

Comparación de la síntesis de interleucina-1 β por monocitos y linfocitos B estimulados con lipopolisacárido en pacientes con enfermedad periodontal

Interleukin-1 β Production by Peripheral Blood Monocytes and B Lymphocytes in Patients with Periodontal Disease

Lina Janeth Suárez Londoño

Odontóloga, especialista en Periodoncia, magistra en Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Profesora, Departamento de Ciencias Básicas y Medicina Oral, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

María Teresa Bernal Guio

Odontóloga, especialista en Periodoncia, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Juliana Salazar Fenger

Odontóloga, especialista en Periodoncia, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Periodoncista, Caja de Compensación Familiar Colsubsidio, Cali, Colombia.

Nelly Stella Roa Molina

Odontóloga, especialista en Inmunología Clínica, magistra en Microbiología, docente-investigadora, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Candidata al PhD en Inmunología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Ángela Patricia Fonseca Gutiérrez

Bacterióloga, especialista en Inmunología Clínica, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Laboratorio Clínico, Hospital de la Samaritana, Bogotá, Colombia.

Adriana Cuéllar Ávila

Bacterióloga, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. Magistra en Microbiología, PhD en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Docente-investigadora, grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Adriana Rodríguez Cíodaro

Bacterióloga, magistra en Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Docente-investigadora, Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, Pontificia Universidad Javeriana.

RESUMEN

Antecedentes: la interleucina-1 β (IL-1 β) se considera un mediador en la pérdida ósea en enfermedad periodontal. No es claro si existen diferencias en la producción de IL-1 β ex vivo por linfocitos B (LB) y monocitos (Mo) de sangre periférica entre pacientes sanos y con enfermedad periodontal. **Objetivo:** cuantificar la producción de IL-1 β por LB y Mo de sangre periférica de individuos con enfermedad periodontal y sin esta en presencia de lipopolisacárido (LPS). **Métodos:** se tomaron células de cinco individuos con diagnóstico sano/gingivitis, cinco con periodontitis crónica (PC) y cinco con periodontitis agresiva (PAG). Los Mo y LB de sangre periférica se purificaron con anticuerpos anti-CD14 y anti-CD19 marcados con perlas magnéticas. La pureza de las poblaciones celulares fue confirmada por citometría de flujo. Las células se estimularon con LPS y la producción de IL-1 β se cuantificó por ELISA. **Resultados:** las concentraciones basales de IL-1 β producidas por LB fueron menores en sujetos con PC comparados con sujetos con PAG ($p = 0,03$) e individuos sanos ($p = 0,0079$). En presencia del estímulo, se incrementaron sin encontrarse diferencias entre los grupos. La IL-1 β producida por los Mo a nivel basal y frente al estímulo fue similar entre los sujetos, pero mayor comparada con la liberada por los LB ($p=0,0079$ en PC y $p=0,00571$ en PAG) en pacientes con periodontitis. **Conclusiones:** la producción de IL-1 β por LB en el estado basal está significativamente disminuida en pacientes con PC, comparado con sanos y PAG, pero una vez estimulados con LPS, la respuesta es similar en los tres grupos. La capacidad de los LB para producir IL-1 β en respuesta al estímulo con LPS es limitada comparada con la de los Mo.

PALABRAS CLAVE

Linfocitos B, monocitos, interleucina-1 β , periodontitis crónica, periodontitis agresiva, enfermedad periodontal.

ÁREA TEMÁTICA

Periodoncia, inmunología.

ABSTRACT

Background: Interleukin-1 β (IL-1 β) is considered an important mediator of bone loss in patients with periodontal disease. It is unclear whether there are differences in the production of IL-1 β ex vivo by B cells and monocytes from peripheral blood between healthy patients and with periodontal disease. **Objective:** To quantify the production of IL-1 β by monocytes and peripheral blood B cells of individuals with and without periodontal disease in the presence of lipopolysaccharide (LPS). **Methods:** Monocytes and peripheral blood B cells from 5 healthy/gingivitis, 5 chronic periodontitis (CP) and 5 aggressive periodontitis (AgP) patients were purified with anti-CD14 and anti-CD19 marked with magnetic beads. The purity of the cell populations was confirmed by flow cytometry. Cells were stimulated with LPS and the production of IL-1 β was quantified by ELISA. **Results:** Basal levels of IL-1 β produced by B lymphocytes were lower in subjects with chronic periodontitis than in healthy ($p = 0.0079$) and aggressive periodontitis patients ($p = 0.03$). In presence of LPS, the IL-1 β levels are increased with no differences between groups. IL-1 β produced by monocytes at baseline and with LPS, was similar between subjects, but higher compared to that released by B lymphocytes ($p = 0.0079$ in chronic periodontitis, $p = 0.00571$ in aggressive periodontitis) in the periodontitis groups. **Conclusions:** The production of IL-1 β by LB at baseline is significantly reduced in CP patients compared to healthy and AgP, but once stimulated with LPS, the response is similar in the three groups. The ability of LB to produce IL-1 β in response to stimulation with LPS is lower compared with monocytes.

KEY WORDS

Residual ridge, edentulous, porcelain teeth, acrylic teeth.

THEMATIC FIELD

Dental materials, prosthodontics.

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Suárez LJ, Bernal MT, Salazar J, Roa NS, Fonseca AP, Cuéllar A, Rodríguez A. Comparación de la síntesis de interleucina-1b por monocitos y linfocitos B estimulados con Lipopolisacárido en pacientes con enfermedad periodontal. *Univ Odontol.* 2012 Ene-Jun; 31(66): 103-114.

Recibido para publicación: 14-02-2012

Recibido con correcciones: 07-05-2012

Aceptado para publicación: 08-05-2012

Disponible en <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

INTRODUCCIÓN

Dentro del amplio espectro de factores proinflamatorios ligados a la enfermedad periodontal, el más relevante en la pérdida tisular, por su papel en la destrucción ósea, es la interleucina 1b (IL-1b), mediador primario de la respuesta del huésped en la inmunidad natural, con innumerables funciones tanto en procesos fisiológicos como en el desarrollo de patologías infecciosas e inflamatorias.

Algunas de las características biológicas que pueden ser relevantes en la enfermedad periodontal incluyen el hecho de aumentar la expresión de moléculas de adhesión en fibroblastos (1), monocitos (Mo), células endoteliales, linfocitos y neutrófilos; ser un potente estimulador del catabolismo de tejido conectivo, tras la proliferación de fibroblastos gingivales humanos y síntesis de proteoglicanos, colágeno, colagenasa y prostaglandinas como la PGE₂ (2,3), activador de plasminógeno e IL-6, y en el ligamento periodontal, estimular la síntesis de procollagenasa (3).

La IL-1b, además, favorece la liberación de una metaloproteínasa neutra por los condrocitos, la cual degrada proteoglicanos de la matriz de cartílago, lo que induce la pérdida de calcio en el hueso, aumenta la formación y actividad de los osteoclastos —que impulsa la expresión de RANKL (4,5)—, estimula la producción de metaloproteinasas y apoptosis de células productoras de la matriz y aumenta la expresión de MHC, facilitando así la presentación antigénica (6).

Las altas concentraciones de IL-1b encontradas en el fluido gingival de pacientes con enfermedad periodontal activa (7-10), el incremento en la cantidad de esta al aumentar la profundidad de la bolsa (11-13), la alta expresión de ARNm en tejidos periodontales inflamados y la expresión de la citocina en su forma proteica en enfermedad (8) hacen que este factor se proponga como un mediador de la pérdida ósea en pacientes con enfermedad periodontal crónica (3).

En los tejidos periodontales, la IL-1b se puede producir por una gran cantidad de células inmunocompetentes, así como por células que constituyen la estructura del tejido. De esta manera, pueden ser fuentes de IL-1b en el periodonto los Mo/macrófagos tisulares, linfocitos B (LB), polimorfonucleares neutrófilos, células dendríticas (CD), fibroblastos, células epiteliales, endoteliales y osteoblastos (3,14).

El macrófago, principal fuente de IL-1b, es un potencial participante en la destrucción ósea observada en la periodontitis; sin embargo, se conoce que esta no es la célula predominante en las lesiones avanzadas de la enfermedad periodontal. Hoy en día se acepta que la lesión tisular avanzada en periodontitis es una lesión predominada por células B (15,16), aunque no es claro cómo ninguno de los dos grupos celulares anteriores contribuyen al daño observado en la enfermedad.

Por otro lado, uno de los factores que pueden estar relacionados con la elevada producción de IL-1b es la presencia de un polimorfismo génico de la IL-1b (17-19). Ello sugiere que la susceptibilidad a la enfermedad puede estar relacionada con las diferencias individuales en la secreción de citocinas (20). Esto se ha comprobado en estudios realizados en células mononucleares de sangre periférica en presencia de uno o diferentes estímulos (21) y en ausencia de otros factores de riesgo conocidos (22).

Al partir del hecho de que el polimorfismo génico en los pacientes con enfermedad periodontal sugiere que las células sanguíneas tienen una capacidad de base para producir mayor IL-1b en respuesta al antígeno, que el LB es la célula predominante en el tejido gingival en procesos avanzados de periodontitis y que el monocito es la célula que más produce IL-1b, el presente trabajo pretende explicar, desde la capacidad de reacción de LB y Mo al estímulo en pacientes sanos y enfermos, la predisposición a desarrollar la enfermedad.

El objetivo de este trabajo fue cuantificar *ex vivo* la producción de IL-1b por Mo y LB de sangre periférica de pacientes con enfermedad periodontal y sin esta en presencia del lipopolisacárido (LPS). Hasta el momento no existen publicaciones que comparen, en términos de cantidad, la liberación de esta citocina, por los dos tipos celulares, en pacientes con diferentes diagnósticos periodontales.

MATERIALES Y MÉTODOS

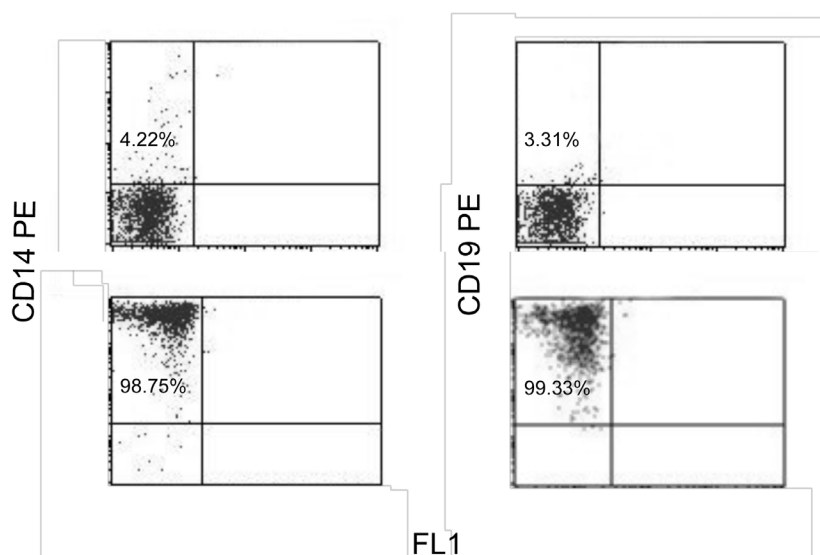
Se diseñó un estudio experimental para el que se aislaron LB y Mo de sangre periférica de 15 pacientes con edades entre los 19 y los 40 años, quienes asistieron a las clínicas de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, en Bogotá, Colombia, con los siguientes diagnósticos periodontales: 5 sanos/gingivitis (S/G), con un índice de 0 o 1, según el índice gingival de Löe y Silness (23); 5 periodontitis crónica (PC) generalizada, y 5 periodontitis agresiva (PAg) generalizada, diagnosticadas bajo el criterio de la Academia Americana de Periodoncia de 1999 (24), los cuales en todos los casos presentaban bolsas periodontales mayores de 6 mm activas (presencia de sangrado) y no tenían afectación sistémica de base. Se excluyeron pacientes bajo terapia antibiótica, inmunosupresora y que hubieran recibido tratamiento periodontal en los últimos 6 meses.

Obtención de LB y Mo de sangre periférica

Los mononucleares de sangre periférica (PBMC) se obtuvieron por gradientes de densidad Ficoll-Hypaque (Amersham Biosciences) a partir de 30 ml de sangre anticoagulada con heparina obtenida de cada paciente, previa firma del consentimiento informado. Se realizó recuento y prueba de viabilidad celular con azul tripán. A los PBMC resuspendidos en un amortiguador (*buffer*) de separación (0,05% EDTA, 5% albúmina, PBS 1X) se les adicionó por separado a-CD14 (para Mo) y a-CD19 (para LB) marcados con perlas magnéticas (Miltenyi Biotect) (20 μ l de anticuerpo/80 μ l de amortiguador de separación por cada 1×10^6 células).

FIGURA 1

DOT PLOT DE PUREZA DE SELECCIÓN POSITIVA DE MONOCITOS Y LINFOCITOS B DE SANGRE PERIFÉRICA. EJEMPLO REPRESENTATIVO DE UN PACIENTE. NÚMERO DE EVENTOS: 5000



Después de 15 minutos de incubación a 4 °C, la suspensión marcada fue pasada por una columna magnética que retenía la fracción positiva para el marcador. Las células separadas se tiñeron con azul tripán para observar viabilidad (>90%) y se cuantificaron. La pureza de las células fue medida

por citometría de flujo (citómetro FACS Calibur [BD]) con anti-CD14 PE y anti-CD19 PE y analizada en el programa Cell Quest (figura 1).

Cuantificación de IL-1b

Previa estandarización de las condiciones de cultivo y de activación, los Mo y LB purificados (5×10^5 células /500 μ l) se sembraron en placas de 48 pozos, en medio RPMI suplementado (0,5% HEPES, 1% glutamina, 0,1% penicilina-estreptomicina, 10% de SFB), en presencia o ausencia de LPS (1 μ g/ml) de *E. coli* O55:B5 (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) (25).

Después de 48 horas a 37 °C en 5% de CO₂, se recogieron los sobrenadantes y se almacenaron a -20 °C hasta el momento de la cuantificación de la IL-1b por ELISA, con el estuche OPTEIA™ Human IL-1b (Pharmingen), el cual se utilizó bajo las estrictas recomendaciones del fabricante. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Humareader Comprolab) a una longitud de onda de 450 nm; entre tanto, la concentración se obtuvo a partir de una curva de calibración estándar incluida en el estuche.

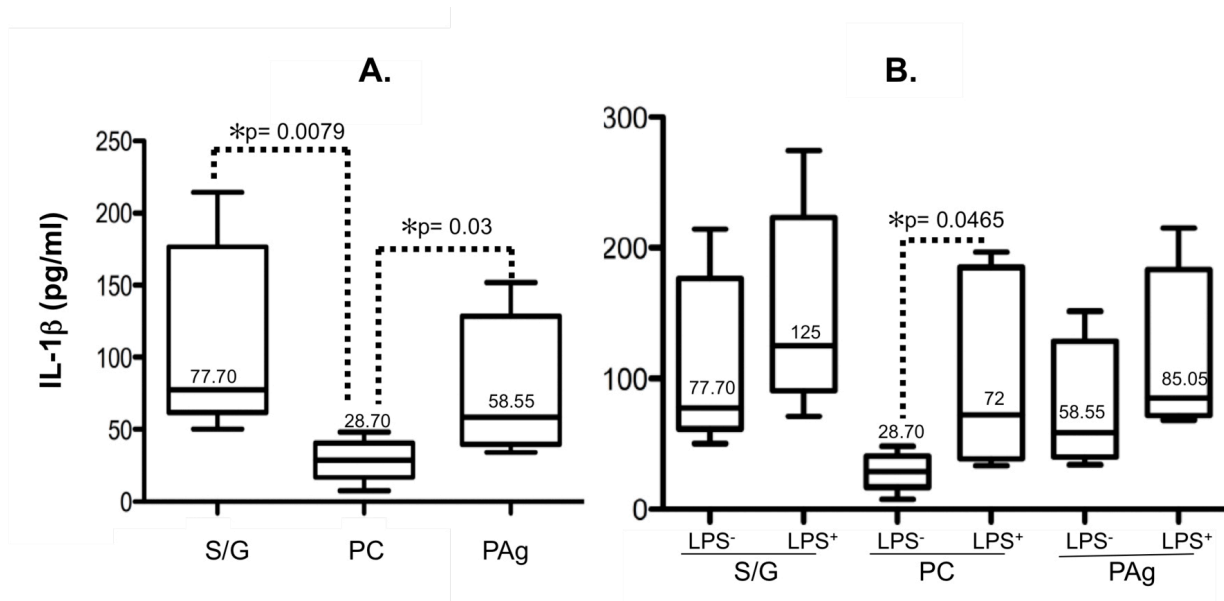
Análisis estadístico

Las pruebas utilizadas para el análisis de los resultados fue la Shapiro-Wilk, a fin de observar la homogeneidad de las varianzas, y para el análisis intra e intergrupo se usaron las pruebas H de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, respectivamente.

RESULTADOS

Producción de IL-1b por LB activados y no activados

FIGURA 2
 CONCENTRACIÓN DE IL-1B POR LINFOCITOS B



a) Concentraciones basales en ausencia de lipopolisacárido. b) Con LPS y sin este.

S/G: sanos/gingivitis, PC: periodontitis crónica, PAg: periodontitis agresiva. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Los valores registrados corresponden a la mediana y cuartiles para cada variable.

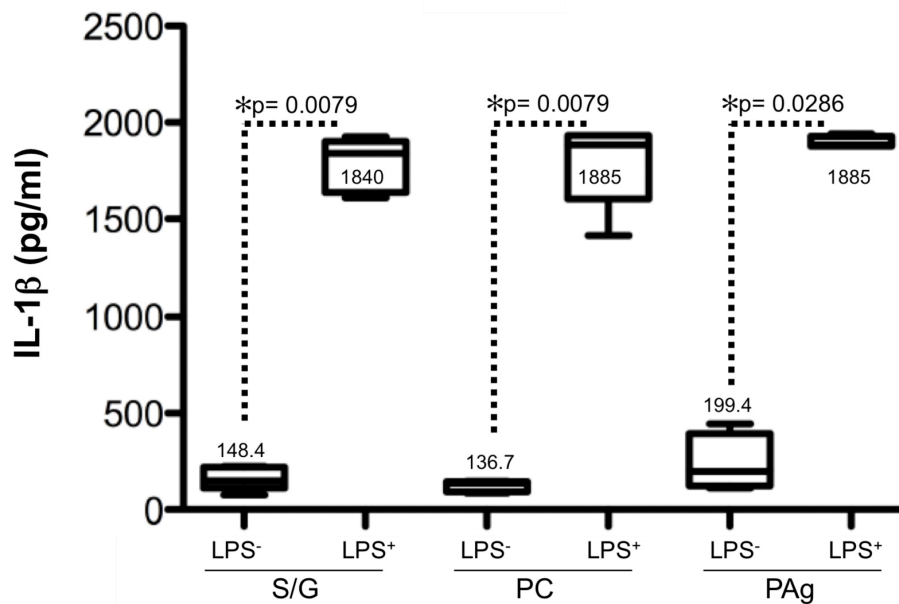
Al analizar la producción basal de IL-1b por los LB en los tres grupos de pacientes, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0126$). La comparación intergrupos revela una mayor producción basal en el grupo de pacientes sanos al compararlo con el grupo PC ($p=0,0079$), así como una mayor producción en el grupo PAg, en comparación con el grupo PC ($p=0,03$) (figura 2a). En presencia del activador, los tres grupos aumentaron la producción de citocina; pero no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Al comparar el cambio en la producción de IL-1b en presencia y ausencia de LPS, el único aumento significativo se dio en el grupo periodontitis crónica ($p=0,0465$) (figura 2b).

Producción de IL-1b por Mo activados y no activados

No se encontraron diferencias entre los tres grupos en la producción basal de IL-1b por los Mo; tampoco en presencia del activador. Al colocar el LPS, aumentó la producción de IL-1b en los tres grupos de manera similar, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos (figura 3).

FIGURA 3

CONCENTRACIÓN DE IL-1 β POR MONOCITOS EN PRESENCIA O AUSENCIA DE LIPO-POLISACÁRIDO

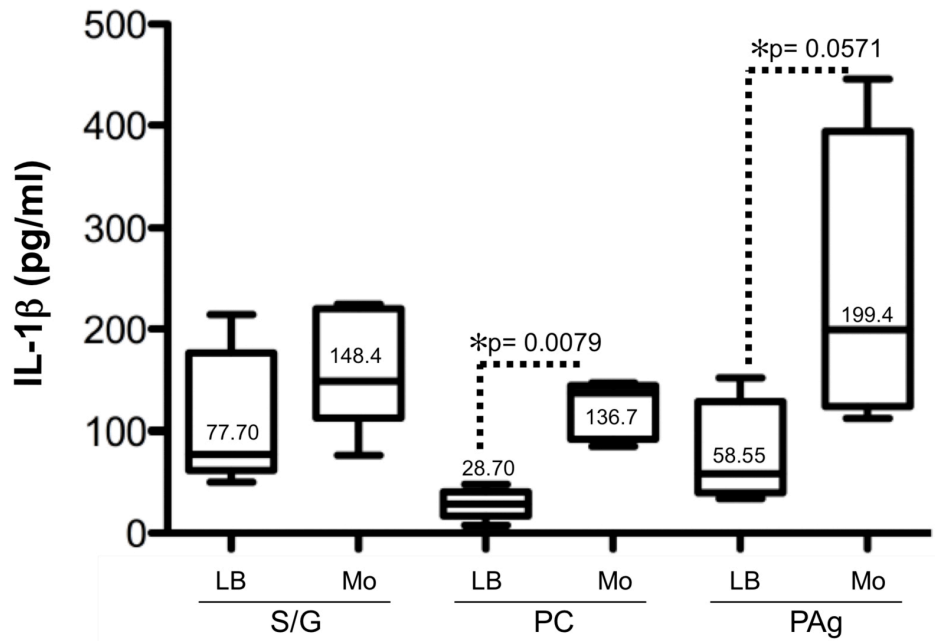


S/G: sanos/gingivitis, PC: periodontitis crónica, PAg: periodontitis agresiva. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Los valores registrados corresponden a la mediana y cuartiles para cada variable.

Producción comparativa de IL-1b por Mo y LB

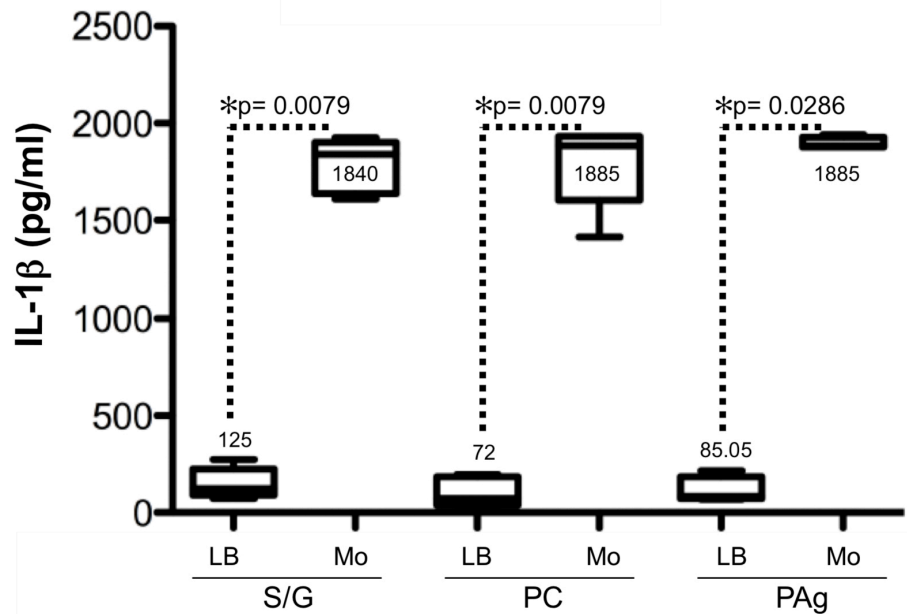
Al comparar la producción basal de IL-1b por Mo y LB, se detectó que en pacientes H/G ambos tipos celulares tuvieron una producción similar en ausencia del activador; mientras que los Mo de pacientes con enfermedad periodontal presentaron una mayor producción espontánea de la citocina ($p = 0,0079$) (figura 4).

FIGURA 4
 PRODUCCIÓN BASAL DE IL-1B POR MONOCITOS Y LINFOCITOS B EN AUSENCIA DE LIPOPOLISACÁRIDO



S/G: sanos/gingivitis, PC: periodontitis crónica, PAg: periodontitis agresiva. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Los valores registrados corresponden a la mediana y cuartiles para cada variable.

FIGURA 5
 PRODUCCIÓN DE IL-1B POR MONOCITOS Y LINFOCITOS B EN PRESENCIA DE LIPO-POLISACÁRIDO



S/G: sanos/gingivitis, PC: periodontitis crónica, PAg: periodontitis agresiva. Nivel de significancia: $p < 0,05$. Los valores registrados corresponden a la mediana y cuartiles para cada variable.

Después de la activación con LPS, los Mo de los tres grupos de pacientes produjeron significativamente más IL-1b que los LB (figura 5). Las canti-

dades de IL-1b producidas por LB activados con LPS son comparables a las concentraciones basales producidas por los Mo, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

DISCUSIÓN

La IL-1b es un potente estimulador de la hematopoyesis y de la respuesta inmune adaptativa (26), que, junto con el TNF-a, son moduladores sistémicos de la respuesta inflamatoria de fase aguda y activan la producción de mediadores inflamatorios secundarios como quimiocinas y cicloxigenasas inductoras de prostaglandinas (27). La etiopatogenia de la periodontitis la han estudiado ampliamente múltiples autores (28-41), y con base en los resultados de tales estudios se han construido hipótesis sobre el papel de las diferentes células de la respuesta inmune en la progresión del daño, tema que aún es controvertido.

Aunque en patologías inflamatorias crónicas el rol de la IL-1b está bien documentado, con relación a la enfermedad periodontal han surgido hipótesis que involucran directamente la regulación de la respuesta inmune por citocinas T1 y T2 en función de la célula productora del factor proinflamatorio. Se propone que dos células presentes en los diversos estadios de progresión del daño tisular como el LB y el Mo pueden ser células importantes en la patogenia de la enfermedad, no solo por el efecto secundario generado por su papel inmunológico —como son su capacidad de producir autoanticuerpos (42) o generar complejos inmunes (15)—, por la liberación de metabolitos reactivos del oxígeno producto de la fagocitosis o por su capacidad de convertirse a osteoclasto (43), respectivamente, sino por su adicional potencial producción de IL-1b en respuesta a las citocinas presentes en el medio (44).

El presente estudio realizado en LB y Mo aislados de mononucleares de sangre periférica aporta datos orientadores sobre la definición del papel de estas células en la enfermedad periodontal con relación a las concentraciones de IL-1b producidos espontáneamente y como respuesta a la activación con LPS.

Uno de los principales hallazgos de esta investigación fue la producción de concentraciones basales de IL-1b observadas en los tres grupos estudiados, por ambos tipos celulares, los cuales natural y espontáneamente producen la citocina como la harían regularmente en la sangre frente a procesos fisiológicos normales, que incluyen: su papel en la respuesta de anticuerpos

contra antígenos T dependientes, la promoción de la respuesta de linfocitos T ayudadores antígeno específicos que median la relación célula T-célula presentadora de antígeno (45), su papel proangiogénico (46) y la promoción de la proliferación de clases Th2 *in vitro*.

Por otro lado, en la literatura se habla de una posible sensibilización o activación previa de las células sanguíneas, por la presencia de bajas cantidades de LPS en el torrente circulatorio, producto del paso de bacterias o factores de virulencia de la cavidad oral a la sangre en procesos fisiológicos, como la masticación o incluso por el cepillado normal (47).

En general, la presencia de enfermedad periodontal agresiva o crónica se ha asociado con concentraciones elevadas de IL-1b localmente en la encía y sistémicamente en la sangre periférica; pero nuestros hallazgos mostraron que en los pacientes con periodontitis crónica incluidos en esta investigación los LB de la sangre periférica tenían cantidades de citocina más bajas en ausencia del estímulo, comparado con los otros grupos de estudio.

Frente a este hallazgo es posible proponer diversas hipótesis. La primera de ellas es la de la *reprogramación celular*, anteriormente denominada tolerancia a la endotoxina (48), en este caso en el LB, sustentada por el hecho de la cronicidad de la infección principalmente por *P. gingivalis* y generada por el continuo contacto de la endotoxina de la bacteria que alcanza el torrente circulatorio. Frente a este fenómeno se ha descrito una hiporrespuesta de las células en la sangre periférica, en cuanto a la producción de diferentes citocinas (entre ellas IL-1b, IL-6 y TNF-a *ex vivo*), explicada por una modulación de la vía de señalización, una actividad reducida del receptor intracelular asociado a cinasas y una concentración y expresión reducida del receptor TLR4 (49).

Segundo, se ha reportado el agotamiento clonal de células T (50) y B (51) como un mecanismo de tolerancia básica del microorganismo para escapar del papel protector de las células inmunológicas. Gracias a su plasticidad, las células T y B adoptan dinámicamente cambios de fenotipo que las lleva a un estado disfuncional caracterizado por la baja capacidad proliferativa y función efectora (producción de citocinas o anticuerpos). No se sabe la causa exacta de ello, pero se considera que las cargas persistentes del antígeno y la exposición prolongada lo favorecen (50). El fenómeno de agotamiento clonal (*clonal exhaustion*) ha sido descrito en algunas infecciones crónicas por vi-

rus (52), bacterias (51) o parásitos (53,54). Posiblemente los LB de los pacientes con periodontitis crónicas con persistencia del antígeno como *P. gingivalis*, entre otros periodontopatógenos, padezcan tal efecto.

En relación con la similitud en la producción basal de IL-1 β por LB de pacientes sanos/gingivitis y periodontitis agresiva generalizada, nuestros resultados son diferentes a lo reportado por Jagannathan y colaboradores, en el 2009 (55), quienes encuentran una mayor producción basal de la citocina por LB de pacientes con periodontitis agresiva localizada, al ser comparados con pacientes sanos. Tres diferencias en el diseño impiden contrastar los dos estudios: el diagnóstico de la patología (generalizada *versus* localizada), la edad de los pacientes (19-40 *versus* menores de 13 años) y el tiempo de cultivo, que fue mayor (48 horas) en nuestro estudio que en el reporte de Jagannathan (24 horas).

Aunque existe evidencia preliminar de que las células B *in vivo* pueden participar en la patogenia de enfermedades infecciosas, se piensa que la capacidad que tienen los LB de producir citocinas proinflamatorias incluidas IL-1, IL-6, IL-8 y TNF, más que iniciar un proceso patológico, cumple un rol amplificador de la respuesta inmune (56-57). A este respecto, en el presente estudio se halló que, en respuesta al activador, los LB de los tres grupos aumentaron su producción de IL-1 β ; pero solo en el grupo de periodontitis crónica el incremento alcanzó cifras significativas, aunque muy por debajo de la producción por Mo. Sin embargo, es importante mencionar que este aumento adquirió valores significativos por la baja producción basal de la citocina en este grupo.

Lo anterior podría sugerir que el mecanismo mediante el cual los LB producen el daño tisular no se relaciona con su capacidad de producir IL-1 β . Se ha descrito que la estimulación de TLR4 promueve la maduración del LB (58). De acuerdo con lo observado en este estudio, no se puede descartar que los linfocitos B purificados de sangre periférica de los pacientes con periodontitis crónica, que estuvieron en cultivo en presencia del LPS, hayan experimentado un cambio de fenotipo con la consecuente producción de citocinas reguladoras, como la IL-10, que pudieran modular la producción de IL-1 β de otras células activadas productoras de dicha citocina. Ejemplo de estas células son las B1a presentes e incrementadas en tejidos gingivales de periodontitis crónicas y productoras de IL-10 (59-61). Posiblemente, con este resultado se supone lo que podría pasar localmente con el paso de células B circulantes sensibilizadas que llegan al tejido gingival, con un fenotipo

autorreactivo descrito o que, al encontrarse con el microorganismo, es cuando se da el cambio de dicho fenotipo.

En relación con los Mo, pocos estudios reportan su relación directa con la patogenia del daño en periodontitis (62-64). A pesar del consenso de que son los fagocitos mononucleares la principal fuente de IL-1 β en respuesta a productos bacterianos, en especial al LPS (65), a citocinas como TNF- α , por acción autocrina de IL-1 β o por contacto directo con las células T CD4 $^{+}$ (5), a nivel tisular se sugiere que la mayor fuente de IL-1 en procesos patológicos del periodonto pueden ser los linfocitos y no los macrófagos (56,66).

Contrario a lo publicado por McFarlane y colaboradores (67), quienes reportaron una mayor producción basal de IL-1 β por Mo de pacientes con enfermedad periodontal (crónica y agresiva), y similar a lo encontrado por Garrison (66) en el presente estudio, se encontró que la producción basal de IL-1 β por Mo de sangre periférica no varía con relación al estado periodontal y que, en respuesta al activador, el incremento en las concentraciones de la citocina es significativo, pero no hay diferencias entre los grupos. Así, en todos los grupos, independientemente del diagnóstico periodontal, los Mo tendrían la misma capacidad de respuesta ante una eventual infección (25).

McFarlane y colaboradores (67) discuten en su artículo que las diferencias encontradas en la producción basal de IL-1 β en Mo de pacientes con enfermedad periodontal y sin esta, con relación a otras publicaciones, pueden atribuirse a las diferencias en los criterios de selección de los pacientes. Sin embargo, en la literatura sobre el tema se observa que, a pesar de la similitud de las características clínicas de los grupos de pacientes periodontales estudiados (presencia de sangrado, pérdida de niveles de inserción y presencia de bolsas periodontales profundas), la respuesta inmunológica puede ser distinta según el estadio de progresión o estabilidad de la lesión en el momento de incluir al paciente en el estudio. Por otra parte, las características clínicas de la lesión, en términos de profundidad de bolsa y pérdida de niveles de inserción clínica, parece no ser determinante de las características inflamatorias detectadas, medidas en cantidades de IL-1 β . Es importante mencionar que las características clínicas de los pacientes incluidos en el presente estudio son muy similares a las de los pacientes del estudio de McFarlane y colaboradores.

De igual forma que lo mencionado para los LB, la sensibilización previa podría explicar las concentraciones

basales de la citocina por los Mo en cultivo (47), así como el hecho de que en presencia del activador en un segundo contacto y a mayor concentración de LPS, se aumente la producción de IL-1b (68).

La producción de IL-1b en presencia del LPS fue mayor por los Mo que por los LB en los tres grupos de estudio. Igual que en este trabajo, se han reportado investigaciones por citometría de flujo en sangre periférica (68) e inmunohistoquímica (69), donde se ha identificado al monocito como la célula con mayor producción de IL-1b.

El macrófago, principal fuente de IL-1b, es un potencial participante en la destrucción ósea observada en la periodontitis; sin embargo, se conoce que esta no es la célula predominante en las lesiones avanzadas de la enfermedad periodontal. Hoy en día se acepta que la lesión tisular avanzada en periodontitis es una lesión predominada por células B (15,16), aunque no es claro cómo ninguno de los dos grupos celulares anteriores contribuye al daño observado en la enfermedad. Según los resultados de la presente investigación, se sugiere que, aun cuando los macrófagos no son las células predominantes en el tejido periodontal afectado, la alta capacidad de producir IL-1b después del estímulo, le daría un importante papel en la destrucción tisular mediada por esta citocina.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados de este estudio se concluye que la producción de IL-1b por LB en el estado basal está significativamente disminuida en pacientes con PC, cuando se compara con pacientes sanos y con PAg, lo cual sugiere una hiporrespuesta inmune sistémica en este grupo de pacientes. Sin embargo, una vez son estimulados con LPS, se activa la producción de IL-1b a concentraciones similares a las de otros grupos estudiados. La producción de IL-1b por LB y Mo de sangre periférica, activados con LPS, no varía con relación al estado periodontal, lo cual sugiere que no hay predisposición a producir mayores cantidades de la citocina en pacientes con la enfermedad. La capacidad de los LB para producir IL-1b en respuesta al estímulo con LPS es limitada comparada con los Mo.

REFERENCIAS

1. Joe B, Borke J, Keskinetepe M, Hanes P, Mailhot J, Singh B. Interleukin-1beta regulation of adhesion molecules on human gingival and periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol*. 2001 Jul; 72(7): 865-70.
2. Dinarello CA. Modalities for reducing interleukin-1 activity in disease. *Immunol Today*. 1993 Jun; 14(6): 260-64.
3. Alexander MB, Damoulis D. The role of cytokines in the pathogenesis of periodontal disease. *Curr Opin Periodontol*. 1994: 39-53.
4. Deo V, Bhongade ML. Pathogenesis of periodontitis: role of cytokines in host response. *Dent Today*. 2010 Sep; 29(9): 60-2.
5. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008 Aug; 79(8Suppl): 1569-76.
6. Ebersole J, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol* 2000. 2000 Jun; 23: 19-49.
7. Figueredo CM, Ribeiro MS, Fischer RG, Gustafsson A. Increased interleukin-1beta concentration in gingival crevicular fluid as a characteristic of periodontitis. *J Periodontol*. 1999 Dec; 70(12): 1457-63.
8. Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Allison AC. Measurement of interleukin-1a and -1b in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1990 May; 25(3): 156-63.
9. Mogi M, Otogoto J, Ota N, Inagaki H, Minami M, Kojima K. Interleukin 1b, interleukin 6, β_2 -microglobulin, and transforming growth factor- α in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Arch Oral Biol*. 1999 Jun; 44(6): 535-9.
10. Kabashima H, Maeda K, Iwamoto Y, Hirofuji T, Yoneda M, Yamashita K, Aono M. Partial characterization of an interleukin-1-like factor in human gingival crevicular fluid from patients with chronic inflammatory periodontal disease. *Infect Immun*. 1990 Aug; 58(8): 2621-7.
11. Hou LT, Liu CM, Liu BY, Lin S-J, Liao C-S, Rosomando EF. Interleukin-1b, clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsied gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res*. 2003 Jun; 38(3): 247-54.
12. McGee JM, Tucci MA, Edmundson TP, Serio CL, Johnson RB. The relationship between concentrations within gingiva and the adjacent sulcular depth. *J Periodontol*. 1998 Aug; 69(8): 865-71.
13. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1beta (IL-1

- beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontol Res*. 1989 Nov; 24(6): 362-7.
14. Nakae S, Asano M, Horai R, Sakaguchi N, Iwakura Y. IL-1 enhances T cell-dependent antibody production through induction of CD40 ligand and OX40 on T cells. *J Immunol*. 2001 Jul; 167(1): 90-7.
 15. Tew J, Engel D, Mangan D. Polyclonal B cell activation in periodontitis. *J Periodontol Res*. 1989 Jul; 24(4): 225-41.
 16. Seymour G, Powell RN, Davies WI. Conversion of a stable T-cell lesion to a progressive B-cell lesion in the pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: a hypothesis. *J Clin Periodontol*. 1979 Oct; 6(5): 267-77.
 17. De Sanctus M, Zucchelli G. Interleukin-1 gene polymorphisms and long-term stability following guided tissue regeneration therapy. *J Periodontol*. 2000 Apr; 71(4): 606-13.
 18. Engebretson SP, Lamster IB, Herrera-Abreu M, Celenti RS, Timms JM, Chaudhary AG, di Giovine FS, Kornman KS. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol*. 1999 Jun; 70(6): 567-73.
 19. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A taq I polymorphism in the human interleukin 1-beta gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest*. 1992 Jun; 22(6): 396-402.
 20. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997 Jun; 14: 112-43.
 21. Mark LL, Haffajee AD, Socransky SS, Kent RL Jr, Guerrero D, Kornman K, Newman M, Stashenko P. Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1b expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontol Res*. 2000 Jun; 35(3): 172-7.
 22. Laine L, Farré MA, González G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, Crusius JB, Vanderbroucke JP, van Winkelhoff AJ, Peña AS. Polymorphisms of the Interleukin -1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res*. 2001 Aug; 80(8): 1695-9.
 23. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand*. 1964 Feb; 22: 121-35.
 24. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec; 4(1): 1-6.
 25. Hogquist K, Unanue E, Chaplin D. Release of IL-1 from mononuclear phagocytes. *J Immunol*. 1991 Oct; 147(7): 2181-6.
 26. Sims JE. IL-1 and IL-18 receptors, and their extended family. *Curr Opin Immunol*. 2002 Feb; 14(1): 117-22.
 27. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003 Mar; 74(3): 391-401.
 28. Page R, Schroeder H. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976 Mar; 34(3): 235-49.
 29. Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ. Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13(1): 17-34.
 30. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996 Nov; 1(1): 821-78.
 31. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol* 2000. 1997 Jun; 14: 33-53.
 32. Fransson C, Mooney J, Kinane DF, Berglundh T. Differences in the inflammatory response in young and old human subjects during the course of experimental gingivitis. *J Clin Periodontol*. 1999 Jul; 26(7): 453-60.
 33. Lins RD, Figueiredo CR, Queiroz LM, da Silveira EJ, Freitas R de A. Immunohistochemical evaluation of the inflammatory response in periodontal disease. *Braz Dent J*. 2008; 19(1): 9-14.
 34. Fujita S, Takahashi H, Okabe H, Ozaki Y, Hara Y, Kato I. Distribution of natural killer cells in periodontal diseases: an immunohistochemical study. *J Periodontol*. 1992 Aug; 63(8): 686-9.
 35. Yamazaki K, Ohsawa Y, Yoshie H. Elevated proportion of natural killer T cells in periodontitis lesions: a common feature of chronic inflammatory diseases. *Am J Pathol*. 2001 Apr; 158(4): 1391-8.
 36. Suárez L, Ocampo A, Dueñas RE, Rodríguez A. Relative proportions of T-cell subpopulations and cytokines that mediate and regulate the adaptive immune response in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2004 Sep; 75(9): 1209-15.
 37. Séguier S, Godeau G, Brousse N. Collagen fibers and inflammatory cells in healthy and diseased human gingival tissues: a comparative and quantitative study by immunohistochemistry and automated image analysis. *J Periodontol*. 2000 Jul; 71(7): 1079-85.
 38. Malberg K, Mölle A, Streuer D, Gängler P. Determination of lymphocyte populations and subpopula-

- tions extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. *J Clin Periodontol.* 1992 Mar; 19(3): 155-8.
39. Lappin DF, Koulouri O, Radvar M, Hodge P, Kinane DF. Relative proportions of mononuclear cell types in periodontal lesions analyzed by immunohistochemistry. *J Clin Periodontol.* 1999 Mar; 26(3): 183-9.
 40. Yamazaki K, Nakajima T, Aoyagi T, Hara K. Immunohistological analysis of memory T Lymphocytes and activated B lymphocytes in tissues with periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1993 Sep; 28(5): 324-34.
 41. Cobb CM, Singla O, Feil PH, Theisen FC, Shultz RE. Comparison of NK-cell (Leu-7+ and Leu-11b+) populations in clinically healthy gingival, chronic gingivitis and chronic adult periodontitis. *J Periodontal Res.* 1989 Jan; 24(1): 1-7.
 42. Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG. Polyclonal B cell activators and in Vitro induction of auto-antibody reactive with collagen. *J Periodontal Res.* 1997 Oct; 32(7): 608-13.
 43. Mörmann M, Thederan M, Nackchbandi I, Giese T, Wagner C, Hänsch GM. Lipopolysaccharides induce the differentiation of human monocytes to osteoclast in tumor necrosis factor (TNF) alpha-dependent manner: A link between infection and pathological bone resorption. *Mol Immunol.* 2008 Jul; 45(12): 3330-7.
 44. Seymour GJ, Gemmell E, Reinhardt RA, Eastcott J, Taubman MA. Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J Periodontal Res.* 1993 Nov; 28(6 Pt 2): 478-86.
 45. Nakae S, Asano M, Horai R, Iwakura Y. Interleukin-1 beta, but not interleukin-1 alpha, is required for T-cell-dependent antibody production. *Immunology.* 2001 Dec; 104(4): 402-9.
 46. Naldini A, Carraro F. Role of inflammatory mediators in angiogenesis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005 Feb; 4(1): 3-8.
 47. Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH. Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol.* 2002 Jan; 73(1): 73-8.
 48. Cavillon JM, Adrie C, Fitting C, Adib-Conquy M. Reprogramming of circulatory cells in sepsis and SIRS. *J Endotoxin Res.* 2005 Oct; 11(5): 311-20.
 49. Buttenschoen K, Kornmann M, Berger D, Leder G, Beger HG, Vasilescu C. Endotoxemia and endotoxin tolerance in patients with ARDS. *Langenbecks Arch Surg.* 2008 Jul; 393(4): 473-8.
 50. Han S, Asoyan A, Rabenstein H, Nakano N, Obst R. Role of antigen persistence and dose for CD4+T cell exhaustion and recovery. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010 Nov; 107(47): 20453-8.
 51. Melancon-Kaplan J, Gronvik KO, Murgita RA. Selective impairment of B cell function by *Neisseria meningitides*. *Cell Immunol.* 1986 Jun; 100(1): 247-59.
 52. Wherry EJ, Ha SJ, Kaeh SM, Haining WN, Sarkar S, Kalia V, Subramaniam S, Blattman JN, Barber DL, Ahmed R. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity.* 2007 Oct; 27(4): 670-84.
 53. Corsini AC, Clayton C, Askonas BA, Ogilvie BM. Suppressor cells and loss of B cell potential in mice infected with *Trypanosoma brucei*. *Clin Exp Immunol.* 1977 Jul; 29(1): 122-31.
 54. Bockstal V, Guirnalda P, Caljon G, Goenka R, Telfer JC, Frenkel D, Radwanska M, Magez S, Black SJ. *T brucei* infection reduces B lymphopoiesis in bone marrow and truncates compensatory splenic lymphopoiesis through transitional B cell apoptosis. [PLoS Pathog.](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002089) 2011 Jun; 7(6): e1002089.
 55. Jagannathan M, Hasturk H, Liang Y, Shin H, Hetzel JT, Kantarci A, Rubin D, McDonnell ME, Van Dyke TE, Ganley-Leal LM, Nikolajczyk BS. TLR cross-talk specifically regulates cytokine production by cells from chronic inflammatory disease patients. *J Immunol.* 2009 Dec; 183(11): 7461-70.
 56. Pistoia V. Production of cytokines by human B cells in health and disease. *Immunol Today.* 1997 Jul; 18(7): 343-50.
 57. Emingil G, Karaarslan F, Keskinoglu A, Coker I, Atila G. Phenotypic and functional analysis of peripheral blood mononuclear cells in generalized aggressive and chronic periodontitis patients. *J Int Acad Periodontol.* 2001 Oct; 3(4): 87-94.
 58. Hayashi EA, Granato A, Paiva LS, Bertho AL, Bellio M, Nobrega A. TLR4 promotes B cell maturation: independence and cooperation with B lymphocyte-activating factor. *J Immunol.* 2010 May; 184(9): 4662-72.
 59. Berglundh T, Lijenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. The presence of local and circulating autoreactive B cells in patients with advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2002 Apr; 29(4): 281-6.
 60. Donati M, Liljenberg B, Zitzmann UN, Berglundh T. B-1a cells and plasma cells in periodontitis lesions. *J Periodontal Res.* 2009 Oct; 44(5): 683-8.
 61. Donati M, Liljenberg B, Zitzmann UN, Berglundh T. B-1a cells in experimental gingivitis in humans. *J Periodontol.* 2009 Jul; 80(7): 1141-5.

62. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1991 Aug; 18(7): 548-54.
63. Preiss DS, Meyle J. Interleukin-1 beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994 May; 65(5): 423-8.
64. Heasman PA, Collins JG, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, Thromboxane B2 and tumor necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res.* 1993 Jul; 28(4): 241-7.
65. Kelk P, Claesson R, Chen C, Sjöstedt A, Johansson A. IL-1beta secretion induced by *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* is mainly caused by the leukotoxin. *Int J Med Microbiol.* 2008 Jul; 298(5-6): 529-41.
66. Garrison SW, Nichols FC. LPS-elicited secretory responses in monocytes: altered release of PGE2 but not IL-1 beta in patients with adult periodontitis. *J Periodontal Res.* 1989 Mar; 24(2): 88-95.
67. McFarlane CG, Reynolds JJ, Meikle MC. The release of interleukin 1 beta, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis. *J Periodontal Res.* 1990 Jul; 25(4): 207-14.
68. Nakamura T, Nitta H, Ishikawa I. Effect of low dose *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide pretreatment on cytokine production by human whole blood. *J Periodontal Res.* 2004 Apr; 39(2): 129-35.
69. Hsi ED, Remick DG. Monocytes are the major producers of interleukin-1 beta in an ex vivo model of local cytokine production. *J Interferon Cytokine Res.* 1995 Jan; 15(1): 89-94.

Adriana Cuéllar Ávila
acuellar@javeriana.edu.co

Adriana Rodríguez Cíodaro
arodrig@javeriana.edu.co

CORRESPONDENCIA

Lina Janeth Suárez Londoño
lijsuarezlo@unal.edu.co

María Teresa Bernal Guio
mtbernal79@hotmail.com

Juliana Salazar Fenger
matimajo2011@hotmail.com

Nelly Stella Roa Molina
nelly.roa@javeriana.edu.co

Ángela Patricia Fonseca Gutiérrez
angela.fonseca@hus.org.co