

Medicentro 2000;4(1)

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS
"DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ"
SANTA CLARA, VILLA CLARA

ARTÍCULO ORIGINAL

Inmunidad celular periférica en pacientes con gingivitis crónica y periodontitis de aparición temprana y tardía

Por:

Dra. Elia Merle China Meneses¹, Dr. Vicente J. Hernández Moreno², Dra. Odisa García Reguera³, Dra. Caridad Molina Hernández², Dra. Felisa Veitia Cabarrocas³, y Téc. Noevia Artilles Martínez⁴

1. Especialista de II Grado en Periodoncia.
2. Especialista de I Grado en Inmunología.
3. Especialista de I Grado en Periodoncia.
4. Técnico en Laboratorio Clínico.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la inmunidad celular, se realizó un estudio descriptivo en pacientes afectados por gingivitis crónica y periodontitis de comienzo temprano y tardío, entre octubre de 1997 y abril de 1998. La muestra estuvo conformada por 57 personas de ambos sexos, en edades entre 15 y 55 años, y se siguieron rigurosos criterios de selección: Grupo I (sanos), Grupo II (gingivitis crónica), Grupo III (periodontitis de comienzo tardío) y Grupo IV (periodontitis de comienzo temprano). Se cuantificaron las subpoblaciones de linfocitos CD_3^+ , CD_4^+ , CD_8^+ e índice CD_4/CD_8 , y fueron utilizados los anticuerpos monoclonales mediante una técnica diagnóstica (OPTI-CIM), para la cuantificación de las subpoblaciones de linfocitos. El estado periodontal se evaluó clínicamente en todos los casos, y se calcularon los índices gingivales y de placa de Löe y Silness, así como la profundidad al sondeo y el estudio radiográfico de los enfermos. Se observó un similar deterioro de la inmunidad celular periférica (células CD_3^+ y CD_4^+) en los grupos afectados. Sin embargo, en estos mismos pacientes las células CD_8^+ se mantuvieron dentro de rangos normales, al igual que el índice CD_4/CD_8 . No se pudo observar en los grupos afectados cambios significativos en las subpoblaciones. Sugerimos investigar las subpoblaciones CD_3^+ , CD_4^+ y CD_8^+ en tejidos gingival y fluido, y realizar un estudio longitudinal para observar la variación del estado de la inmunidad celular y su evolución ante el tratamiento.

Descriptores DeCS: inmunidad celular, gingivitis/inmunología, periodontitis/inmunología

SUMMARY

A descriptive study was carried out in patients suffering from chronic gingivitis and periodontitis of early and late onset between October, 1997 and April, 1998 to evaluate cellular immunity. The sample was

composed of 57 subjects of both sexes and an age range of 15 to 55 years who were divided into four groups according to strict choice criteria: Group I (healthy), Group II (chronic gingivitis), Group III (periodontitis of late onset), and Group IV (periodontitis of early onset). CD_3^+ , CD_4^+ and CD_8^+ lymphocyte subpopulations and CD_4/CD_8 rate were estimated and monoclonal antibodies were used with a diagnostic technique (OPTI-CIM) for lymphocyte subpopulation estimation. Periodontal status was clinically assessed in all the cases according to gingival, Loe's and Silness' plaque indices, as well as pocket depth and radiographic study of patients. A similar deterioration of peripheral cellular immunity (CD_3^+ and CD_4^+ cells) was found in the affected groups. However, in these patients CD_8^+ cells were within normal ranges, as well as CD_4/CD_8 rate. Significant changes in subpopulations were not seen in the affected groups. A study of CD_3^+ , CD_4^+ and CD_8^+ subpopulations in gingival tissue and fluid, and a longitudinal study to assess variability of cellular immunity status and its course with the therapy are suggested.

Subject headings: gingivitis/immunology, periodontitis/immunology, immunity, cellular

INTRODUCCIÓN

La salud y la enfermedad periodontal son el resultado de una compleja interacción entre la agresión bacteriana y la respuesta defensiva del huésped. El equilibrio entre estos dos factores puede romperse por la colonización de periodontopatógenos, la disfunción del sistema inmune o por ambos; además, en la actualidad ha cobrado gran valor el descubrimiento de un marcador genético que está altamente asociado con el incremento del riesgo a padecer la enfermedad periodontal¹. La expresión clínica de la enfermedad está modulada por la respuesta del huésped, y datos recientes indican que la misma, tanto local como sistémica a los antígenos bacterianos, desempeña un importante papel en la patogenia de la enfermedad periodontal. Aún antes de existir manifestaciones clínicas de la enfermedad, las reacciones inmunológicas comienzan a involucrarse, primeramente los leucocitos polimorfonucleares y, subsecuentemente se incluyen los linfocitos T y B, así como anticuerpos y macrófagos^{2,3}. Hoy se conoce que los microorganismos son necesarios para iniciar el proceso inflamatorio al acumularse en el borde gingival, y se ha responsabilizado, fundamentalmente, al *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), la *Porphyromona gingivalis* (p.g) y al *Bacteroides forsythus* (B.f), muchos de ellos miembros de la flora comensal bucal, como las más importantes especies que intervienen en la aparición de la enfermedad periodontal inflamatoria crónica, aunque pueden participar otras bacterias y quizás algunos herpes virus^{1,2,4}. Pero se ha demostrado que los gérmenes no son suficientes, por sí mismos, para causar periodontitis; ello ocurre sólo en ocasiones, a pesar de que se cree que la gingivitis siempre precede a la periodontitis, y ésta cursa en períodos de actividad interrumpida⁵.

Actualmente se le confiere a la inmunidad celular gran importancia en la respuesta del huésped; las células T son los componentes principales por su enorme representación en los tejidos enfermos⁶⁻⁸. La mayoría de las células T expresan un receptor que reconoce los antígenos procesados. Los linfocitos T liberan gran variedad de citoquinas como consecuencia de su activación; son células que frente a una apariencia similar tienen funciones muy diferentes, y han sido denominadas "cerebros" de la respuesta inmune, ya que alrededor de ellas gira la misma. Los linfocitos T están capacitados para reconocer lo ajeno al organismo mediante la especificidad, y poseen memoria para almacenar información sobre el agente agresor; su circulación, a diferencia del polimorfonuclear, es más compleja, pues van de la médula ósea a la sangre, previa maduración en el timo. De la sangre pasan a los ganglios linfáticos, bazo y estructuras linfoides extraganglionares^{6,8}. En la década del 70, la disponibilidad de marcadores de anticuerpos de la superficie celular permitió realizar estudios en los que se pudo determinar la existencia de dos categorías mayores de linfocitos T: los CD_4^+ y los CD_8^+ ⁷. Cualquier desviación de una de las dos categorías mayores de linfocitos pudiera causar disturbios en la respuesta del huésped, y predisponer a la enfermedad periodontal inflamatoria crónica⁹. Basados en la clasificación de Page y Schroeder en 1982¹⁰ se han podido establecer dos categorías de periodontitis: las de comienzo temprano y las de comienzo tardío, de acuerdo con criterios sustentados en las características clínicas y radiográficas, edad de comienzo e historia natural de la enfermedad. Estas formas tempranas incluyen a las periodontitis prepuberal, juvenil y rápidamente

progresiva; la de comienzo tardío, la forma de la periodontitis del adulto^{11,12}. En nuestro estudio hemos tomado estos criterios, teniendo en cuenta su aplicación a nivel mundial; pero al estudiar a los mayores de 15 años, hemos excluido la periodontitis prepuberal, la cual es de muy baja prevalencia.

Los métodos diagnósticos tradicionales a los que tenemos acceso en nuestro medio, se limitan al examen clínico y radiográfico de las lesiones, los que no nos permiten distinguir individuos susceptibles a padecer periodontitis o el posible agravamiento de la enfermedad que ya está en curso. Estas razones, aunadas a la disponibilidad para usar los anticuerpos monoclonales, nos han hecho concebir la presente investigación, que va encaminada a evaluar la inmunidad celular periférica en pacientes afectados de gingivitis crónica y periodontitis de aparición temprana y tardía, con el propósito de consolidar el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad periodontal, que nos permita aplicar medidas preventivas y terapéuticas más certeras en pacientes en los que se determine una respuesta inmune subóptima.

MÉTODOS

La presente investigación constituye un estudio descriptivo de la población de estudio, la cual estuvo conformada por 57 personas de ambos sexos, con edades oscilantes entre 15 y 55 años, en el período comprendido entre octubre de 1997 y abril de 1998, que fueron recepcionados en el Servicio de Periodoncia del Hospital Universitario "Arnaldo Milián Castro". De ellos, 30 eran individuos general y periodontalmente sanos, 10 estaban afectados por gingivitis crónica, 10 por la forma tardía de periodontitis, y 7 presentaban formas tempranas de esta última enfermedad.

Su estado periodontal fue determinado clínicamente en la totalidad de los individuos y radiográficamente en los enfermos, lo que nos permitió clasificarlos en cuatro grupos:

Grupo I: Control (sanos).

Grupo II: Gingivitis crónica.

Grupo III: Forma tardía de periodontitis.

Grupo IV: Forma temprana de periodontitis.

Los criterios de selección de los pacientes se basaron en los siguientes requisitos generales:

Desear participar en la investigación, y manifestarlo en forma oral y escrita.

Reunir los criterios particulares de uno de los grupos.

Tener entre 15 y 55 años.

No haber recibido tratamiento periodontal en los seis meses anteriores.

No padecer ninguna afección general que modifique la reacción inmune.

No estar bajo tratamiento medicamentoso con inmunomoduladores, inmunosupresores, antibióticos u otros que produzcan hiperplasia gingival.

No haber padecido ninguna afección aguda en los tres meses anteriores a la toma de muestra sanguínea.

No estar embarazada.

Tener más del 70 % de los dientes presentes (21 dientes).

Se consideraron los siguientes criterios particulares para cada uno de los grupos:

Grupo I: Control (sanos).

Índice gingival de Löe y Silness (IG) con valor de 0-01.

Profundidades al sondeo menores de 3 mm.

Sin antecedentes de haber padecido periodontitis.

Grupo II: Gingivitis crónica.

Índice gingival entre 1,1 y 3,0.

Edades entre 15 y 55 años.

Profundidades al sondeo hasta 4 mm.

Sin signos radiográficos de pérdida ósea.
Sin antecedentes de haber padecido periodontitis.

Grupo III: Forma tardía de periodontitis.

Índice gingival entre 1,1 y 3,0.
Edades entre 35 y 55 años.
Profundidades al sondeo de 5 mm o más, al menos una bolsa en cada cuadrante o dos o más bolsas en dos cuadrantes.
Pérdida de hueso entre el 20 y 30 %.

Grupo IV: Formas tempranas de periodontitis.

Índice gingival de 0,1 a 3,0.
Edades entre 15 y 30 años.
Profundidades al sondeo de más de 5 mm, al menos una bolsa en cada cuadrante, o dos o más bolsas en dos cuadrantes.
Pérdida de hueso de más del 30 %.

Procedimiento para la recolección de datos clínicos y de laboratorio:

Las valoraciones clínicas se realizaron en un sillón dental, con la iluminación artificial adecuada y la utilización de espejo bucal plano y sonda periodontal de Williams.
Se comenzó por el índice de placa de Silness y Løe (IP); seguidamente se efectuó el índice de Løe y Silness (IG), y posteriormente se realizó la medición de la profundidad al sondeo al milímetro más cercano, que realizamos en cada cara del diente y se anotó sólo la mayor profundidad encontrada.
A continuación, mediante la técnica de bisectriz, se tomaron las radiografías periapicales de todos los dientes a los pacientes que formaron parte de los tres grupos afectados, para conocer la presencia o ausencia de pérdida ósea; posteriormente se envió el paciente seleccionado al Laboratorio de Inmunología del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara, donde se le extrajo sangre por venopuntura, con el objetivo de determinar las subpoblaciones de linfocitos T en sangre periférica.

Procedimiento de laboratorio:

Se cuantificaron las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica mediante la técnica OPTI-CIM.

Obtención de células mononucleares periféricas¹³:

La sangre periférica fue coleccionada en un medium RPMI heparinizado (aproximadamente iguales volúmenes de sangre y de medium). Las células mononucleares fueron aisladas por centrifugación en un Ficoll-Isopaque o en un medio de separación similar. Las células fueron contadas y su concentración se ajustó a 10^6 células/ml de PBS. Fueron aplicados 10 microlitros de la suspensión de células a cada pozo (círculo) en las láminas de gelatina coaguladas. Las láminas fueron secadas al aire, y las células incubadas con 10 microlitros de anticuerpo monoclonal durante 20 minutos a temperatura ambiente, seguido por la adición de 10 microlitros de conjugado antirratón en carnero con fosfatasa alcalina durante 20 minutos a temperatura ambiente. Subsecuentemente fueron aplicados 10 microlitros de conjugado anticarnero en conejo con fosfatasa alcalina por 20 minutos a temperatura ambiente. Luego se aplicó 10 microlitros de la solución sustrato cromógeno a cada muestra, y fue incubado durante 5 minutos a temperatura ambiente. Las células fueron fijadas con 37 % vapores de formol por 10 minutos. Los núcleos fueron coloreados con solución de verde metilo a 37°C por 10 minutos. Se montaron las láminas con gelatina-glicerina y se contaron las células positivas por un mínimo de 200 células en un microscopio de luz con aumento de 40x o inmersión de 100x.
El conteo absoluto de células T CD₄⁺ puede ser calculado como un producto del porcentaje de linfocitos T CD₄⁺ y del conteo absoluto de linfocitos T determinados por un análisis hematológico. La cantidad de células positivas se determina por conteo de los linfocitos teñidos, y se calcula el por ciento de los teñidos respecto a los no teñidos. En este laboratorio, los valores normales para cada una de las

subpoblaciones se determinaron en un grupo de 30 pacientes sanos, tanto desde el punto de vista general como periodontal.

Los rangos de valores normales para determinar las subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica en este grupo fueron:

CD₃⁺: 67,13 ± 8,62
 CD₄⁺: 41,57 ± 7,80
 CD₈⁺: 30,17 ± 5,36
 CD₄/CD₈: 1,38 ± 0,30

Técnica de procesamiento y análisis:

Los datos fueron procesados usando el paquete estadístico SPSS/PC para Windows, versión 6.3.1. Se utilizaron técnicas descriptivas, como frecuencias absolutas, porcentajes, medias, desviación estándar, valores máximos y mínimos. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson para ver la fortaleza o grado de asociación lineal entre algunas variables cuantitativas. Además, se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas ante la imposibilidad de probar la distribución normal y la homogeneidad de varianzas de las variables estudiadas.

Se aplicó la prueba de Kruskal Wallis para la comparación de medias de los grupos, y en caso de rechazar H₀, la U de Mann-Whitney como prueba a posteriori para detectar entre qué pares de grupos se presentaron las diferencias. En el caso de la prueba de Kruskal Wallis se consideró que existían diferencias significativas si $p < 0,05$, muy significativas si $p < 0,01$ y altamente significativas si $p < 0,001$. En las pruebas a posteriori se consideró como nivel de significación $\alpha = 0,025$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La enfermedad periodontal inflamatoria crónica (EPIC) es considerada en la actualidad como una enfermedad multicausal, en la que el control de placa y factores ambientales (hábito de fumar, entre otros) tienen un profundo efecto; sin embargo, esto no explica que cada individuo responda de forma diferente a su placa bacteriana, a bacterias específicas o al tratamiento periodontal. Estas razones hiperbolizan el papel de la respuesta del huésped en el concepto multicausal de las periodontopatías^{4,14}.

Los detalles de los mecanismos por los que los tejidos periodontales son destruidos en la EPIC, así como cuáles factores controlan la respuesta del huésped a la microbiota subgingival, no son completamente comprendidos en el presente. Aunque generalmente se acepta que las bacterias y sus productos, por sí mismos, no puedan causar una significativa destrucción de los tejidos periodontales, la respuesta del huésped y el proceso inflamatorio resultante sí están capacitados para producir una claudicación sustancial del tejido conectivo y hueso alveolar en sujetos susceptibles a padecer periodontitis¹⁴.

El conocimiento detallado de la patogenia de la EPIC, en la que se produce la destrucción de los tejidos periodontales por la activación de los diferentes componentes de la respuesta del huésped, tiene en el mismo un potencial importante para proveer la información necesaria al realizar el diagnóstico y pronóstico, a la vez que orienta hacia el tratamiento de la enfermedad en sus diferentes formas de presentación¹⁵.

En la presente investigación se muestra el comportamiento de las variables edad, sexo, índice gingival y de placa, así como la profundidad al sondeo y la proporción de dientes con pérdida ósea (tablas 1-4), datos que corroboran la meticulosa selección de los individuos estudiados, distribuidos en cuatro grupos: sanos (I), con gingivitis crónica (II), y con periodontitis de comienzo tardío (III) y temprano (IV). Hemos dirigido nuestro objetivo de estudio a la inmunidad celular, a través de las subpoblaciones de linfocitos T (CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ e índice CD₄/CD₈), mediante el empleo de anticuerpos monoclonales para su identificación, con el empleo de una técnica diagnóstica OPTI-CIM (CIMAR SA. Habana, CUBA)¹³, método alternativo de la citometría de flujo, procedimiento muy costoso y, por ende, de difícil acceso para el tercer mundo.

Tabla 1 Comportamiento de la edad según estado periodontal.

Grupos	X	DE	Edad Mínimo	Máximo	Total
I	30,07	5,09	20	40	30
II	19,58	2,08	15	24	10
III	46,00	5,50	37	54	10
IV	26,86	4,38	20	32	7
					57

X: Media

DE: Desviación estándar

X^4 de K-W = 38,15

$p = 0,000$

Grupos: I Sanos

II Gingivitis crónica

III: Formas tardías de periodontitis

IV: Formas tempranas de periodontitis.

Tabla 2 Distribución de la muestra según estado periodontal y sexo.

Grupos	Sexo			
	Femenino		Masculino	
	No.	%	No.	%
I	17	56,7	13	43,3
II	8	80	2	20
III	4	40	6	60
IV	3	42,9	4	57,1

Grupos: I Sanos

II Gingivitis crónica

III Formas tardías de periodontitis

IV Formas tempranas de periodontitis.

Tabla 3 Comportamiento de los índices gingival y de placa en los pacientes estudiados.

Grupos	IG		IP	
	X	DE	X	DE
I	0,04	0,05	0,07	0,05
II	2,30	0,26	2,61	0,34
III	2,38	0,36	2,37	0,25
IV	2,01	0,51	2,07	0,64

X de k w = 44,32
 $p = 0,000$

x de k w = 45,13
 $p = 0,000$

X: Media

DE: Desviación estándar

IG: Índice gingival

IP: Índice de placa

Grupos: I Sano

II Gingivitis crónica

III Formas tardías de periodontitis

IV Formas tempranas de periodontitis.

Tabla 4 Comportamiento de la profundidad al sondeo y proporción de dientes con pérdida ósea en los pacientes estudiados.

Grupos	Profundidad al sondeo		Proporción de dientes con pérdida ósea	
	X	DE	X	DE
I	0	0	0,00	0,00
II	3,01	0,03	0,00	0,00
III	4,30	0,76	0,84	0,18
IV	3,20	1,28	0,80	0,15

X: Media X de k w 18,00
 DE: Desviación estándar

- Grupo: I Sano
 II Gingivitis crónica
 III Formas tardías de periodontitis
 IV Formas tempranas de periodontitis.

La molécula CD₃, que se expresa en la superficie celular de los linfocitos T, está muy relacionada, tanto estructural como funcionalmente, con las moléculas receptoras de estos linfocitos, y está presente en todos los linfocitos T maduros; es decir, es un marcador pan T. El anticuerpo monoclonal ior-T₃ reconoce la molécula CD₃¹⁶.

En nuestro estudio se observó una disminución, con significación estadística de la población de linfocitos CD₃⁺ (tabla 5) en los grupos afectados con relación al sano, lo que implica depresión de la inmunidad celular periférica en estos individuos, y potencialmente los coloca en una posición de mayor susceptibilidad a contraer enfermedades infecciosas. Estos resultados concuerdan con otro informe¹⁷ y, muy en particular, con otro estudio realizado en nuestro medio por Lemus (1995), en el que fue utilizada la inmunofluorescencia como técnica de identificación de subpoblaciones linfocitarias (Lemus Corredera IG. Inmunidad celular en la gingivitis y periodontitis /tesis/. Santa Clara, 1995.

Tabla 5 Cuantificación de las células CD₃⁺, CD₄⁺, CD₈⁺ e índice CD₄/CD₈ en los diferentes grupos.

Grupos		CD ₃ ⁺	CD ₄ ⁺	CD ₈ ⁺	CD ₄ /CD ₈
I	X	67,13	41,57	30,17	1,38
	DE	4,31	3,00	2,68	0,15
	Mínimo	60	36	25	1,1
	Máximo	78	50	36	1,7
II	X	59,10	36,20	26,80	1,38
	DE	6,14	5,92	6,11	0,2
	Mínimo	50	30	20	1,1
	Máximo	66	47	37	1,8
III	X	55,40	35,80	29,30	1,29
	DE	9,77	5,67	8,41	0,30
	Mínimo	40	22	18	0,8
	Máximo	67	42	45	1,9
IV	X	58,43	37,0	27,14	1,34
	DE	7,91	5,07	7,95	0,24
	Mínimo	50	30	16	1,1
	Máximo	70	46	38	1,8
Estadígrafos	X ² de K-W	22,59	14,19	3,19	2,95
	P	0,000	0,003	0,363	0,398

X: Media
 DE: Desviación estándar

Grupos: I Sanos

II Gingivitis crónica

III Formas tardías de periodontitis.

IV Formas tempranas de periodontitis.

Además, hemos encontrado en la revisión bibliográfica realizada^{8,11} opiniones opuestas que no informan variaciones en las células CD_3^+ en sangre periférica, las que se basan en que la disfunción inmunorreguladora se circunscribe a los tejidos periodontales, sin efecto cuantitativo de estas subpoblaciones de linfocitos T en sangre periférica. A pesar de estos hallazgos contrapuestos, muchos investigadores¹⁸ siguen dirigidos a la determinación de la función que desempeñan los linfocitos T en la enfermedad periodontal, tanto en sangre periférica como en tejidos gingivales y líquido crevicular.

En el presente trabajo no se produjeron diferencias de significación estadística en la población CD_3^+ entre los grupos afectados, lo que coincide con el estudio de Lemus antes mencionado, por lo que no podemos interpretar que la cuantificación de los CD_3^+ sea un indicador de la gravedad de la enfermedad periodontal, al menos en el valor medio de los 27 pacientes afectados.

La expresión de la superficie celular de moléculas CD_4 y CD_8 divide a las células T maduras en dos subpoblaciones distintas. La expresión de estas moléculas sobre las células T es mutuamente exclusiva; algunas células T son CD_4^+ y otras CD_8^+ a nivel periférico. El anticuerpo monoclonal ior T_4 reconoce a la molécula CD_4 y el ior T_8 a la molécula CD_8 ¹⁶.

Los linfocitos CD_4^+ regulan la interacción con los linfocitos B_1 que tienen a su cargo la producción de anticuerpos y cooperan en la diferenciación de las células CD_8^+ citotóxicas a partir de sus precursores^{6,7}.

Puede decirse que la inmunidad mediada por células empeora cuando el número de células CD_4^+ disminuye, lo cual provoca un déficit en la respuesta para actuar contra antígenos⁷.

Nosotros obtuvimos una reducción significativa de estas células en los tres grupos enfermos, al compararlos con el sano, pero no hubo diferencias de consideración entre los grupos afectados. Resultados similares obtuvo Lemus en esta subpoblación; sin embargo, la disminución de los CD_4^+ sólo se obtuvo en los pacientes con periodontitis. Cabe señalar que en nuestro estudio únicamente seleccionamos pacientes con gingivitis moderada y severa, a diferencia del citado trabajo que incluyó la forma leve, lo que puede haber influido en los resultados obtenidos.

En un trabajo publicado por Gjermo en 1995⁵ se ha sugerido que la gingivitis no debe contemplarse como una enfermedad, sino más bien como una reacción fisiológica frente a la agresión de placa bacteriana, y que la periodontitis sólo aparece este mecanismo de defensa falla o no funciona de forma satisfactoria en algunos individuos (alrededor del 30 %). Sin embargo, actualmente no contamos con los medios diagnósticos para distinguir una gingivitis "peligrosa" o con posibilidades de evolucionar hacia la periodontitis.

Al analizar el dato primario de los 10 pacientes seleccionados con gingivitis, hay dos de ellos con una franca disminución de los CD_4^+ que pudiera comprometer su respuesta defensiva y dar paso a formas más graves de enfermedad periodontal, por lo que sería de interés estudiarlos longitudinalmente para corroborar nuestra hipótesis. En otros estudios realizados en sangre periférica utilizando la técnica de citometría de flujo^{8,11} no se encontraron, por el contrario, modificaciones de los CD_4^+ , a diferencia de otro informe sobre estas subpoblaciones¹⁸, realizadas en el tejido gingival y líquido crevicular, donde sí se observó disminución de interés en estas células, lo que les lleva a inferir que la inmunorregulación en la enfermedad periodontal es más local que sistémica⁷. Sin embargo, hay diversos factores en el curso de la enfermedad (fase activa o de remisión, fase aguda en la periodontitis rápidamente progresiva, por ejemplo) que puede modificar los resultados obtenidos en una única observación. Por lo tanto, reiteramos la opinión de que se precisan estudios longitudinales que revelen la evolución clínica e inmunológica de estos pacientes y su respuesta al ser tratados y, de hecho, esclarecer más nuestros criterios cuantitativos en sangre periférica, antes de descartar totalmente el método aplicado.

Dentro de los linfocitos T CD_8^+ existen dos subgrupos: el primero con función citotóxica, que puede ser responsable de gran parte de los daños hísticos que ocurren a nivel del periodonto, dada su función lítica de células dianas; el segundo funciona como supresor, y su efecto fundamental es mantener controlada la acción citotóxica del grupo anterior y del resto de las células del sistema inmune que participan en la respuesta celular¹⁶. Basados en estos criterios, podemos suponer que el

mantenimiento de las células T CD₈⁺ dentro de los rangos normales en nuestro estudio, se deba a un predominio de los linfocitos T supresores en sangre periférica, ya que sólo se determinó el número total de linfocitos T CD₈⁺ sin el empleo de técnicas para determinar la función de los linfocitos T CD₈⁺, ya sea citotóxica o supresora, y los citotóxicos pueden encontrarse fundamentalmente en los tejidos periodontales enfermos, como se expresó anteriormente.

En la bibliografía consultada hay resultados diferentes para sangre periférica, ya que diversos autores^{8,11,13} informan rangos normales para esta subpoblación (CD₈⁺). Por otra parte, Lemus y otros¹⁹, encontraron un aumento significativo de estas células en los pacientes afectados. Resultados tan diversos pueden entenderse por la heterogeneidad de la respuesta inmune y la enfermedad periodontal, y quizás por los diferentes métodos de cuantificación empleados por los autores citados, En numerosos trabajos^{13,18,20} por el contrario, se observan cifras elevadas de esta subpoblación en los tejidos gingivales, lo que reafirma su mayor ubicuidad a este nivel, donde ejercen su acción deletérea.

Para la armonía de la respuesta inmune no sólo es necesaria la intervención de ambas subpoblaciones celulares (CD₄⁺ y CD₈⁺), sino también se precisa una relación adecuada entre ellas (índice CD₄/CD₈)^{7,17}. Esta magnitud responde a un gran dinamismo entre estas dos subpoblaciones. Como se había planteado, existió una disminución de los linfocitos T CD₄⁺ en los pacientes enfermos, pero ésta no llega a comprometer el índice, dado que los CD₈⁺ se mantuvieron en niveles normales y no aumentaron.

En el presente trabajo no nos propusimos determinar la presencia de células asesinas naturales (NK), pues no contamos con el anticuerpo monoclonal específico para caracterizar a esta subpoblación, pero teniendo en cuenta los resultados de diferentes estudios realizados²⁰ para determinar las subpoblaciones linfocitarias presentes, llama la atención que las células asesinas naturales son responsables de la citotoxicidad celular sin sensibilización previa, y éstas son las que más variaciones sufren a nivel periférico en pacientes con EPIC, aunque aún no han sido suficientemente exploradas. Un incremento de ellas en sangre periférica puede reflejar una relación directa contra bacterias presentes en tejidos inflamados. A nivel local se ha podido determinar que estas células están aumentadas en período de inactividad de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ting M, Slots J. Microbiological diagnostics in periodontics. *Compendium* 1997;18(9):861-874.
2. Listgarden MA. Nature of periodontal disease pathogenic mechanism. *J Periodontol Res* 1987;22:172-178.
3. Breivik T, Thrane PS, Murison R, Gjermo P. Emotional stress effects on immunity gingivitis and periodontitis. *Eur J Oral Sci* 1996;104(4 part):327-334.
4. Tanner A, Maiden MFJ, Macuch PJ, Murray LI, Kent RI. Microbiota of health: gingivitis and initial periodontics. *J Clin Periodontol* 1998;25:85-98.
5. Gjermo E. Prevención primaria y secundaria de las enfermedades periodontales. *Av Odontoestomatol* 1993;11(suppl B):129-134.
6. Estefanía CF, Perona AM, Aguirre ZLA, García VF. Inmunidad y enfermedad periodontal. *Rev Vasca Odontoestomatol* 1993;3(5):26-36.
7. Engel D. Lymphocyte function in early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1996;67:332-336.
8. Muñoz IS, López JI, Crespo DA, Roselló X, Jave E. Periodontitis crónica de adultos y alteraciones inmunitarias. *An Odontoestomatol* 1996;(1):453-457.
9. Getka TP, Alexander DCC, Parker WP, Miller GA. Immunomodulatory and superantigen activities of bacteria associated with adult periodontitis. *J Periodontol* 1996;67:909-917.
10. Page RC, Schroeder HC. Periodontitis in man and other animals a comparative : review. *New York : /s.n/*; 1982.
11. Moynet P, Delamaire M, Legoff MC, Kerbaol M, Yardin M, Michel JF. Ex vivo studies of polymorphonuclear neutrophils from patients with early-onset forms of periodontitis (I): chemotactic assessment using the under agarose method. *J Clin Periodontol* 1994;21:177-183.
12. Mendieta C. Clasificación de las enfermedades periodontales. *Av Odontoestomatol* 1995;11(Supl B):135-143.

13. Pérez L, Torno BR, Magadan R, Díaz L, Menéndez R. OPTI-CIM: a diagnostic KTT for determining lymphoid subpopulation and its application in monitoring patients with HIV infection. *Biotecnol Appl* 1997;14(3):185-188.
14. Berglundh T, Liljenberg B, Tarkowski A, Lindhe J. Local and systemic TCR V gene expression in advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1998;25:125-133.
15. Collins JP. New clinical diagnosis strategies based on pathogenesis of disease. *J Periodontol Res* 1993;28(6 pt. 2):523-535.
16. Stites PD, Terr AI. *Inmunología básica y clínica*. 7a ed. México : El manual moderno; 1993.
17. Malberg K, Malle A. Determination of lymphocyte populations and subpopulations extracted from chronically inflamed human periodontal tissue. *J Clin Periodontol* 1992;19(3):155-158.
18. Liljenberg B, Lindle J, Berglundh T, Dablen G, Jonsson R. Some microbiological histopathological and immunohistochemical characteristics of progressive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1994;21:720-727.
19. Kamagata Y. Patophysiological analysis of rapidly progressive periodontitis. *Ohu Daigakushi* 1989;16(1):7-12.
20. Aláñez FJ, Hontilla J, Llanes F, Blanco J, Sang M. Infiltrado inflamatorio mononuclear en la enfermedad periodontal. *Arch Odontoestomatol* 1995;11(4):184-194.