

Periodontitis crónica del adulto y alteraciones inmunitarias

J. Muñoz Sánchez,⁽¹⁾ J. López López,⁽²⁾ A. Domingo,⁽³⁾ N. Crespo,⁽³⁾ X. Roselló,⁽²⁾ E. Jané⁽⁴⁾

RESUMEN

El hecho de que las alteraciones inmunitarias están implicadas en la enfermedad periodontal está ampliamente recogido en la literatura. No obstante la naturaleza exacta y la implicación de las mismas no está clara.

Por otro lado el empleo de la citometría de flujo ha posibilitado un avance importante en las técnicas de investigación biomédica y en el caso concreto que nos ocupa la posibilidad de determinar diferentes marcadores monoclonales en la línea celular linfocítica.

Estudiamos los marcadores monoclonales (CD4, CD8, CD3 y CD19) en 15 pacientes afectados de enfermedad periodontal avanzada. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites de normalidad.

Si bien no hemos obtenido datos significativos creemos que la muestra es pequeña y sería útil realizar estudios más amplios y a ser posible a nivel local. No obstante pensamos

que lo novedoso es el estudio de anticuerpos monoclonales en relación con la enfermedad periodontal, datos que no hemos encontrado en la literatura.

SUMMARY

It is widely said in writing studies that immunitary alterations are connected with periodontal disease. However, their exact nature and their implications are not so clear.

On the other hand, using flow cytometry has made possible an important advance in biomedical investigation techniques and, in the case we are dealing with, it has made possible to determine different monoclonal markers in the lymphocyte cellular line.

We study monoclonal markers (CD4, CD8, CD3 and CD19) in 15 patients affected with advance periodontitis.

The results we get are within normality ratio.

In conclusion: Although we have not got significant data, we think the sampling is small; it would be useful to do wider studies and, if possible, at a local level. However, we consider an innovation the study of monoclonal antibodies related to periodontal disease, data we have not found in former writing studies.

Introducción

Anticuerpos monoclonales y citometría de flujo

En los últimos años la obtención de un extenso número de anticuerpos monoclonales (AcMc) que detectan antígenos o moléculas en la membrana o citoplasma de células hematopoyéticas ha determinado que investigadores interesados en esta temática se reunieran con la finalidad de establecer unas bases sólidas para la sistematización y caracterización precisa de los AcMc. Desde el año 1982 se han realizado varias reuniones en las que han trabajado científicos, inmunólogos y hematólogos procedentes de un elevado número de laboratorios y unidades de investigación de diferentes partes del mundo. El intercambio de ideas y de reactivos por estos grupos de trabajo y el análisis multiparamétrico de aquellos mediante técnicas serológicas, bioquímicas y funcionales ha permitido establecer una serie de grupos o CLUSTERS DE DIFERENCIACION (CD) de antígenos. Cada CD agrupa un número de AcMc de características similares y/o idénticas, y se halla definido por un número. Es posible que un grupo o CD determinado incluya una serie de AcMc que detectan diferentes epítopos de una molécula, y en con-

⁽¹⁾ Servicio de Hematología del Hospital de Bellvitge, Barcelona. Licenciado en Odontología. Licenciado en Medicina.

⁽²⁾ Unidad de Medicina Oral, Facultad de Odontología, Barcelona. Doctor en Medicina.

⁽³⁾ Servicio de Hematología del Hospital de Bellvitge, Barcelona. Licenciada en Medicina.

⁽⁴⁾ Unidad de Medicina Oral, Facultad de Odontología, Barcelona. Licenciado en Medicina.

secuencia, su reactividad con las células hematopoyéticas así como sus propiedades funcionales o bioquímicas, aunque similares, no sean idénticas (1-6).

Esta estandarización de los AcMc ha sido además, altamente beneficiosa para aquellos inmunólogos, hematólogos o investigadores que utilizan o aplican los AcMc ya sea con una finalidad diagnóstica o investigadora, por cuanto ha facilitado la comprensión, comunicación y diálogo entre ellos (6-8).

Diferenciación linfoide

Por otro lado los linfocitos son células que, frente a una apariencia muy homogénea salvo pequeñas variaciones, tienen funciones muy heterogéneas y diversas, y han sido denominadas «cerebros» de la respuesta inmune. Están capacitados para reconocer lo propio de lo extraño del organismo. Tras la agresión bacteriana generan especificidad en la respuesta ante gérmenes y capacidad de guardar memoria del agente causal agresor. A diferencia de los fagocitos en los que su circulación siempre es de médula ósea a la sangre y de aquí a los tejidos, desde donde nunca regresan, los linfocitos tienen una circulación más compleja, yendo de la médula ósea a la sangre, ganglios linfáticos, bazo y estructuras linfoides extraganglionares.

Existen diferentes clases de linfocitos:

— LINFOCITOS T: representan el 65-80% de la población linfoide circulante. Expresan diversos marcadores que permiten identificarlos, siendo el CD2, el CD3 y el CD7 los más habitualmente utilizados para su identificación. Se subdividen en dos subgrupos detectados por anticuerpos monoclonales específicos para los antígenos CD4 (T4) y CD8 (T8) en la superficie de la membrana, adquiridos desde la fase tímica. Son de gran interés en la práctica clínica, sobre todo en el síndrome de inmunodefici-

encia adquirida (SIDA). Las células CD4 *helper* (auxiliadoras o colaboradoras) predominan en la sangre periférica y las CD8 (supresoras/citotóxicas) tienen preferencia de situación en la médula ósea.

— LINFOCITOS B: comprenden el 5-15% de los linfocitos circulantes. Se definen por poseer inmunoglobulinas producidas endógenamente en la superficie de membrana. Se identifican con anticuerpos monoclonales CD19, CD20 y CD22. El estadio final de la secuencia evolutiva de los linfocitos B está representado por el plasmocito que segrega inmunoglobulinas al plasma.

— CELULAS NK (*NATURAL KILLER*): tienen morfología de linfocitos grandes y granulares. Esta población contiene la mayoría de células asesinas, las cuales pueden destruir células diana recubiertas de anticuerpos IgA y pueden lisar o matar células tumorales, células infectadas por virus

y están implicadas en el rechazo de injertos.

En lo referente a su papel en la respuesta inmunitaria, tanto los linfocitos T como los B, se activan cuando se unen a un antígeno específico. A partir de entonces el linfocito «virgen», en reposo, prolifera y madura hasta conseguir una célula de memoria que facilite posteriormente una respuesta más precoz tras nueva estimulación por el mismo antígeno, y una célula efectora funcional y muy diferenciada. La respuesta a la primera estimulación constituye la respuesta primaria y la expansión clonal posterior tras nueva estimulación es la respuesta secundaria. Las células de la memoria en su recirculación constituyen células vigilantes capaces de defender al organismo frente a nuevas agresiones de un microorganismo dado (9-12).

En la Tabla 1 (13) podemos encontrar, como ejemplo, una relación de

Tabla 1 - Antígenos de diferenciación de la línea de diferenciación linfoide B (Leukemia Research, 7: 788, 1983 (13)).

Antígeno definido por el grupo de diferenciación (CD)	Anticuerpos monoclonales del grupo	Peso molecular Kd.	Poblaciones celulares que lo expresan
CD10	J5	100	Precursores B y células del centro germinal
CD19	B4	95	Pan B específico
CD24	B-A1, B-C2	45	Pan B positivo en gránulos
CD20	B1, B-C1	35	Pan B específico célula preB
CD21	B2	140	B específico receptor C3d
CD22	HD6	135	B específico de expresión limitada
CD23	Blast-2	45	Antígeno de activación, presente en cel. B activadas

los datos actuales sobre los antígenos de diferenciación relativos a la línea de diferenciación linfocítica B.

Nótese que muchos de ellos son específicos de células B, mientras que otros, como el CD24, además de con las células B, reaccionan también con granulocitos. Algunos, como el CD10 se expresan en los estadios más inmaduros, pero pueden reaparecer en la membrana de las células B del centro germinal por causas que se desconocen (existen otros ejemplos de fenómenos de este tipo y a los antígenos que los presentan se les denomina antígenos «saltarines»), y otros como el CD (T10) están presentes en los estadios más inmaduros, tanto de las células T como de las B, y además reaparecen en la membrana de las células B cuando se diferencian de células plasmáticas. También se desconoce el significado fisiológico del hecho de que un antígeno propio de las células T como el CD5 se exprese también en una pequeña proporción de células B cuya contrapartida neoplásica corresponde a la leucemia linfática crónica de células B (LLC-B). Estas mismas células B expresan receptores para los eritrocitos de ratón siendo ambos marcadores de gran utilidad para el diagnóstico fenotípico de la LLC. El fenómeno de que un antígeno propio de un linaje celular se exprese en determinados estadios o subpoblaciones de otro, como ocurre con el CD5, no es insólito y se denomina «infidelidad o promiscuidad de linaje» (14), una expresión atractiva que esconde un cierto recelo sobre la capacidad utilitaria de determinados marcadores, y que no hace más que encubrir la ignorancia que tenemos de su significado biológico. Los antígenos que aparecen *ex novo* en la membrana de las células una vez se activan y proliferan reciben el nombre genérico de «antígenos de activación».

Enfermedad periodontal y capacidad inmunitaria

Las reacciones inmunes están implicadas en la patogénesis de la enfermedad periodontal. Reacciones inmunológicas se evidencian en la encía periodontalmente enferma, comprobándose al comparar pacientes sanos frente a pacientes con enfermedad periodontal (15). Estas reacciones inmunológicas producen destrucción del tejido conectivo y óseo. Las reacciones producidas por anticuerpos mediante un mecanismo de hipersensibilidad no parecen ser las más frecuentes, en general se producen elementos o sustancias proinflamatorias y destructoras de tejidos por medio de citoquinas, antígenos específicos o respuestas policlonales ante constituyentes bacterianos o sus productos. Una deficiencia inmunitaria puede permitir la progresión a enfermedad periodontal severa (15).

Esta capacidad inmunológica puede verse modificada por diferentes causas, así por ejemplo, la presencia de metales en los fluidos orales produce alteraciones en los niveles de inmunoglobulinas: los niveles de IgA disminuyen durante un año al colocar prótesis que contengan acero y titanio, sin embargo los niveles de IgG se mantienen normales (16).

También se ha valorado la función fagocítica en el desarrollo de la enfermedad periodontal, ya que supone una primera barrera en la penetración de las bacterias en los tejidos periodontales.

Los mecanismos inmunológicos que intervienen en el desarrollo de la enfermedad periodontal son complejos, el sistema celular B, linfocitos T, etc. Hay una serie de factores individuales que influyen en el proceso: factores genéticos, infecciones virales, stress físico y mental que producen anergia en el sistema inmunitario celular T. Estudios recientes han demostrado reducción en la producción de IgA en atletas de élite durante

las pruebas de alta competición (17).

La valoración de la inmunidad en periodontitis crónica en fase de exacerbación se ha realizado, entre otros, por Maksimovskii *et al.* en 1991, no encontrando alteraciones a nivel sistémico salvo una reducción de linfocitos T totales; los cambios a nivel gingival fueron importantes con alteraciones de la inmunidad celular y humoral local (18).

Se han relacionado enfermedades sistémicas que cursan con enfermedad periodontal, tales como la hipofosfatasa congénita, la artritis reumatoide o la diabetes; en todas ellas se demostró disminución o depresión inmunitaria a nivel de defensa inespecífica (fagocítica) y específica (sistema B y T) y disminución de la actividad NK. En los pacientes diabéticos se añade una disminución del PH salival y del flujo salival que contribuyen al aumento de infecciones y desarrollo de la enfermedad (19-21).

Por otra parte, un estudio reciente ha valorado la enfermedad periodontal en relación a los niveles de 21 elementos químicos y se constató a nivel salival que en la enfermedad periodontal grave aumentan los niveles de nitrógeno de 2.3 a 6.6 veces, escandio, manganeso y cromo de 6.8 a 8.8 veces, hierro, cobalto, cobre, selenio, bromo, plata y mercurio de 1.6 a 1.9 veces, los niveles de Zn bajos aumentan la severidad de la enfermedad un 62% (22).

Estudio experimental

Todo lo expuesto nos motivó a plantear un estudio experimental para determinar posibles variaciones en cuanto a los anticuerpos monoclonales en relación a la enfermedad periodontal.

Objetivos

Valorar marcadores fenotípicos linfocitarios en pacientes con enfermedad periodontal crónica. Los marcadores monoclonales valorados corresponden a toda la línea linfocítica

madura: CD4, CD8, CD3 y CD19. De igual manera pretendemos comparar los datos obtenidos con otros estudios al respecto.

Material y métodos

Se estudió una población de 50 pacientes que acudieron a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Barcelona y que cumplían criterios de periodontitis crónica del adulto. De éstos, se eligió una subpoblación de 15 pacientes que presentaba periodontitis crónica en grado avanzado y que además no presentaban ningún antecedente patológico de interés grave. La gravedad de la enfermedad periodontal se valoró en función del índice CPTIN, con un valor de igual a 4 en al menos un cuadrante. Los pacientes fueron informados del estudio para solicitar el consentimiento y la extracción analítica se efectuó en el Hospital de Bellvitge. En la Tabla 2 podemos ver los datos de la muestra.

Para la valoración periodontal se utiliza el índice de necesidad de tratamiento periodontal (CPTIN). Se emplea una sonda periodontal especialmente diseñada para ello (sonda de la OMS), con las siguientes características (23):

- Punta esférica de 0,5 mm de diámetro, para facilitar la detección de cálculo subgingival y reducir el riesgo de obtener una profundidad de sondaje excesiva.

- Zona codificada de color negro que va desde los 3,5 a los 5,5 mm.

- Dos líneas más de referencia a los 8,5 y a los 11,5 mm.

El empleo de la sonda permite detectar los siguientes parámetros, con la consiguiente clasificación (24-25):

0. — Tejidos periodontales sanos.
1. — Sangrado al sondar correctamente.

2. — Cálculo supra o subgingival o restauraciones desbordantes.

3. — Bolsas patológicas de 4 o 5 mm.

4. — Profundidad al sondar igual o

Tabla 2 - Resumen de la población estudiada

	Subgrupo (n=15)	Población global (n=50)
Edad (desviación standar)	45,46 ± 6,2	52,46 ± 7,2
Sexo (hombre:mujer)	10-5	35-15
Higiene oral correcta	Índice de placa <30% 5	Índice de placa <30% 18
Higiene oral deficiente	Índice de placa >30% 10	Índice de placa >30% 22
Movilidad dental tipo I	15	21
Movilidad dental tipo II	7	12

Tabla 3 - Relación de los datos obtenidos para los quince pacientes que cumplían los criterios de periodontitis establecidos

CASO Nº	LEUCOS x 10 ⁹ /L	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD4/CD8 ratio	CD19 %
1	6.8	66	46	33	1.3	13
2	7.6	78	56	32	1.7	8
3	5.0	81	55	30	1.8	11
4	7.4	76	54	24	2.2	16
5	5.2	67	35	47	0.7	9
6	5.0	79	17	8	2.1	17
7	6.4	85	52	34	1.5	7
8	5.8	82	33	53	0.6	11
9	6.1	92	50	33	1.5	10
10	8.5	64	46	27	1.7	22
11	7.0	75	48	27	1.7	18
12	5.3	82	52	35	1.4	13
13	6.2	87	43	28	1.5	11
14	8.3	75	36	29	1.2	14
15	6.6	66	43	21	2.1	18

mayor de 6 mm.

Para el estudio de los marcadores monoclonales se utilizó el FACSCAN de Beckton Dickinson® San José

(California). Los marcadores monoclonales determinados fueron: CD4, CD8, CD3, CD19 de Beckton®. Los criterios de normalidad adoptados

fueron los de la casa comercial Beckton®, que son los siguientes:

- CD3: 73% (60-85)
- CD4: 44% (29-59)
- CD8: 33% (19-48)
- Ratio CD4/CD8: 1.4 (0.6-2.8)
- CD19: 14% (7-23)

Resultados

De los cincuenta pacientes estudiados, tan sólo 15 cumplían los criterios de periodontitis crónica determinados previamente, un cuadrante como mínimo con valor de 4 o más.

En la Tabla 3 podemos apreciar los datos obtenidos para esos quince pacientes en cada uno de los anticuerpos testados así como el número total de leucocitos.

Discusión

En lo referente al número total de leucocitos o al particular de linfocitos en los pacientes estudiados no hemos observado ninguna diferencia significativa, al contrario de lo publicado por Maksimovskii (18).

Si analizamos cada anticuerpo monoclonal por separado, no encontramos datos claramente significativos, en dos casos el CD3 está por encima del 85%, uno de ellos con cuatro sextantes de 4 según el CPTIN. En un caso el CD4 y CD8 estaban por debajo del rango inferior pero mantenían el cociente CD4/CD8 en 2:1, el paciente presentaba afectación de 4 en dos sextantes.

Conclusiones

En todos los trabajos revisados no se ha valorado la proporción de linfocitos presentes en los pacientes con enfermedad periodontal crónica del adulto. El único trabajo en que se valora parcialmente este punto es el trabajo de Maksimovskii (18), en el que observa una disminución relativa de los linfocitos T totales en sangre periférica. El resto de trabajos no inciden en la inmunidad celular

específica (15, 17). Todos ellos inciden en la capacidad fagocítica e inmunitaria a nivel local.

Así pues creemos que el aspecto novedoso de este trabajo se puede plasmar en las siguientes conclusiones:

— Valoración de Ac monoclonales en enfermedad periodontal crónica del adulto.

— El número de Linfocitos T, B, T4 y T8 se encuentra dentro de los rangos de la normalidad.

— El ratio T4/T8 se mantiene normal, a diferencia de otras patologías en las que acompaña la enfermedad periodontal (infección por HIV), con una virulencia a nivel periodontal elevada.

Bibliografía

1. REYES, LEJONC J.L., GOURDIN M.F., MANNONI P., DREYFUS B.: The surface morphology of human B-lymphocytes as revealed by immunoelectron microscopy. *Journal of Experimental Medicine* 1975; 141: 392-410.
2. ANDREEF M. (ed.): *Clinical Cytometry*. Ann NY Acad Sci 1986; 468.
3. BARLOGIE B., RAHER M.N., SCHUMAN J.: *Flow Cytometry in clinical cancer research*. *Cancer Res* 1983; 43: 3982.
4. COON J.S., LANDAY A.L., WEINSTEIN R.S.: *Advances in flow cytometry for diagnostic pathology*. *Lab Invest* 1987; 57: 453-479.
5. GRAY J. (ed.): *Flow Cytogenetics*. Academic Press, London, 1989.
6. MELAMED M.R., LINDMO T., MENDELSON M.L.: *Flow Cytometry and Sorting*. Wiley-Liss, New York, 1990.
7. YEN A. (ed.): *Flow Cytometry Advanced Research and Clinical Applications*. CRC Pres INC, Boca Raton, Florida, 1989.
8. TERSTAPEN L., LOKEN M.R.: *Five-dimensional flow cytometry as a new approach for blood and bone marrow differentials*. *Cytometry* 1988; 9: 548-556.
9. BABIOR B.M., STOSSEL T.P.: *Hematology. A Pathophysiological Approach*. Churchill Livingstone, Edimburg, 1990.
10. SCHIER L.: The role cell membrane and its abnormalities, Hoffbrand Av. *Recent advances in Haematology*. Churchill Livingstone, Edimburg, 1982, 69-93.
11. BERNARD J.: *Le sang et l'histoire*, Editions Butchet/Chastel, Paris, 1983.
12. WINTROBE M.M.: *Milestone on the path of progress*, en Wintrobe M.M. *Blood pure and eloquent*, McGraw-Hill, New York, 1980, 1-31.
13. MATUTES E., ROBINSON D., O'Brien M., HAYNES B.F., ZOLA H., CATOVSKY D.: *Candidate counterparts of Sezary cells and adult T-cell lymphoma-leukaemia cells in normal peripheral blood: an ultrastructural study with the immunogold method and monoclonal antibodies*. *Leukemia Research* 1983; 7: 787-794.
14. MATUTES E., CATOVSKY D.: *The fine structure of normal lymphocyte subpopulations- a study with monoclonal antibodies and the immunogold technique*. *Clinical and Experimental Immunology* 1982; 40: 416-425.
15. RANNEY R.R.: *Immunologic mechanisms of pathogenesis in periodontal disease: an assessment*. *J Periodontal Res* 1991; 26: 243-54.
16. KALINICHENKO T.P., VOLOZHIN A.I., GERVAZIEVA V.B., OVSIANNIKOVA I.G.: *Changes in the local immunity indices of the oral cavity in periodontitis patients in relation to the type of metal alloys used for fixed dental prosthesis*. *Stomatologija Mosk* 1991; 6: 39-41.
17. SEYMOUR G.J.: *Importance of the host response in the periodontium*. *J Clin Periodontol* 1991; 18(6): 421-6.
18. MAKSIMOVSKII IuM., ROBUSTOVA T.G., CHUKAEVA N.A., PONIAKINA I.D.: *The assessment of the immune status patients with acute and exacerbated chronic periodontitis*. *Stomatologija Mosk* 1991; 2: 26-9.
19. WATANABE H., UMEDA M., SEKI T., ISHIKAWA I.: *Clinical and Laboratory Studies of severe periodontal disease associated with adolescent with hypophosphatasia. A case report*. *J Periodontol* 1993; 64: 174-180.
20. YAVUZYILMAZ E., YAMALIK N., CALGUNER M., ERSOY F., BAYKARA M., YENIAY I.: *Clinical and immunological characteristics of patients with rheumatoid arthritis and periodontal disease*. *J Nihon Univ Sch Dent* 1992; 34 (2): 89-95.

-
21. GENSINI G.F., MODESTI P.A., LOP-PONI A., COLLELA A., COSTAGLI G., MONINI M.: Diabetic disease and periodontal disease. *Diabetes and periodontopathy*. *Minerva Stomatolo* 1992; 41 (9): 391-9.
22. ZAICHK V.E., BAGIROV ShT.: The chemical element content of mixed unstimulated saliva in periodontal disease. *Stomatologija Mosk* 1994; 73 (1): 8-11.
23. OMS: *Epidemiología, Etiología y Prevención de las Periodontopatías* (Informe Grupo Científico). Serie de Información Técnica 621. Ginebra, 1984, 7-39.
24. JAN LINDHE: *Periodontología Clínica*. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires, 1986.
25. ASGER FRANDBSEN: *Public Health Aspects of Periodontal Disease*. Quintessence Publishing Co. Chicago, London, Berlin, Rio de Janeiro and Tokyo, 1984.
-

Correspondencia:

Dr. J. López López
C/ Cartagena, 187, 6º, 3ª
08013 BARCELONA
Tel.: (93) 245 13 80
Fax: (93) 385 93 46