

Mediadores bioquímicos involucrados en la fisiopatología y diagnóstico de la enfermedad periodontal

Biochemical mediators involved in the pathophysiology and diagnosis of periodontal disease*

Facundo Ledesma¹

Miguel Jorge Acuña²

Fernando Ramiro Cuzziol³

Rolando Pablo Juárez⁴

ABSTRACT

The development of Periodontal disease (PD) involved enzymes derived from both the host and the microorganisms present in dental plaque. This review addressed the role of several mediators in PD and clinical utilities. Alkaline phosphatase, β -glucuronidase, cathepsin B, MMP-8 and MMP-9, elastase and Dipeptidyl peptidase II and IV, are useful in monitoring and treatment planning. Cathepsin B, MMP-8, elastase, the dipeptidyl peptidase II and IV are used to differentiate gingivitis and periodontitis. Bacterial exotoxins of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, indicates the severity of aggressive periodontitis and assist in the prognosis of the case.

KEYWORDS

Inflammatory mediators, periodontitis, markers, enzymes.

RESUMEN

En el desarrollo de la enfermedad periodontal (EP) intervienen enzimas derivadas tanto del huésped como de los microorganismos presentes en la placa dental. La presente revisión abordó el papel que cumplen diversos mediadores de la EP y sus utilidades clínicas. La fosfatasa alcalina, la β -glucuronidasa, la catepsina B, las MMP-8 y MMP-9, la elastasa y las Dipeptidil peptidasas II y IV, son útiles en el monitoreo y la planificación del tratamiento. La catepsina B, la MMP-8, la elastasa, las dipeptidil peptidasas II y IV, son utilizadas para diferenciar la gingivitis y la periodontitis. Las exotoxinas bacterianas del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, indican la severidad de la enfermedad periodontal agresiva y ayudan al pronóstico del caso.

PALABRAS CLAVE

Mediadores inflamatorios, periodontitis, marcadores, enzimas.

¹ Becario de Investigación. Secretaría General de Ciencia y Técnica-UNNE.

² Docente de las Cátedras de Periodoncia y Física - Química Biológica. FOUNNE.

³ Profesor Titular de la Cátedra de Física - Química Biológica. FOUNNE.

⁴ Profesor Titular de la Cátedra de Fisiología Humana. FOUNNE.

INTRODUCCIÓN

La EP abarca una amplia gama de infecciones inflamatorias crónicas que afectan encía y tejidos subyacentes que sostienen los dientes. Es la principal causa de pérdida de dientes en adultos mayores de 35 años, y se ha estimado que hasta el 90% de la población adulta mundial puede tener al menos una forma de la EP (1-3).

La EP es de etiología multifactorial, infección bacteriana, factores anatómicos locales agravantes, susceptibilidad genética, respuesta metabólica y condición sistémica del huésped (4). Implica factores y antígenos derivados de bacterias que estimulan una reacción inflamatoria local y la activación del sistema inmune. Moléculas proinflamatorias y citoquinas juegan un papel esencial en este proceso (5).

En odontología, los mediadores inflamatorios de la respuesta del huésped, fueron propuestos como biomarcadores para diagnóstico y monitoreo del tratamiento de la EP (6), sin embargo, es difícil aplicar un único marcador, pues son variadas las bacterias que se relacionan con la EP y al mismo tiempo la respuesta de los tejidos del huésped varía en correspondencia con sus hábitos, condiciones sistémicas y características genéticas, las cuales también determinan la evolución del tratamiento (7-10). En tal sentido, el objetivo de esta publicación es analizar las probabilidades que tendría el odontólogo de utilizar los mediadores inflamatorios asociados a la EP como biomarcadores.

MARCADORES DERIVADOS DEL HUÉSPED

El organismo produce citosinas en respuesta a la invasión bacteriana como interleuquinas 2, 6, y 1β (IL2, IL6, 1β) e interferón- γ (INF- γ) y proteína C reactiva (CRP). En pacientes con pérdida de inserción y profundidad de bolsa se detectó además, la elevación de IL10, IL12p40, Factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GMCSF), ácido siálico y proteínas inflamatorias macrofágicas (MIP1 α) en el líquido crevicular (11).

En la fase aguda de la respuesta inmune se produce la liberación de IL- 1β , factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e IL-6, induciendo la liberación hepática de proteínas en el plasma como CRP (proteína C reactiva), encargada de la opsonización de bacterias (12,13).

El 8-hidroxi-dioxiguanosina (8^oHdG), es un nucleósido oxidado del ADN, formado como resultado de un exceso de radicales libres, producto del infiltrado de polimorfonucleares (PMN), en respuesta a la agresión de los microorganismos del biofilm. Es un marcador presente en la EP y disminuye con el tratamiento. Permite el monitoreo, la prevención de la periodontitis y la evaluación de la terapéutica establecida (14).

La elastasa es una proteinasa sérica cuya función es la degradación, tanto de componentes microbianos, como los de la matriz extracelular (elastina, fibrinógeno y colágeno). Se almacena en los gránulos azurófilos de los PMN, aunque una pequeña parte es producida por los macrófagos, en forma de MMP-12. Se encuentra elevada en sitios activos con EP, no en gingivitis y disminuye posteriormente con el tratamiento (15,16)

La Colagenasa 2 pertenece al grupo de las metaloproteinasas de la matriz (MMP). Es producida por los neutrófilos, células plasmáticas y células epiteliales del surco. La podemos

encontrar en su forma activa y pasiva (preproenzima y proenzima); se encuentra presente tanto en la EP como en la gingivitis, aumentando en los sitios activos (17).

La calprotectina o MRP8/14 es producida por los macrófagos, células epiteliales, PMN y monocitos activados. Se ha usado como analito en las heces para diagnosticar enfermedades intestinales inflamatorias. Se encuentra en el líquido crevicular de sitios con EP. Después del tratamiento los niveles bajan, permitiendo el monitoreo de la terapia periodontal (18).

La β -glucuronidasa es una enzima lisosómica, cuyo rol principal es catalizar la ruptura de los enlaces glucosílicos de las interfaces intercelulares. Está presente en la EP, con una sensibilidad y especificidad elevadas, pero carece de valor predictivo por asociarse a estadios severos de la enfermedad (19).

La Catepsina B es una cisteína proteasa producida por macrófagos. Se correlaciona positivamente con la EP, pero negativamente con la gingivitis; disminuye una vez instaurado el tratamiento. Posee un gran valor como predictor de la pérdida de inserción, por su alto índice de especificidad y sensibilidad (20).

La Gelatinasa 2 se encuentra dentro de las MMP, siendo sintetizada por los PMN para la degradación de colágeno y sustancia fundamental. Se correlaciona positivamente en los casos de EP con pérdida de inserción recurrente y disminuye al tratar a los pacientes con antibióticos por vía sistémica (21).

Las Dipeptidil peptidasas II y IV son producidas por linfocitos, macrófagos y fibroblastos. Sus funciones son catalizar la degradación de colágeno y activar a otras enzimas, citosinas, y mediadores inflamatorios, regulando la respuesta inmune. Poseen una gran especificidad para los sitios con actividad y valor predictivo para la pérdida de inserción (22).

La IL-1 β , el INF- γ y el TNF- α aumentan en los sitios activos con EP y disminuyen con el tratamiento, pero sus niveles bajan comparativamente en pacientes con periodontitis agresiva (23- 25). La CRP se encuentra elevada en la EP y disminuye una vez realizada la terapia periodontal. Su sensibilidad como método diagnóstico no es conocida por completo (26).

La fosfatasa alcalina es producida principalmente por los polimorfonucleares (PMN), fibroblastos, osteoclastos y osteoblastos. Su función principal es la de hidrolizar enlaces este-res de monofosfato en un pH alcalino, ayudando a la formación de ion superóxido. Participa en el recambio del ligamento periodontal, en la formación y el mantenimiento del cemento radicular y en la homeostasis ósea (27).

Se encuentra presente en la EP, principalmente en sitios activos, en donde la neoformación ósea se encuentra estimulada (28). Resulta útil en la predicción de la pérdida de inserción y se suele usar con otros marcadores para aumentar su sensibilidad (29).

Otras moléculas recientemente estudiadas para el diagnóstico diferencial entre periodontitis crónica y agresiva son: Las α -defensinas, Citoquinasa C, Proteinasa 3. Todas resultan muy prometedoras, aunque se requieren más estudios para determinar su alcance (30).

MARCADORES DERIVADOS DE MICROORGANISMOS

Las especies relacionadas con más frecuencia con la génesis de la EP son *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Prevotella tanneriae*, *Filifactor alocis* y *Porphyromonas endodontalis* (31, 32).

De todas las especies, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), son indicadores de periodontitis severa, debido a su asociación con la progresión de la enfermedad periodontal y bolsas profundas. Con la instauración del tratamiento convencional los niveles disminuyen (33-35).

Un homólogo de la Citotoxina asociada al gen E (CagE) del *Helicobacter pylori*, es producido por el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, tiene como función la inducción de apoptosis de las células endoteliales, epiteliales, osteoblastos y linfocitos T (36, 37).

La leucotoxina A es producida por el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, permite la invasión de los tejidos y del citoplasma de los PMN, produciendo su lisis. Se relaciona con la severidad de la EP en su variedad agresiva (38).

La toxina distensora citoletal (Cdt) es una exotoxina bacteriana producida por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Detiene el crecimiento celular, cambia la morfología e induce apoptosis, destruyendo las adhesiones epiteliales. Afecta principalmente a linfocitos T y macrófagos. Posee tres subunidades: CdtA, CdtB, CdtC. La CdtC se relaciona con la periodontitis agresiva (39).

Las bacterias Gram-negativas poseen en su membrana endotoxinas denominadas lipopolisacáridos (LPS), los cuales ingresan al torrente sanguíneo, y renuevan el ciclo de destrucción inflamatoria (40).

Las gingipainas son proteasas producidas por *Porphyromonas gingivalis* que degradan péptidos ricos en arginina (RgpA y RgpB) y lisina (Kgp). La RgpA y la RgpB inactivan citoquinas y sus receptores, estimulan la agregación plaquetaria, atenúan la actividad antibacteriana de los neutrófilos, incrementan la permeabilidad vascular, la apoptosis de los queratinocitos gingivales y destruyen los macrófagos CD14. La Kgp promueve la adhesión e invasión bacteriana in vitro. La RgpB determina el desarrollo del edema mediante la activación de la vía kalikreína/quinina y la infiltración por neutrófilos mediada por la activación de los factores quimiotácticos del complemento. La Kgp y RgpA promueven el sangrado gingival por la degradación del fibrinógeno/fibrina (41). Su presencia en fluido crevicular se asocia al conteo de *Porphyromonas gingivalis* (42). En pacientes con EP, RgpA y RgpB se asocian al aumento de los neutrófilos en sitios activos y junto con la Kgp, son predictoras de pérdida de inserción (43).

CONCLUSIONES

En la práctica clínica se ha empleado para el diagnóstico de la EP métodos clínicos y radiográficos, sin embargo, recientemente se han estudiado y propuesto métodos inmunológicos y bioquímicos que tiene como objeto de estudio los mediadores químicos de la EP, vitales para monitorear el grado de la enfermedad, para realizar diagnósticos diferenciales y evaluar la evolución del tratamiento implantado.

La fosfatasa alcalina, la β -glucuronidasa, la catepsina B, las MMP-8 y MMP-9, la elastasa y las Dipeptidil peptidasas II y IV, resultan útiles en el monitoreo del caso clínico y la planificación del tratamiento, mientras que en el campo del diagnóstico diferencial entre la gingivitis y la periodontitis la catepsina B, la MMP-8, la elastasa y las Dipeptidil peptidasas II y IV, muestran buenos resultados.

Los niveles de las exotoxinas bacterianas del *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, podrían ser usadas para medir la severidad de la enfermedad periodontal agresiva y realizar un pronóstico del caso.

La enfermedad periodontal afecta un gran porcentaje de la población mundial. Mejorar los métodos para evaluar los tejidos periodontales, predecir tanto la evolución de la enfermedad, como el resultado del tratamiento, producirían un gran impacto social.

REFERENCIAS

1. [LOESCHE WJ](#), [GROSSMAN NS](#). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. *Clin microbiol Rev.* 2001; 14(4):727–752.
2. [DARVEAU RP](#). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8(7):481–490.
3. [PIHLSTROM BL](#), [MICHALOWICZ BS](#), [JOHNSON NW](#). Periodontal diseases. *Lancet.* 2005; 366(9499):1809–1820.
4. [ARCE RM](#). Terapia periodontal del futuro. *Revista Colombia médica.* 2004; 35(3 suppl. 1), 40–47.
5. [COCHRAN DL](#). Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of periodontology.* 2008; 79(8): 1569–1576.
6. [GUPTA G](#). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator– ii: inflammatory mediators, host–response modifiers and chair side diagnostic aids. *J Med Life.* 2013; 6 (1):7–13.
7. [FRASER DA](#), [LOOG BG](#), [BOMAN U](#), [VAN WINKELHOFF AF](#), [VAN DER VALDEN U](#), [SCHENCK K](#), [DEMBIC Z](#). Polymorphisms in a interferon- γ receptor-1 gene marker and susceptibility to periodontitis. *Acta Odontol Scand.* 2003; 61:297–302.

8. BEHLE JH, SEDAGHATFAR MH, DEMMER RT, WOLF DL, CELENTI R, KEBSCHULL M, ET AL. Heterogeneity of systemic inflammatory responses to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 2009; 36:287–294.
9. GRIGORIADOU ME, KOUTAYAS SO, MADIANOS PN, STRUB JR. Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature. *Quintessence Int*. 2010; 41(6):517–525.
10. GAYATHRI R, SAADI AV, BHAT KM, BHAT SG, SATYAMOORTHY K. Allele, genotype, and composite genotype effects of il-1a +4845 and il-1b +3954 polymorphisms for chronic periodontitis in an indian population. *Indian J Dent Res*. 2011; 22 (4):612.
11. IDE M, MCPARTLIN D, COWARD PY, CROOK M, LUMB P, WILSON RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J Clin Periodontol*. 2003; 30:334–340.
12. D'AIUTO F, PARKAR M, ANDREOU G, SUVAN J, BRETT PM, READY D, TONETTI MS. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*. 2004; 83(2):156–160.
13. RIZWAN MS, SHOBHA P. Serum c-reactive protein as a marker of periodontitis and cardiovascular diseases. *Malaysian Dental Journal* 2009; 30(1):53–57.
14. SAWAMOTO Y, SUGANO N, TANAKA H, ITO K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*. 2005; 20:216–220.
15. LOOS BG, TJOA S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid?. *Periodontol2000*. 2005; 39:53–72.
16. CASTRILLÓN RLE, RAMOS AP, CABRERA SM. Innovative study on lactoferrin in periodontal disease. *Rev. Odont. Mex*. 2011; 15(4):231–238.
17. GURSOY UK, KÖNÖNEN E, PRADHAN-PALIKHE P, TERVAHARTIALA T, PUSSINEN PJ, SUOMINEN-TAIPALE L, SORSA T. Salivary mmp-8, timp-1, and ictp as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010; 37:487–493.
18. ANDERSEN E, DESSAIX IM, PERNEGER T, MOMBELLI A. Myeloid-related protein (mrp8/14) expression in gingival crevice fluid in periodontal health and disease and after treatment. *J Periodont Res*. 2010; 45:458–463.
19. LAMSTER IB, KAUFMAN E, GRBIC JT, WINSTON LJ, SINGER RE. Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. *J Periodontol*. 2003;74(3):353–9.
20. LAMSTER IB, AHLO JK. Analysis of gingival crevicular fluid as applied to the diagnosis of oral and systemic diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2007 mar; 1098:216–29.

21. [SOORY M.](#) A role for non-antimicrobial actions of tetracyclines in combating oxidative stress in periodontal and metabolic diseases: a literature review. *Open Dent J.* 2008; 2:5–12.
22. [BUDUNELI N, KINANE DF.](#) Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011; 38(11):85–105.
23. [PRESHAW PM, TAYLOR JJ.](#) How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?. *J Clin Periodontol.* 2011;38 (11): 60–84.
24. [CASARIN RCV, DEL PELOSO RE, MARIANO FS, NOCITI FHJ, CASATI MZ, GONÇALVES RB.](#) Levels of aggregatibacter actinomycetemcomitans, porphyromonas gingivalis, inflammatory cytokines and species-specific immunoglobulin g in generalized aggressive and chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2010; 45:635–642.
25. [OLIVEIRA APL, FAVERI M, GURSKY LC, MESTNIK MJ, FERES M, HAFFAJEE AD, SOCRANSKY SS, TELES RP.](#) Effects of periodontal therapy on gcf cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *J Clin Periodontol.* 2012; 39:295–302.
26. [YAKOB M, SÖDER PÖ, SÖDER B, MEURMAN JH, JOGESTRAND T, NOWAK J.](#) C-reactive protein in relation to early atherosclerosis and periodontitis. *Clin Oral Invest.* 2012; 16:259–265.
27. [SARITA D, PREETINDER S.](#) Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: a case series. *Dent Res J (isfahan).* 2012; 9(1):41–45.
28. [ACUÑA M, CUZZIOL FR, MONZÓN J, CANGA E, CELIA A.](#) Rol de la fosfatasa alcalina salival en el diagnóstico de las enfermedades periodontales. *Rev Fund Juan José Carraro.* 2013; 18(37): 46–48.
29. [KUNJAPPU JJ, MATHEW VB, HEGDE S, KASHYAP R, HOSADURGA R.](#) Assessment of the alkaline phosphatase level in gingival crevicular fluid, as a biomarker to evaluate the effect of scaling and root planing on chronic periodontitis: an in vivo study. *J Oral Maxillofac pathol.* 2012; 16(1):54–57.
30. [GUENTSCH A, HIESE I, PUKLO M, KIEHNTOPF M, PFISTER W, EICK S.](#) Variables of host response in saliva of patients with periodontitis: a pilot study. *Quintessence Int.* 2012; 43(8):104–114.
31. [GURSOY UK, KÖNÖNEN E, UITTO V-J, PUSSINEN PJ, HYVÄRINEN K, SUOMINEN-TAIPALE L, KNUUTTILA M.](#) Salivary interleukin-1b concentration and presence of multiple pathogens in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009; 36:922–927.
32. [DAHLE´N G, LEONHARDT A.](#) A new checkerboard panel for testing bacterial markers in periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 6–11.

33. LAINE ML, MOUSTAKIS V, KOUMAKIS L, POTAMIAS G, LOOS BG. Modeling susceptibility to periodontitis. *J Dent Res.* 2013; 92(1):45–50.
34. LEONHARDT A, CARLÉN A, BENGTSSON L, DAHLÉN G. Detection of periodontal markers in chronic periodontitis. *J.* 2011; 5:110–115.
35. RIVERA MF, LEE J-V, ANEJA M, GOSWAMI V, LIU L, VELSKO IM, ET AL. Polymicrobial infection with major periodontal pathogens induced periodontal disease and aortic atherosclerosis in hyperlipidemic apoenu null mice. *Plos One.* 2013; 8(2): e57178.
36. TENG YT, HU W. Expression cloning of a periodontitis-associated apoptotic effector, cage homologue, in actinobacillus actinomycetemcomitans. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 303(4):1086–1094.
37. TENG YT, ZHANG X. Apoptotic activity and sub-cellular localization of a t4ss-associated cage-homologue in actinobacillus actinomycetemcomitans. *Microb Pathog.* 2005; 38(2–3):125–32.
38. KACHLANY SC. Aggregatibacter actinomycetemcomitans leukotoxin. *J Dent Res.* 2010; 89(6): 561–570.
39. ANDO ES, DE-GENNARO LA, FAVERI M, FERES M, DIRIENZO JM, MAYER MPA. Immune response to cytolethal distending toxin of aggregatibacter actinomycetemcomitans in periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2010; 45(4):471–480.
40. SHADDOX LM, WIEDEY J, CALDERON NL, MAGNUSSON I, BIMSTEIN E, BIDWELL JA, ZAPERT EF, ETAL. Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis. *J Dent Res.* 2011; 90(9):1140–1144.
41. DÍAZ ZJ, YÁÑEZ FJ, MELGAR RS, ALVAREZ RC, ROJAS LC, VERNAL AR. Virulence and variability on porphyromonas gingivalis and aggregatibacter actinomycetemcomitans and their association to periodontitis. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral.* 2012; 5(1):40–45.
42. GUENTSCH A, KRAMESBERGER M, SROKA A, PFISTER W, POTEPA J, EICK S. Comparison of gingival crevicular fluid sampling methods in patients with severe chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011; 82(7):1051–1060.
43. SHEETS SM, POTEPA J, CASIANO CA, FLETCHER HM. Gingipains from porphyromonas gingivalis w83 induce cell adhesion molecule cleavage and apoptosis in endothelial cells. *Infect Immun.* 2005; 73(3):1543–1552.