

Severidad de la enfermedad periodontal en una familia costarricense -Posible ligamen hereditario-

* Dra. Gina Murillo Knudsen.

** Dra. Sandra Silva de la Fuente.

*** Dr. Michael Kowolik

**** Dr. Andrés Cervantes Chavarría.

***** Dr. Gerardo Mora Solano.

***** Pilar Barba Ramírez.

RESUMEN

Miembros de tres generaciones de una misma familia costarricense fueron estudiados con el fin de determinar la manifestación y severidad de la enfermedad periodontal. Además de la condición de salud general se analizó los genotipos de trece citoquinas inflamatorias, así como la historia periodontal de cada uno de los individuos.

La evaluación periodontal se realizó con la sonda UNC-15 (Hu Friedy), se hizo una medición de cada pieza dental en tres sitios en vestibular y tres sitios en palatino o lingual, a todos los sujetos pertenecientes a cada una de las generaciones que aceptaron participar en el estudio. Así mismo, se les tomó una muestra de sangre venosa para determinar a través de la técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), la presencia de variantes genéticas de citoquinas relacionadas con inflamación.

Los pacientes con enfermedad periodontal severa, mostraron variación para interleucina IL-1alfa. Se puede destacar la relación más directa de las citoquinas analizadas en la evolución de la enfermedad periodontal con la IL-6, ya que todos los sujetos presentaron el mismo polimorfismo asociado con esta.

PALABRAS CLAVE

Citoquinas, herencia, enfermedad periodontal.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the expression of periodontal disease within an extended costarican family.

A periodontal assessment was conducted by measuring pocket probing depths on 6 sites of all standing teeth, using a UNC-15 probe (Hu-Friedy, Chicago, USA). General medical and dental histories were also obtained and peripheral venous blood collected in order to determine serum cytokine levels and genetic polymorphisms. Ethical committee approval was obtained and all participants gave written informed consent.

All members of the family presented some degree of periodontal disease and those with more severe disease had alterations in IL-1 α and the same IL-6 polymorphism. It is hypothesized that this may be related to the inflammatory status and levels of alveolar bone loss.

KEY WORDS

Citokines, heritage, periodontal disease.

Introducción.

La periodontitis es una enfermedad multifactorial que resulta de la interacción de bacterias patógenas con los mecanismos de respuesta inmune del huésped, y que se caracteriza por una reacción inflamatoria sostenida que afecta el aparato de inserción del diente. Las variaciones de la respuesta inmune a la infección producida por las bacterias periodonto patógenas influyen, de forma directa, la susceptibilidad del huésped a esta patología.

Algunas enfermedades comunes como la osteoporosis, tienen una base genética multifactorial, que habitualmente envuelven complejas interacciones de muchos genes y factores ambientales; entre estas enfermedades se encuentra la periodontitis, en la cual la genética no es, por sí sola, suficiente para desencadenar la enfermedad con sus signos y síntomas. (Gómez et al. 2007).

En la actualidad, el estudio de la actividad y efectos de la función de los mediadores inflamatorios ha dado grandes pasos al ligarse a

la genómica; el papel de las citoquinas y quimiocinas en múltiples procesos biológicos ha venido a ser redescubierto, no como se pensaba anteriormente, que su rol era solo inmune. Se ha estudiado su papel en múltiples padecimientos y la enfermedad periodontal no ha sido la excepción, el estudio de las quimiocinas como blancos terapéuticos ha sido el objetivo de cientos de investigadores.

Las quimiocinas son una gran familia de citocinas quimiotácticas que estimulan el reclutamiento de células inflamatorias; son producidas por un amplio espectro de células residentes del periodonto, como fibroblastos, células endoteliales, macrófagos, osteoclastos, células epiteliales, leucocitos polimorfonucleares, monocitos, linfocitos, y mastocitos. Algunas quimiocinas contribuyen con la inflamación e inducen la resorción ósea, ya que pueden estimular uno o varios pasos de esta, incluso el reclutamiento, la diferenciación, o la fusión de células precursoras para formar osteoclastos (Graves 2008).

*Profesora Asociada, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica.

** Profesora Asociada, Facultad de Microbiología y CIBCM, Universidad de Costa Rica.

***Decano Asociado Educación e Investigación. Escuela Dental, Universidad Indiana, USA.

****Odontólogo práctica privada e Institucional.

*****Odontólogo, estudiante pasantía de Periodoncia. Universidad de Costa Rica

*****Estudiante de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Las técnicas modernas de biología molecular, han incluido la importancia de la genética para el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad periodontal, y para la práctica clínica en general. La evidencia científica describe interacciones complejas entre los mecanismos de respuesta del hospedero y la acción de los microorganismos patógenos. La enfermedad periodontal, como la mayoría de las afecciones crónicas, es de etiología compleja. Por lo que el componente genético que pueda predisponer a su padecimiento, es difícil de dilucidar.

Método

El presente es un estudio descriptivo cuya muestra total fue constituida por quince pacientes, pertenecientes a tres generaciones de una familia costarricense, en la cual algunos miembros reportan haber sido diagnosticados anteriormente, con enfermedad periodontal moderada o severa. Como método de levantamiento de datos para determinar el estado de salud general del paciente, se utilizó un cuestionario precodificado donde se evaluó la presencia o ausencia de condiciones de salud específicas (enfermedades respiratorias, cardiovasculares, endocrinas, genitourinarias, musculoesqueléticas, neurológicas, gastrointestinales, antecedentes alérgicos y patológicos familiares).

Se les realizó un examen periodontal con la sonda UNC - 15 (*Hu-Friedy Manufacturing Co. Chicago, IL*), y se utilizó una hoja de registro para anotar los datos.

Se evaluó cada una de las piezas dentales desde las segundas molares permanentes: de 1.7 a la 2.7; y de la 3.7 a la 4.7, se excluyeron las terceras molares. La sonda UNC - 15 registró el valor de profundidad del surco periodontal de cada pieza dental en seis sitios: distal, medial y mesial, tanto por vestibular como por palatino o lingual, por lo cual se obtienen 6 mediciones por pieza.

Se registró además, el grado de pérdida de inserción gingival tomando como referencia la unión amelo-cementario de cada pieza dental. Esta se considera positiva cuando se presenta retracción gingival, y negativa cuando hay expansión gingival. Las piezas ausentes se registraron con el No. 99, y las lecturas que no se pudieron tomar se registraron con el No. 88. El examen gingival fue realizado por una sola operadora odontóloga calibrada en el manejo del índice.

Para el análisis bioquímico se tomaron tres tubos de sangre venosa, uno para la realización de un hemograma, en un equipo *Symex KX-21N*, el segundo se utilizó para extracción orgánica de ADN de sangre total para el examen de citoquinas y del último tubo se reservó el suero para estudios posteriores. El análisis fue realizado en el Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica (CIBCM).

Se analizaron las variantes genéticas de 13 citoquinas relacionadas con inflamación: IL1 α , IL1 β , IL1R, IL1 α R, IL2, IL4, IL4 α , IL6, IL10, IL12, γ INF, TGF β , TNF α . Todas, se determinaron mediante reacción en cadena de la polimerasa, para lo cual se usó el kit comercial: *Cytokines genotyping kit, Invitrogen*, que permite evidenciar polimorfismos de un único nucleótido (SNPs).

Los productos de amplificación fueron visualizados por electroforesis en geles de poliacrilamida desnaturalizante al 4%, y teñidos con sales de plata.

Del análisis de laboratorio se puede observar si los sujetos del estudio, presentan o no el nucleótido específico en la posición que en el "primer" permite la reacción. Si el sujeto es heterocigoto (presenta nucleótidos dispares en cromosomas homólogos en la misma posición) u homocigoto (presenta el mismo nucleótido en la misma posición en cromosomas homólogos).

Resultados

La muestra analizada en el estudio, estuvo constituida por 15 personas, las cuales pertenecen a tres generaciones de una misma familia. Algunas de ellas presentan historia previa de enfermedad periodontal, y en su defecto, fueron atendidas en la Clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica, durante el año 2008.

El total de mediciones realizadas fueron 1858, se encontraron surcos gingivales con una profundidad que va desde 1 hasta 9mm en los casos más severos. No se mostró diferencia estadísticamente significativa en la profundidad promedio de las bolsas periodontales por sexo ($p = 0.097$); sin embargo es importante destacar que la distribución de la profundidad del surco gingival en los hombres, tiende a concentrarse en el nivel 2 mm., mientras que en las mujeres, este se concentra en el nivel de 3 mm.

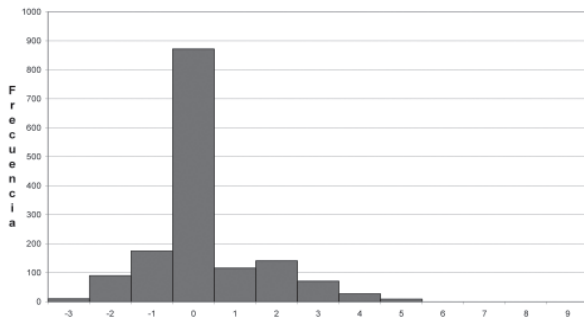
Tabla 1:
Distribución de la profundidad de las bolsas periodontales según sexo. 2009

Profundidad	Total	Sexo	
		Masculino	Femenino
Mediciones	1858	1133	725
Promedio	3,2	3,2	3,2
Total	100,00%	100,00%	100,00%
0	0,16	0,09	0,28
1	4,09	2,29	6,90
2	30,03	31,24	28,14
3	26,70	24,45	30,21
4	21,53	25,51	15,31
5	14,21	14,21	14,21
6	2,42	1,59	3,72
7	0,59	0,26	1,10
8	0,27	0,35	0,14
9	0,00	0,00	0,00
10	0,00	0,00	0,00

Se registra diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de profundidad y las generaciones analizadas ($p=0,016$). Asimismo, se presentó una correlación inversa moderada y estadísticamente significativa de $-0,683$, lo cual indica que entre más edad menor nivel de profundidad en el surco gingival de las piezas dentales. Situación que se podría explicar por el tratamiento periodontal que estos pacientes han recibido. Se evidenció diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de pérdida de inserción clínica y las generaciones analizadas

($p=0,021$), asimismo, se encontró una correlación inversa moderada y estadísticamente significativa de 0,63; lo cual indica que entre más edad mayor nivel de pérdida de inserción clínica se manifiesta en las piezas dentales. El valor promedio de las mediciones de pérdida de inserción clínica es de -0,18; en las que el 57,7% de las mediciones la recesión obtuvo un valor de “0”. Es importante recalcar que el segundo valor modal fue de “-1”; en los hombres (15,0% de las mediciones), mientras que en las mujeres el segundo valor modal fue 2 (10,3% de las mediciones). Un valor de -1 indica una inflamación gingival, lo cual es indicio claro de presencia de factores contribuyentes con el desarrollo de la enfermedad periodontal.

Gráfico 1: Distribución del nivel de pérdida de inserción.
Distribución del nivel de pérdida de inserción 2009



En cuanto a profundidad de la bolsa, el índice de enfermedad periodontal muestra valores mayores con respecto a la profundidad y a la recesión, en la posición bucal, seguida de la posición medial del diente, y menor en la posición distal y mesial las piezas posteriores.

En relación con los polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) de citoquinas, se observan a continuación los hallazgos relevantes con respuesta al resultado proveniente de las muestras de sangre luego del proceso de laboratorio.

Tabla 2:

Electroforesis en gel de poliacrilamida para la presencia o ausencia de polimorfismos específicos de citoquinas (Se subrayan las más relevantes a nivel periodontal).

		C5	C21	C9	C16	C20	C7	C8	C22	C15	C11	C23	C13	C17	C12	C1
IL1α	T at pos -889															
	C at pos -889															
TGFβ1	C at codon 10; G at codon 25															
	C at codon 10; C at codon 25															
	T at codon 10; G at codon 25															
	T at codon 10; C at codon 25															
IL6	C at codon 10															
	T at codon 10															
	G at pos -174; G at pos nt565															
	C at pos -174; G at pos nt565															
IL10	G at pos -174; A at pos nt565															
	G at pos -1082; C at pos -819															
	G at pos -1082; C at pos -592															
	A at pos -1082; C at pos -819															
	A at pos -1082; T at pos -819															
	A at pos -1082; C at pos -592															
	A at pos -1082; A at pos -592															
	A at pos -1082; A at pos -592															

Discusión.

El análisis de los datos forma parte de un estudio general, que busca establecer asociación entre el patrón genético de tres generaciones de una familia y el grado de afectación periodontal en los sujetos. El objetivo real y específico es correlacionar la presencia de polimorfismos particulares de citoquinas con la severidad de la enfermedad periodontal, y a la vez, determinar si esas variables genéticas tienen presencia en las distintas generaciones estudiadas.

Esto puede sugerir si una condición es hereditaria, o si un sujeto es susceptible de sufrir algún problema que se encuentra acentuado en la familia, lo que haría necesario implementar actividades preventivas y los cuidados pertinentes para disminuir las probabilidades de que este aparezca.

Se logró realizar un examen clínico detallado de todas las piezas dentales de cada paciente, para determinar la profundidad del surco gingival y posible pérdida de inserción. En los pacientes con amplia pérdida de inserción que recibieron tratamiento, se puede demostrar cómo se controla la condición, en donde se observan piezas en función con moderada pérdida de inserción, sin signos clínicos como inflamación o movilidad.

La paciente que constituyó la primera generación (edéntula total), manifestó en su exposición oral las causas de la pérdida de sus piezas dentales (extracciones por amplia movilidad y avulsiones espontáneas), probablemente la enfermedad periodontal fue la causa principal de su condición. Dentro de los pacientes de la segunda generación, cinco han recibido tratamiento. Ellos conocen la importancia del cuidado bucal y las características de la periodontitis como una enfermedad inflamatoria crónica, la cual con un tratamiento oportuno y eficaz, se puede controlar pero no se llega a curar en su totalidad. Además, están consientes de que esto es un problema de salud que está presente en la mayoría de los miembros de la familia. Los dos cónyuges de las pacientes analizadas no se encuentran bajo tratamiento, pero sí presentan indicios o signos claros de la presencia de enfermedad periodontal.

Los miembros de la tercera generación no presentan casos severos de periodontitis, pero algunos ya sufren de gingivitis, inflamación generalizada de las encías o, inclusive, pérdida de inserción

clínica; lo que podría conducir al establecimiento de la enfermedad periodontal. Una pobre higiene oral y falta de adecuados mecanismos de remoción mecánica de biofilme dental, se pueden considerar como factores de riesgo locales, aunado a la prevalencia alta de este problema en la familia, lo que hace pensar en un componente genético implícito.

Para interleucina IL-1alfa, los tres pacientes con enfermedad periodontal severa, muestran ser heterocigotos T/C en la posición 889. Este hallazgo es importante porque

coincide con el examen clínico periodontal, donde se encuentra reabsorción ósea, lo que induce a reflexionar que hay un efecto importante de esta variable genética de esta interleucina en estos casos.

Para TNF- alfa, todos los pacientes son homocigotos GG en posición 308- y GG en la posición 238 con excepción del sujeto 1 que no presenta resultado (*posible delección*) y el sujeto 11 que es heterocigoto G/A en esa posición. Esto podría sugerir una manifestación importante de esta citoquina inductora de inflamación, lo cual corresponde a la observación realizada en el examen clínico periodontal

Para interleucina IL-6, todos los pacientes demostraron ser homocigotos GG para la posición 174, y AA en la posición 565. Este hallazgo es importante ya que todos los pacientes al examen clínico presentan inflamación en un rango de leve a severo, el cual puede estar mediado por la presencia de esta citoquina, cuyo rol más específico se presenta en la activación de la inflamación y en la reabsorción ósea estimulada por osteoclastos.

Con respecto al interferon gama, todos los pacientes resultaron ser homocigotos AA posición +874.

En cuanto a la IL-10 de los pacientes severos, dos presentan (6-10) heterocigosidad en G/A posición -1082 con C posición -819, A posición -1082 con C posición -819 y A posición -1082 con C posición -592. La paciente edéntula (quien constituye la primera generación de la familia) presenta la misma situación. No se revelan más coincidencias. Este hallazgo es relevante ya que la manifestación se hace presente en los pacientes que al examen clínico periodontal se encontraron más afectados.

En la IL-1 beta: los tres pacientes severos (6-8-10) presentan heterocigosidad en todas las posiciones de los nucleótidos de reacción para esta citoquina. Hallazgo presente también en un paciente con gingivitis (paciente 11).

Conclusiones

La determinación genética realizada al observar la presencia o no de cada citoquina y la posición de los nucleótidos específicos (polimorfismos), permite resaltar la relación que puedan tener estos hallazgos con la severidad de la enfermedad periodontal y la posible asociación con la condición sistémica particular de cada paciente. Todas las personas mostraron variación en el polimorfismo GG en posición 308 y GG 238 para TNF- alfa, con excepción de un sujeto que no presenta (resultado posible delección); esto podría sugerir la influencia del poliformismo mismo en la estructura de la citoquina, lo que afecta o incrementa su función inductora de inflamación, activación de osteoclastos e inducción de otras citoquinas.

La relación más directa de las citoquinas analizadas en la evolución de la enfermedad periodontal, se podría corresponder con la IL-6, ya que todos los sujetos presentaron el mismo patrón de codificación genética de homocigotos GG (guanina) en posición -174 y n565. Esto se explica en la actividad de la citoquina como inductora de la inflamación y reabsorción ósea estimulada por osteoclastos.

La determinación de si estos hallazgos son o no relevantes en la condición periodontal, se deduce al contraponer los resultados genéticos contra el diagnóstico periodontal del paciente. Sin embargo es necesario contar con una muestra más numerosa a futuro, para poder darle a las observaciones realizadas en este estudio una validez estadísticamente significativa. El objetivo final del análisis general desde un punto de vista macro, es contraponer los resultados de diversas familias para poder brindar información científica de peso, sobre la relevancia de la variación de polimorfismos de citoquinas en la condición clínica periodontal familiar.

Bibliografía

Baker Pamela J. Roopenian Derry C. Genetic susceptibility to chronic periodontal disease. *Microbes and Infection* 4 (2002) 1157-1167.

Bullon Fernandez, P.. Diagnóstico por el laboratorio de las enfermedades periodontales y periimplantarias: Diagnóstico de la periodontitis. *Avances en Periodoncia* [online]. 2004, vol.16, n.1 [citado 2009-07-19], pp. 35-45 .

Bernimoulin J-P: Conceptos recientes sobre formación de placa, *Journal of Clinical Periodontology* 2003; 30 (Suppl.5): 7-9.

Carranza Fermín A.; Takei Henry H.; Newman Michael G. *Periodontología Clínica*. 9 ed. México, Mc Graw- Hill Interamericana, 2004: 1044 pp

Echeverría A., Vignoletti F., Fabrizi S., Matesanz P., Papel etiológico de los virus en la enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol*. 2007; 19, 2:91-99.

Echevarria JJ. Enfermedades periodontales y periimplantarias. Factores de riesgo y su diagnóstico. *Av Periodon Implantol*. 2003;15: 149-58.

Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontol* 2008;79:1585-1591.

Graves. The Potential Role of Chemokines and Inflammatory Cytokines in Periodontal Disease Progression *Journal of Clinical Infectious Diseases* , 2001, pag. 482.490.

Gómez R, et al. El papel de la genética en la aparición y desarrollo de la periodontitis. I: evidencias científicas de la asociación entre periodontitis y genética. *Av Periodon Implantol*. 2007; 19, 2: 71-83.

Hodge P.J. et al. Clinical and Genetic Analysis of a Large North European Caucasian Family Affected by Early-onset Periodontitis. 2000. *J Dent Res* 79(3): 857-863.

Kinane D F. Hart T C. Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003. 14(6):430-449.

Okada. Citokine expression in Periodontal health and disease.. *Crit*

Rev Oral Biol Med 9 (3): 248 – 266 (1998). Japan.

Pirkko J., Paju S., Mäntylä P., Sorsa T. Serum Microbial- and Host-Derived Markers of Periodontal Diseases: A Review Current Medicinal Chemistry, 2007, 14, 2402-2412.

Rioboo Crespo M. Bascones A. Factores de riesgo de la enfermedad periodontal: factores genéticos. Av Periodon Implantol. 2005; 17, 2: 69-77.

Schenkein Harvey. A. Finding genetic risk factors for periodontal diseases : is the climb worth the view? Periodontology 2000. Vol. 30. 2002. 79-90.

Seymour G . Cytokines in periodontal disease: where to from here? Oral Biology and Pathology, Acta Odontol Scand 2001; 59:167 –173.

Silva T.A. Chemokines in Oral Inflammatory Diseases: Apical Periodontitis and Periodontal Disease. J Dent Res, 2007, 86 (4): 306-319.

Spektor et al. “Clinical Studies of One Family manifesting Rapidly Progressive, Juvenile and Prepubertal Periodontitis”. 1984.

Sollecito, Thomas P. et al. Condiciones sistémicas asociadas con periodontitis en la infancia y la adolescencia: Una revisión de las posibilidades diagnósticas. Med. oral patol. oral cir. bucal. 2005, vol.10, n.2 pp. 142-150 .

Taboada. M E. Evaluación del Factor de Necrosis Tumoral (TNF-alfa) en pacientes peruanos con procesos periodontales. Odontol. Sanmarquina 2007; 10(1): 28-30.

Valderrama G. Vijande F., Escribano JM., Garrido-Pertierra A., Bascones A. La IL-1 y su eventual asociación con la enfermedad periodontal crónica. Una revisión de la literatura (I). Av Periodon Implantol. 2005; 17, 3: 157-163.