalcar que la única muestra negativa a dicha citocina corresponde a la periodontitis leve, en donde se ha iniciado la pérdida de los tejidos de soporte.

mente el prevalecer un tipo de respuesta, permita comprender cómo es que algunos individuos permanecen en salud o en gingivitis sin progresar a periodontitis. Nuestros resultados sugieren que el cambio a una respuesta TH2 determina el establecimiento de la periodontitis crónica, lo que requeriría estudiar las causas que la originan.

Por lo anterior, se concluye que en salud, la respuesta inmunológica tiende a una respuesta TH1, que disminuye en la gingivitis, donde no hay predominio de TH1 o de TH2, mientras en la periodontitis predomina una respuesta TH2.

CONCLUSIONES

En salud periodontal existe en la encía una respuesta Th1, en la cual, al establecerse la gingivitis se modifica, llevando a un cambio hacia una respuesta Th2 por lo que no se presentan diferencias entre Th1/Th2, si la enfermedad avanza a periodontitis la respuesta se modifica prevaleciendo Th2.

El estudio demostró que la modulación de la respuesta inmunológica es importante para el desarrollo de la enfermedad periodontal. De esto surgen otras inquietudes como son el determinar si el cambio de la respuesta Th1 a Th2 es regulado por las propias células del hospedero o son las bacterias, las cuales al penetrar en el tejido modifican el tipo de respuesta.

REFERENCIAS

1. Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 421-426.
2. Korman KS, Page CR, Tonelti SM. (1997) The host response to the microbial challenge in periodontitis. Assembling the players. *Periodontol* 2000; 14: 33-53.
3. Seymour GJ. Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *J Dent Res* 1987; 66: 2-9.
4. Okada H, Shimabukuro Y, Kassai Y, Ito H, Matsuo T, Ebisu S, Harada Y. The function of gingival lymphocytes on the establishment of human periodontitis. *Adv Dent Res* 1998; 2: 364-367.

5. Okada H, Kida T, Yamagami H. Identification and distribution of immunocompetent cells in inflamed gingiva of human chronic periodontitis. *Infect Immun* 1983; 41: 365-374.
6. Taubman MA, Stoufi ED, Ebersole JL, SmithDJ. Phenotypic studies of cell from periodontal disease tissue. *J Periodontol Res* 1984; 19: 587-590.
7. McGhee ML, Ogawa T, Pitts AM. Cellular analysis of functional mononuclear cell from chronically inflamed gingival tissue. *Reg Immun* 1989; 2: 103-110.
8. Genco JR. Current view of riks factor for periodontal diseases. *J Periodontol* 1996; Suppl: 1041-1046.
9. Mackler BF, Frostad KB, Roberson PB, Levy BM. Immunoglobulin-bearing lymphocytes and plasma cell in human periodontal disease. *J Periodont Res* 1977; 12: 37.
10. Yamamoto M, Fujihashi K, Hiroi T, McGhee JR, Van Dyke TE, Kiyono H. Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th1 and Th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. *J Periodontol Res* 1997; 32: 115-119.
11. Murakami S, Shimabuko Y, Saho T, Hino E, Kasai D, Hashikawa T, Hirano H, Okada H. Immunoregulatory roles of adhesive interactions between lymphocytes and gingival fibroblast. *J Periodont Res* 1997; 32: 110-114.
12. Brex MC, Frohilcher I, Gehr P, Lang NP. Stereological observations on long-term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol* 1988 b; 15: 621-627.
13. Brex MC, Lehmann B, Siegwart CM, Gehr P, Lang NP. Observations on the initial stages of healing following human experimental gingivitis. A clinical and morphometric study. *J Clin Periodontol* 1988 a; 15: 123-129.
14. Lindhe J, Liljenberg B, Listgarten M. Some microbiological and histopathological features of periodontal disease in man. *J Periodontol* 1980; 51: 264-269.
15. Reinhardt AR, Bolton RW, McDonald TL, DuBois LM, Kaldahl WB. In situ lymphocyte subpopulations from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 1988; 59: 656-663.
16. Reinhardt AR, McDonald TL, Bolton RW, DuBois LM, Kaldahl BW. IgG subclasses in gingival crevicular fluid from active versus stable periodontal sites. *J Periodontol* 1989; 60: 44-50.
17. Yamazaki K, Nakajima T, Hara K. Immunohistological analysis of cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immun* 1995; 99: 384-391.
18. Fujihashi K, Yamamoto M, McGhee Jr, Kiyono H. Type1/type 2 production by CD4+ T cell in Adult periodontitis. *J Dent Res (IADR Abstracts)* 1994; 73: 818.

Dirección para correspondencia:

Angelina C Vega-Navarro

Hacienda de Santiago Núm. 92

Col. Prados del Rosario, Azcapotzalco,

México, D.F. 02410

Tel 53-19-36-49.

Correo electrónico: linav@terra.com.mx