

PERIODONTITIS CRÓNICA: UNA VISIÓN DESDE LA PROTEÓMICA

Miguel Simancas Pallares*, Luisa Arévalo Tovar** y Antonio Díaz Caballero***

RESUMEN

La periodontitis resulta en un daño tisular complejo a las estructuras de soporte dentario debido al efecto de la respuesta inmune. Sin embargo, la naturaleza de los componentes de éste proceso son interés de muchos investigadores ya que se determinaron a través de estudios experimentales algunas moléculas de carácter proteínico que activan y/o regulan otras sustancias ó células para el desarrollo de la lesión. El objetivo de ésta revisión de literatura es conducir un análisis crítico de la evidencia disponible sobre las proteínas expresadas durante la periodontitis crónica. Se identificaron las publicaciones más relevantes a través de una búsqueda en bases de datos electrónicas como MEDLINE, EBSCO-HOST y “The Cochrane Database of Systematic Reviews”. Para ser incluidos en la revisión, los estudios debieron definir la proteína investigada, en pacientes con periodontitis crónica. De los 1210 artículos obtenidos en la fase inicial de la revisión, sólo 175 estaban disponibles en texto completo y de éstos sólo cumplieron los requisitos de inclusión 25 artículos, los cuales fueron confrontados, analizados y discutidos posteriormente. La evidencia disponible demuestra que las proteínas juegan un papel importante en la transducción de señales y que utilizan diversas vías para activar compuestos químicos contribuyendo al desarrollo de lesiones periodontales crónicas. (DUAZARY 2010, 106 - 116)

Palabras clave: enfermedades periodontales, bacterias, interleucinas, proteínas.

ABSTRACT

Periodontitis is a complex tissue damage to the supporting structures of teeth due to the effect of the immune response. However, the components nature of the process are of interest to many researchers and were determined through experimental studies of some molecules that activate a protein and / or regulating other substances or cells for the development of the lesion. The aim of this literature review is to conduct a critical analysis of available evidence on the expressed proteins in chronic periodontitis. We identified relevant publications through a search of electronic databases such as MEDLINE, EBSCO HOST, and The Cochrane Database of Systematic Reviews. To be included in the review, studies had to define the protein investigated in patients with chronic periodontitis. Of the 1210 articles retrieved from the initial phase of the review, only 175 were available in full text and they only met the requirements including 25 articles, which were confronted, analyzed and discussed later. Available evidence shows that proteins play an important role in signal transduction and using various means to activate chemical compounds contribute to the development of chronic periodontal lesions.

Keywords: periodontal diseases, bacteria, interleukins, proteins.

*Odontólogo Consultor. Integrante Grupo Integral de Investigaciones y Tratamientos Odontológicos Facultad de Odontología Universidad de Cartagena (GITOUUC).

**Odontóloga Universidad de Cartagena. Especialista en Periodoncia Universidad de Buenos Aires Argentina. Profesora Titular. Decana Facultad de Odontología. Universidad de Cartagena.

***Odontólogo Universidad de Cartagena. Especialista en Periodoncia Universidad Javeriana. Magister en Educación Universidad del Norte. Candidato a Doctorado en Ciencias Biomédicas. Profesor Titular Universidad de Cartagena.



INTRODUCCIÓN

La periodontitis es reconocida por una inflamación que se extiende a profundidad en los tejidos y causa pérdida de tejido de soporte conectivo y hueso alveolar. Resulta en la formación de bolsas periodontales ó surcos profundizados patológicamente entre la encía y la raíz del diente¹. El mecanismo fisiopatológico por el cual ocurre esta sucesión de fenómenos tiene explicación en la respuesta inmune del hospedero frente a los microorganismos productores de toxinas (endotoxinas bacterianas) conocidos ampliamente como periodontopatógenos. Éstas endotoxinas estimulan las células defensivas de los tejidos periodontales a que expresen varios mediadores inflamatorios entre los cuales están la interleuquina 1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) ó receptor activador del factor κ B ligando (RANKL)². En adición a estos mediadores inflamatorios también se liberan otros productos endógenos como las proteínas de choque térmico 60 (Heat Shock Protein-60, HSP60), proteína C reactiva (CRP), lactoferrina, calprotectina, defensinas, lamininas, proteína quimioatrayente de monocitos, entre otras sustancias potencialmente citotóxicas.

En la fase aguda de respuesta a las bacterias patógenas, los “*toll-like receptors*” (TLR) activan vías de transducción en ambas respuesta inmune innata y adaptativa, así como también las HSP60 regulan a los macrófagos en el tejido local para producir citoquinas proinflamatorias. Una de éstas citoquinas es la interleuquina 1 β (IL-1 β), asociada con la pérdida de inserción de tejido conectivo periodontal y reabsorción de hueso alveolar³⁻⁵. Cuando la respuesta inflamatoria aguda es insuficiente, estas citoquinas estimulan los hepatocitos a la secreción de proteínas de fase aguda tales como la proteína C reactiva (CRP) durante el proceso de respuesta inflamatoria crónica sistémica no-específica⁶.

El objetivo de ésta revisión de literatura es conducir un análisis crítico de la evidencia disponible sobre las proteínas expresadas durante la periodontitis crónica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda electrónica de literatura en bases de datos como: *MEDLINE (Ovid)*, *Cochrane database of systematic reviews*, *Dentistry & Oral Sciences Source (EBSCO-Host)* desde 1960 hasta la cuarta semana de junio de 2009; con palabras clave como: proteins, periodontitis, lactoferrin, defensin, calprotectin, laminin,

heat shock protein, chronic periodontitis, periodontal diseases. La búsqueda se limitó a documentos en inglés en donde se expusiera claramente la metodología usada, que incluyera pacientes con periodontitis crónica y que definiera la proteína a investigar.

Posterior a esto se procedió a realizar un tamizaje con aplicación de criterios a los artículos encontrados en las bases de datos, con lo cual se seleccionaron 25 artículos que cumplieron con los requisitos de inclusión, los cuales fueron posteriormente analizados y discutidos. (Ver Tabla 1)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad son diversos los compuestos de carácter proteínico expresados durante el desarrollo de la periodontitis, específicamente, interviene la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), también conocida como citoquina pequeña inducible A2 (SCYA2) ó CCL2. En adición, se demostró que la MCP-1 es sintetizada en la encía inflamada por las células del endotelio vascular y fagocitos mononucleares⁷. La MCP-1 también puede ser sintetizada por otras en respuesta a estímulos endógenos ó exógenos. Por otro lado, se demostró que la IL-1 β y el FNT- α inducen y estimulan mancomunadamente la expresión de MCP-1 en fibroblastos de ligamento periodontal humano, así estas citoquinas potentemente proinflamatorias contribuyen al infiltrado leucocitario⁸. (Ver Figura 1)

Pradeep, Daisy y Hadge en 2009, en un estudio para determinar los niveles de MCP-1 en el fluido crevicular gingival (FCG) por medio de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), reportan que los niveles de MCP-1 incrementan progresivamente con la progresión de la enfermedad y disminuyen después del tratamiento. Concluyen que la presencia de MCP-1 en la enfermedad se correlaciona positivamente con los parámetros clínicos como el índice gingival, profundidad al sondaje y nivel de inserción clínica, así este puede ser considerado como un biomarcador en enfermedad periodontal⁹.

La proteína C reactiva (CRP: C - Reactive Protein), se produce en el hígado ante influjo de otras citoquinas y también contribuye a la respuesta no-específica en la mayoría de las formas de inflamación, infección y daño tisular¹⁰. Algunos estudios experimentales demostraron que la CRP se une a sus ligandos expuestos en tejido enfermo y así activa el sistema de complemento, el

cual puede inducir exacerbación (mediada por el complemento) de la injuria tisular.

En una revisión sistemática de la literatura aplicando meta-análisis Paraskevas, et al en 2008, concluyen que existe amplia evidencia señalando que la periodontitis provoca una respuesta de fase aguda a moderada con elevación de los niveles de CRP comparados con los controles sanos; debido a que existen otros factores de base que a menudo se relacionan con la aparición de CRP como infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias, tabaquismo, obesidad y trauma, los cuales pueden actuar como factores de confusión. Sin embargo los estudios de tratamiento disponible son insuficientes.

Linden et al en 2008, en un estudio de asociación de niveles de CRP con enfermedad periodontal severa, tomaron 806 hombres con 6 ó más dientes con niveles altos (> 3mg/l) ó con niveles bajos de CRP en ambos puntos de inicio del tiempo de medición. Obtienen como resultado 67 hombres con un nivel > 3mg/l y 739 hombres con un nivel ≤ 3mg/l en ambos puntos de tiempo. Concluyen que existe una asociación entre los niveles de CRP y la periodontitis en el grupo de pacientes entre los 60-70 años de edad¹¹. (Ver Figura 2)

Otra macromolécula expresada es la calprotectina: es una proteína citosólica mayor derivada de los granulocitos, detectada en monocitos macrófagos (constituye cerca del 50-60% del citosol) y células epiteliales¹²⁻¹³. Éstas son llamadas también “proteínas asociadas al factor inhibitorio de la migración de macrófagos 8 y 14” (MRP8/MRP14: macrophage migration inhibitory factor-related protein 8 and 14). Ver figura 3. Recientemente se demostró que la calprotectina está en niveles considerables no sólo en pacientes con cálculo dental; sino también en el fluido crevicular gingival (GCF: Gingival Crevicular Fluid) y que esa concentración fue significativamente más alta en pacientes con periodontitis¹⁴⁻¹⁶. Schlegel et al¹⁷, demostraron que la calprotectina es fuertemente expresada en el área de células inflamatorias en el tejido gingival de pacientes con periodontitis. En la enfermedad periodontal incrementan los neutrófilos, monocitos/macrófagos y linfocitos en el tejido de soporte inflamado y desempeñan un papel importante en la respuesta inmune del hospedero¹⁸.

Esta proteína también puede contribuir a la respuesta inmune en la enfermedad periodontal debido a que posee actividad antimicrobiana contra *Porphyromonas gingivalis* en el epitelio gingival y una acción inhibitoria en el crecimiento de macrófagos y linfocitos¹⁹⁻²⁰. Su origen

y los factores que regulan su liberación en las células inmunes siguen sin aclarar en la periodontitis. Miyasaki et al sugirieron que la mayor fuente de calprotectina en el fluido crevicular gingival eran los neutrófilos, basados en la correlación entre los niveles de calprotectina y lactoferrina en el fluido crevicular gingival.

Actualmente se descubrió que la calprotectina existe en los tejidos gingivales con un infiltrado inflamatorio de células y lipopolisacáridos de *P. gingivalis* (P-LPS) induciendo a la liberación de calprotectina por parte de los neutrófilos. Se reconoce la *P. gingivalis* como el mayor patógeno de la periodontitis y que el P-LPS afecta las funciones de los leucocitos estimulando la producción de citoquinas inflamatorias incluyendo IL-1β, FNT-α, e IL-6 de los leucocitos y monocitos²¹.

Kido et al en 1999 en un estudio de correlación entre los niveles de calprotectina en el fluido gingival crevicular e indicadores clínicos (profundidad al sondaje y sangrado al sondaje) y los niveles de IL-1β ó PGE₂ en el fluido gingival crevicular, recolectaron las muestras de individuos con enfermedad periodontal crónica y se realizaron pruebas de ELISA para determinar los niveles de IL-1β, PGE₂ y calprotectina. Obtienen como resultados que los niveles de calprotectina se relacionan significativamente en los sitios del sangrado a sondaje positivos, que en los sitios de sangrado al sondaje negativos. Esto indica que los niveles de calprotectina en el fluido gingival crevicular se correlacionan bien con los marcadores clínicos y bioquímicos en la enfermedad periodontal por lo cual puede ser usada para evaluar la extensión de la inflamación periodontal²².

Kojima et al en el 2000¹⁵; en una investigación para la determinación de la presencia de péptidos de la calprotectina (S100A8 – S100A9) comparando sujetos sanos y/o con enfermedad periodontal a través de la realización de electroforesis en gel de poliacrilamida bidimensional (2-D SDS-PAGE), secuenciación aminoacídica N-terminal, espectrometría de masa y western blot; obtienen como resultado que a través de la secuenciación se pudo identificar a los péptidos, además la presencia de MRP8 y MRP14 en el fluido crevicular gingival fue confirmado a través de western blot con anticuerpos monoclonales. Por tanto, se deduce que pueden jugar un papel importante en el surco gingival y que pueden representar posibles marcadores para la enfermedad periodontal.

Las lamininas son glicoproteínas de alto peso molecular (900kDa) y componentes mayores de la membrana

basal, las cuales poseen múltiples roles estructurales y funcionales en la diferenciación, proliferación, adhesión y migración de células²³⁻²⁴; específicamente en las células del epitelio de unión en los procesos de formación de bolsas periodontales²⁵. Son secretadas por las células epiteliales y se encuentran conformadas por tres cadenas de polipéptidos ($\alpha 3$, $\beta 3$ y $\gamma 2$), por tanto se sugirió que tiene forma de heterotrímero cruzado: de los cuales el último es específico para laminina-5²⁶.

Puede estimular la migración celular, como se comentó anteriormente, después de unir las enzimas proteolíticas, mientras que ésta misma proteína pero intacta, sirve como anclaje de las células epiteliales en la membrana basal. Ciertas metaloproteinasas de la matriz (MMPs) puede procesar la cadena $\gamma 2$ de la laminina-5, produciendo fragmentos de 40 y 70 kDa.

Ésta cadena unida a su enzima puede mediar reacciones inflamatorias para la regulación de la adhesión celular, migración y proliferación de fibroblastos, células epiteliales; los fragmentos sirven como quimioatrayentes leucocitarios. En resumen, estos fragmentos cumplen funciones activas, fisiológicas y/o patológicas en los procesos de remodelado tisular e inducción epitelial²⁷⁻³⁰. Pirilä et al en 2001³¹, mostró que las cadenas $\gamma 2$ de la laminina-5 humana, estaba unida con las MMPs dentro del área de la membrana basal en la encía humana en los sitios de inflamación periodontal. Así mismo Figueredo y Gustafsson en 2000³², examinaron la presencia de lamininas en el fluido crevicular gingival (GCF) de pacientes con diferentes enfermedades periodontales y encontraron una elevación total de los niveles de laminina en el GCF de estos pacientes.

Otras proteínas con evidencia de expresión en periodontitis crónica, son las defensinas, las cuales son un grupo pequeño de péptidos catiónicos ricos en cisteína con actividad antimicrobiana potente contra las bacterias gram-negativas y gram-positivas³³⁻³⁴. Se encuentran de dos formas: las α defensinas (de origen intestinal y neutrofílico) y β defensinas (de origen epitelial). Existen por lo menos seis (6) formas de α defensinas identificadas; incluyen cuatro péptidos neutrofilicos, HNP1-4, y otros dos tipos conocidos defensinas humanas 5 y 6 (HD-5 y HD-6)³⁵⁻³⁶. La HNP1-3 es expresada por los neutrófilos como parte de su mecanismo no-oxidativo antimicrobiano. Son identificadas en las células de Paneth en el intestino así como también en la saliva³⁷. Diversos estudios usando anticuerpos y técnicas de hibridización *in situ* detectaron α defensinas en neutrófilos en el epitelio de unión indiferenciado. (Ver figura 4)

Son péptidos antimicrobianos (AMPs: Antimicrobial Peptides) pequeños, catiónicos, expresados principalmente en las células epiteliales y todos los epitelios humanos³⁸, secretadas en fluidos biológicos, incluyendo, orina, fluidos bronquiales, secreciones nasales, saliva y fluido crevicular gingival (GCF)³⁹. En la cavidad oral, son expresadas en encía, lengua, glándulas salivales, mucosa y encontradas principalmente en condiciones inflamatorias y carcinomas⁴⁰. Las hBDs-1 son expresadas en tejidos epiteliales, mientras que hBDs-2 y 3 son típicamente expresadas cuando los epitelios son estimulados por bacterias u otros mediadores inflamatorios⁴¹.

En tejidos gingivales sanos, se encuentra expresión de ARNm de las hBD-1 y 2 en la capa espinosa de los tejidos, mientras que los péptidos pueden ser detectados en las capas espinosas superiores, granular y queratinizadas. Sin embargo la expresión más fuerte es en el margen gingival, cerca de donde ocurre la mayor formación de placa bacteriana y en el epitelio del surco inflamado⁴². Con relación a la expresión de éste péptido en tejidos enfermos, se comprobó que la expresión de genes de hBD-1 y 2 es menos frecuentemente detectada en tejidos con gingivitis que en encía sana por medios de reacción de cadena en polimerasa de tiempo real (RT-PCR). El ARNm de hBD-1 y 2 fue solamente detectado en el 66% y 86%, respectivamente, de biopsias de pacientes con gingivitis, mientras que el ARNm de hBD-3 se encontró en el 100% de todas las muestras de gingivitis⁴³; sin embargo el ARNm de β -defensinas fue también detectado en menor frecuencia en muestra de pacientes con periodontitis. En comparación con las biopsias de tejidos gingivales sanos, la expresión de ARNm de hBD-1 fue vista en 60% de las muestras de periodontitis, mientras que las hBD-2 y 3 fue detectada en menos del 40% de las muestras.

Otro estudio reciente, analizó la expresión de β defensinas humanas 1 y 2 en encía de pacientes con gingivitis, periodontitis agresiva y periodontitis crónica a través de RT-PCR (Real Time Polimerase Chain Reaction). Éste estudio demostró, que la expresión de hBD-1 en el grupo de pacientes con periodontitis crónica fue significativamente mayor que aquellos con gingivitis y periodontitis agresiva⁴⁴; sin embargo la expresión de hBD-3 es reportada en la capa basal celular en muestras de tejido sano, y en las capas celulares espinosas y basales en muestras de pacientes con enfermedad periodontal⁴⁵.

Alguna evidencia sugiere que los comensales y patógenos usan mecanismos diferentes de regulación

para la inducción de hBD-2 y que su regulación puede diferir en la mucosa oral a otros tejidos. La regulación de hBD-2 por las bacterias comensales como *F. nucleatum*, es independiente de otras respuestas inmunes innatas, tales como expresión de IL-8; un quimioatrayente de neutrófilos. No obstante, los LPS de *P. gingivalis*, *F. nucleatum* y *E. coli* son pobres estimulantes de hBD-2 en células epiteliales gingivales cultivadas, sugiriendo la inclusión de vías de señalización más que activación de la señalización de los TLR-4 por los LPS⁴⁶. La evidencia sugiere que los TLR 2 y 4 no juegan un rol mayor en la inducción de hBD-2 por bacterias orales y sugieren que la inducción de hBD-2 por bacterias patogénicas pueden utilizar algo más que la vía de la señalización de LPS-TLR4 como los PARs (receptores activados por proteasas)⁴⁷.

La regulación de la expresión de hBD-3 difiere de la de hBD-2 en que la hBD-3 está presente en células epiteliales gingivales estimuladas y no estimuladas, además, no responden a *P. gingivalis* ó a los activadores de los PARs. Las hBD-3 son ampliamente expresadas en tejidos orales inflamados y no inflamados, sugiriendo un rol importante de la hBD-3 así como de la hBD-2 en la respuesta inmune innata en la cavidad oral.

Lu et al en 2005⁴⁷, en un estudio para determinar los niveles de β defensinas tipo 3, en biopsias gingivales de sujetos con periodontitis crónica vs sujetos sanos, a través de técnicas de inmunohistoquímica *in situ*; reportan que el péptido hBD-3 se detectó en el 88% de las muestras, que se encuentra confinado al epitelio gingival. En sujetos de control el hBD-3 fue más frecuente en la capa basal al comparar con los sujetos enfermos (53% vs 18% respectivamente). Lo cual sugiere que la expresión apropiada de hBD-3 puede contribuir al mantenimiento de la homeostasis periodontal, posiblemente a través de su efecto antimicrobiano y promoción de la respuesta inmune adaptativa.

También es ampliamente conocido el papel de las proteínas de choque térmico-60 (hsp60) que se definen como moléculas antigénicas expresadas durante los procesos periodontales crónicos; pertenecen a la familia de proteínas que se consideran durante la evolución de las enfermedades inflamatorias.

Se evidencia, también que las bacterias periodontopatógenas tales como *P. gingivalis*⁴⁸⁻⁵⁰, *A. actinomycetemcomitans*⁵¹, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *B. forsythus* y *C. rectus*⁵² producen homólogos al GroEL (chaperonina – antígeno exógeno) de *E. coli*.

Este tipo de proteínas juegan papeles importantes en la relación causal entre las infecciones microbianas y la autoinmunidad debido a la conservación de la secuencia de aminoácidos durante la evolución de la enfermedad demostrada y su fuerte inmunogenicidad.

Se demuestran anticuerpos séricos para las bacterias periodontopatógenas derivados de hsp60; estos anticuerpos son frecuentemente detectados en pacientes con periodontitis⁵³. Aunque los mecanismos precisos por los cuales los anticuerpos anti hsp60 se encuentran elevados no se comprenden perfectamente, aquellos con altos títulos de anticuerpos pueden ser sensibilizados con otras bacterias más que con periodontopatógenos. Existe evidencia que sugiere que la inflamación resulta de una mayor regulación de hsp y un número de hsp60 expresadas en las células puede ser encontrada en los infiltrados celulares inflamatorios y en el tejido gingival inflamado. Como resultado de ésta mayor regulación, las células T-específicas para auto hsp60 puede ser activado como una parte de la respuesta inflamatoria normal. Sin embargo, considerando la expresión de hsp60 en las lesiones inflamatorias de periodontitis y la presencia de anticuerpos anti hsp60, no solamente ejerce efectos patogénicos en el sitio de la inflamación y contribuye a la progresión de destrucción periodontal a través de la fijación del sistema de complemento, así como también citotoxicidad T, dependiente de los anticuerpos⁵⁴⁻⁵⁵.

Se reconocen también estas proteínas debido a que estimulan los monocitos para que produzcan citoquinas proinflamatorias² ó para regular la expresión de moléculas de adhesión. Recientemente se demostró que las hsp60 humanas pueden también activar el sistema inmune innato. Sumado a lo anterior, Ueki et al⁵⁶, en 2002, determina que las hsp60 humanas pero no bacterianas (periodontopatógenos) puede inducir a la producción de FNT- α en los macrófagos y que esta actividad es mediada, por lo menos, en parte por los CD14 y TLR4; los cuales se conocen son receptores de LPS. Por tanto, las hsp60 de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*, pueden tener menor efecto en la inducción de citoquinas proinflamatorias que otras bacterias. Sin embargo el hallazgo sorprendente fue que la hsp60 humana es un potente inductor de TNF- α en los macrófagos. También fue posible confirmar en ése estudio que los receptores CD14 y TLR4 son vías importantes en la mediación de la activación de macrófagos en respuesta a la hsp60 humana. El rol de las hsp60 en la patogénesis de la enfermedad periodontal no está totalmente dilucidado, sin embargo, considerando la abundante expresión de TLR4 y hsp60 por varios tipos de células en las lesiones

periodontales y los efectos estimulantes en el sistema inmune, se espera un rol patológico de la hsp60.

Otros estudios también reportan que las hsp60, estimulan significativamente la producción de IFN- γ en pacientes con periodontitis, sugiriendo entonces, que la respuesta proliferativa a las hsp60 humana son probablemente selectivas en el estímulo de células T específicas con un perfil tipo-1 de citoquinas. Alternativamente es concebible que las hsp60-específicas de células T pueden estar incluidas en los procesos de destrucción tisular a través de la producción de citoquinas proinflamatorias por los macrófagos y otros mediadores como la PGE₂. Tal y cómo fundamenta ampliamente este documento, el papel de las macromoléculas proteínas en el desarrollo de la enfermedad periodontal se resume entonces en mediadores de expresión de otras moléculas, cambios en la morfología celular, activación de células para secreción de sustancias y de ésta manera establecer ó exacerbar el daño tisular. Toda esta evidencia, sugiere que se debe analizar la patología periodontal ampliando su concepto a la inclusión de las proteínas como reguladores de los procesos fisiológicos y metabólicos, de allí, la fundamentación para establecer en la literatura científica, el papel de las proteínas expresadas en la periodontitis, como facilitadores de vías de exploración de este tipo de enfermedades desde su naturaleza, la respuesta inmune.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005;366(9499):1809-20.
- Gemmel E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol 2000*; 14:112-43.
- Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and 1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res*. 1990;25(3):156-63.
- Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Sockranksy SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1991;18(7):548-54.
- Bufut U, Develioglu H, Taner IL, Berker E. Interleukin 1 beta levels in gingival crevicular fluid in type 2 diabetes mellitus and adult periodontitis. *J Oral Sci*. 2001;43(3):171-7.
- Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*. 2007;449(7164):819-26.
- Yu XH, Antoniades H, Graves D. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human inflamed gingival tissues. *Infect Immun*. 1993;61(11):4622-28.
- Ozaki K, Hanazawa S, Takeshita A, Chen Y, Watanabe A, Nishida K, et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha stimulate synergistically the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in fibroblastic cells derived from human periodontal ligament. *Oral Microbiol Immunol*. 1996;11(2):109-14.
- Tonetti MS, Imboden MA, Gerber L, Lang NP, Laissue J, Mueller C. Localized expression of mRNA for phagocyte-specific chemotactic cytokines in human periodontal infections. *Infect Immun*. 1994;62(9):4005-14.
- Pradeep AR, Daisy H, Hadge P. Gingival crevicular fluid levels of monocyte chemoattractant protein-1 in periodontal health and disease. *Arch Oral Biol*. 2009;54(5):503-9. Epub 2009 Mar 16.
- Pepys MB, Hirschfield GM. C reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-12.
- Sanders AE, Slade GD, Fitzsimmons TR, Bartold PM. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36(5):388-95.
- Linden GJ, McClean K, Young I, Evans A, Kee F. Persistently raised C-reactive protein levels are associated with advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2008;35(9):741-7. Epub 2008 Jul 21.
- Fagerhol MK, Andersson KB, Naess- Andresen CF, Brandtzaeg P, Dale I. Calprotectin (The L1 leukocyte protein). In: *Stimulus response coupling: The role of intracellular calcium-binding proteins*, eds. Smith, V. L. & Dedman, J. R., 1990 pp. 187-210. Boca Raton Ann Arbor Boston: CRC Press.
- Kojima T, Andersen E, Sanchez JC, Wilkins MR, Hochstrasser DF, Pralong WF, Cimasoni G. Human gingival crevicular fluid contains MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9), two calcium-binding proteins of the S100 family. *J Dent Res*. 2000;79(2):740-7.
- Golden BE, Clohessy PA, Russell G, Fagerhol MK. Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 1996;74(2):136-9.
- Kido J, Nishikawa S, Ishida H, Yamashita K, Kitamura S, Kohri K, Nagata T. Identification of calprotectin, a calcium binding leukocyte protein, in human dental calculus matrix. *J Periodontol Res*. 1997;32(4):355-61.

18. Kido J, Nakamura T, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M, Nagata T. Calprotectin, a leukocyte protein related to inflammation, in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res.* 1998;33(7):434-7.
19. Miyasaki KT. The neutrophil: mechanisms of controlling periodontal bacteria. *J Periodontol.* 1991;62(12):761-74.
20. Nisapakultorn K, Ross KF, Herzberg MC. Calprotectin expression *in vitro* by oral epithelial cells confers resistance to infection by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2001;69(7):4242-7.
21. Yui S, Yang D, Mikami M, Yamazaki M. Purification and characterization of the cytotoxic factor in rat peritoneal exudate cells: its identification as the calcium binding protein complex, calprotectin. *J Leukoc Biol.* 1995;58(3):307-16.
22. Kido J, Kido R, Kataoka M, Suryono, Fagerholm MK, Nigata T. Lipopolysaccharide of *P gingivalis* induces calprotectin secretion from human neutrophils. *J Dent Res* 2001;80(Special Issue):535.
23. Watanabe A, Takeshita A, Kitano S, Hanazawa S. CD14-mediated signal pathway of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts. *Infect Immun.* 1996;64(11):4488-94.
24. Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Gusovsky F. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem.* 1999;274(16):10689-92.
25. Tabeta K, Yamazaki K, Akashi S et al. Toll-like receptors confer responsiveness to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* in human gingival fibroblasts. *Infect Immun.* 2000;68(6):3731-5.
26. Wang P, Azuma Y, Shinohara M, Ohura K. Toll-like receptor 4-mediated signal pathway induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human gingival fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;273(3):1161-7.
27. Hiroi M, Shimojima T, Kashimata M et al. Inhibition by *Porphyromonas gingivalis* LPS of apoptosis induction in human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes. *Anticancer Res.* 1998;18(5A):3475-9.
28. Kido J, Nakamura T, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M, Nagata T. Calprotectin in gingival crevicular fluid correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1999;26(10):653-7.
29. Tryggvason K. The laminin family. *Curr Opin Cell Biol.* 1993;5(5):877-82.
30. Gagnoux-Palacios L, Allegra M, Spirito F, Pommeret O, Romero C, Ortonne JP, Meneguzzi G. The short arm of the laminin gamma2 chain plays a pivotal role in the incorporation of laminin 5 into the extracellular matrix and in cell adhesion. *J Cell Biol.* 2001;153(4):835-50.
31. Pirilä E, Maisi P, Salo T, Koivunen E, Sorsa T. In vivo localization of gelatinases (MMP-2 and -9) by in situ zymography with a selective gelatinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;287(3):766-74.
32. Figueredo CMS, Gustafsson A: Increased amounts of laminin in GCF from untreated patients with periodontitis *J Clin Periodontol.* 2000;27(5):313-8.
33. Kivelä-Rajamäki MJ, Teronen OP, Maisi P, Husa V, Tervahartala TI, Pirilä EM, Salo TA, Mellanen L, Sorsa TA. Laminin-5 gamma2-chain and collagenase-2 (MMP-8) in human peri-implant sulcular fluid. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(2):158-65.
34. Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, Shiba H, Fujiwara T, Ohara M, et al. Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, {beta}-defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(6):888-96. Epub 2005 May 10.
35. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem.* 2001;276(8):5707-13. Epub 2000 Nov 20.
36. van Wetering S, Sterk PJ, Rabe KF, Hiemstra PS. Defensins: key players or bystanders in infection, injury, and repair in the lung? *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104(6):1131-8.
37. Mizukawa N, Sugiyama K, Ueno T, Mishima K, Takagi S, Sugahara T. Levels of human defensin-1, an antimicrobial peptide, in saliva of patients with oral inflammation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;87(5):539-43.
38. Dale BA. Periodontal epithelium: a newly recognized role in health and disease. *Periodontol 2000.* 2002;30:70-8.
39. Valore EV, Park CH, Quayle AJ, Wiles KR, McCray PB Jr, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J Clin Invest.* 1998;101(8):1633-42.
40. Diamond DL, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Ganz T, Dale BA. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J Immunol Methods.* 2001;256(1-2):65-76.
41. Mizukawa N, Sawaki K, Yamachika E, Fukunaga J, Ueno T, Takagi S, et al. Presence of human beta-defensin-2 in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2000;20(3B):2005-7.
42. Krisanaprakornkit S, Kimball JR, Weinberg A, Darveau RP, Bainbridge BW, Dale BA. Inducible expression of human beta-defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum*

- in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. *Infect Immun.* 2000;68(5):2907-15.
43. Chung WO, Dale BA. Innate immune response of oral and foreskin keratinocytes: utilization of different signaling pathways by various bacterial species. *Infect Immun.* 2004;72(1):352-8.
 44. Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Roberts F, Robinovitch M, O'Neal R, Valore EV, Ganz T, Anderson GM, Weinberg A. Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *J Periodontal Res.* 2001;36(5):285-94.
 45. Dunsche A, Acil Y, Dommisch H, Siebert R, Schroder JM, Jepsen S. The novel human beta-defensin-3 is widely expressed in oral tissues. *Eur J Oral Sci.* 2002;110(2):121-4.
 46. Vardar-Sengul S, Demirci T, Sen BH, Erkizan V, Kurulgan E, Baylas H. Human beta defensin-1 and -2 expression in gingiva of patients with specific periodontal diseases. *J Periodontal Res.* 2007;42(5):429-37.
 47. Lu Q, Samaranayake LP, Darveau RP, Jin L. Expression of human beta-defensin-3 in gingival epithelia. *J Periodontal Res.* 2005;40(6):474-81.
 48. Chung WO, Hansen SR, Rao D, Dale BA. Protease-activated receptor signaling increases epithelial antimicrobial peptide expression. *J Immunol.* 2004;173(8):5165-70.
 49. Kiessling R, Gronberg A, Ivanyi J, Soderstrom K, Ferm M, Kleinau S, Nilsson E, Klareskog L. Role of hsp60 during autoimmune and bacterial inflammation. *Immunol Rev.* 1991;121:91-111.
 50. Hotokezaka H, Hayashida H, Ohara N, Nomaguchi H, Kobayashi K, Yamada T. Cloning and sequencing of the groEL homologue from *Porphyromonas gingivalis*. *Biochim Biophys. Acta.* 1994;1219(1):175-8.
 51. Maeda H, Miyamoto M, Hongyo H, Nagai A, Kurihara H, Murayama Y. Heat shock protein 60(GroEL) from *Porphyromonas gingivalis*: molecular cloning and sequence analysis of its gene and purification of the recombinant protein. *FEMS Microbiol Lett.* 1994;119(1-2):129-35.
 52. Hinode D, Yoshioka M, Tanabe S, Miki O, Masuda K, Nakamura R. The GroEL-like protein from *Campylobacter rectus*: immunological characterization and interleukin-6 and -8 induction in human gingival fibroblast. *FEMS Microbiol Lett.* 1998;167(1):1-6.
 53. Nakano Y, Inai Y, Yamashita Y, Nagaoka S, Kasuzaki-Nagira T, Nishihara T, Okahashi N, Koga T. Molecular and immunological characterization of a 64-kDa protein of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol.* 1995;10(3):151-9.
 54. Vayssier C, Mayrand D, Grenier D. Detection of stress proteins in *Porphyromonas gingivalis* and other oral bacteria by Western immunoblotting analysis. *FEMS Microbiol Lett.* 1994;121(3):303-7.
 55. Ferber I, Schonrich G, Schenke J, Mellor AL, Hammerling GJ, Arnold B. Levels of peripheral T cell tolerance induced by different doses of tolerogen. *Science.* 1994;263(5147):674-6.
 56. Ueki K, Tabeta K, Yoshie H, Yamazaki K. Self-heat shock protein induces tumor necrosis factor- α in monocyte-derived macrophage: possible role in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immunol.* 2002;127(1):72-7.

ANEXO

TABLA Y FIGURAS

Tabla 1. Resumen de la metodología empleada para la búsqueda computarizada de literatura.

PALABRAS CLAVE	BASE DE DATOS	
	<i>EBSCO HOST</i> (Dentistry & Oral sciences source).	<i>OVID</i> (MEDLINE – CDSR)
1.Proteins	358288	8953
2.Chronic Periodontitis	1521	2178
3.Periodontal disease	11552	6397
4.Lactoferrin	1253	1028
5.Defensin	952	632
6.Calprotectin	132	275
7.Laminin	3212	3349
8.C reactive protein	8757	13762
9.Heat shock protein	4562	2993
10.Monocyte chemoattractant protein	1261	2482
1 AND 2	104	163
1 AND 3	982	574
2 AND 4	1	9
2 AND 5	9	2
2 AND 6	2	3
2 AND 7	3	13
2 AND 8	11	46
2 AND 9	5	3
2 AND 10	3	35
2AND 3 AND 4 AND 5 AND 6 AND 7 AND 8 AND 9 AND 10	180	175
Aplicación de criterios de inclusión y exclusión.		
ANÁLISIS DE LA LITERATURA (25 ARTÍCULOS).		

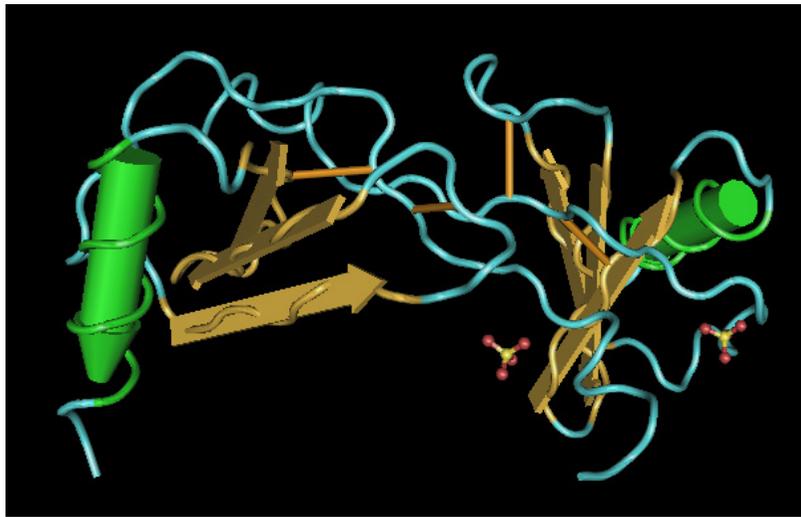


Figura 1. Estructura tridimensional de la proteína quimioatrayente de monocitos -1, forma P (Monocyte Chemoattractant Protein-1, P-form). La estructura cristalina de rayos X de MCP-1-P está refinada a una resolución de 1.85 Å y contiene una unidad de dímeros asimétricos. Tomado de: Lubkowski J, Bujacz G, Boqué L, Domaille PJ, Handel TM, Wlodawer A. The structure of MCP-1 in two crystal forms provides a rare example of variable quaternary interactions. *Nat Struct Biol.* 1997 Jan;4(1):64-9.

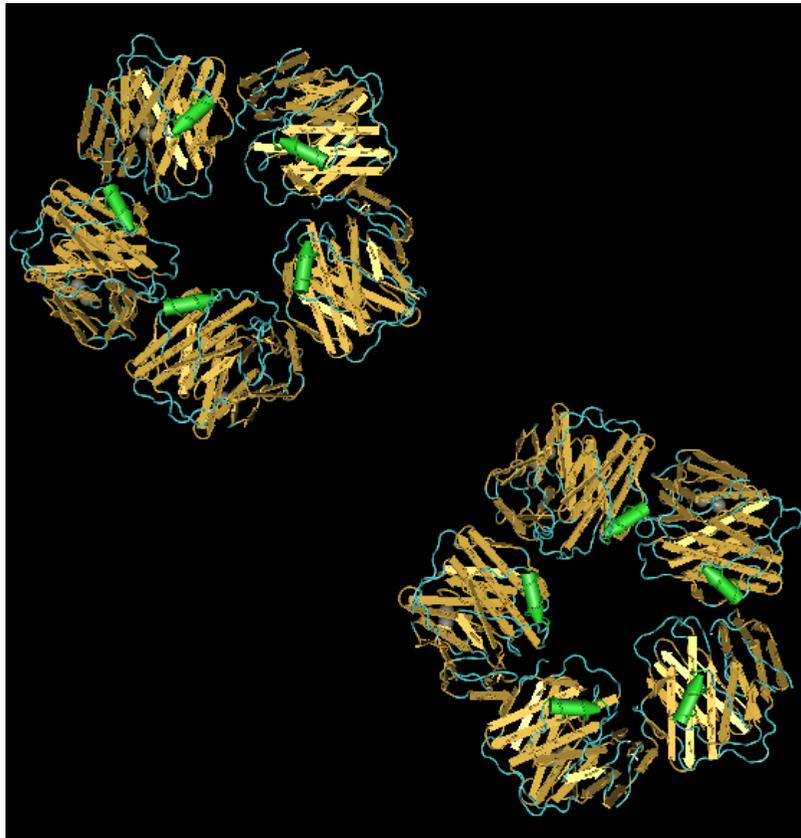


Figura 2. Estructura terciaria clásica de la proteína c reactiva de fase aguda. Tomado de: Shrive AK, Cheetham GM, Holden D, Myles DA, Turnell WG, Volanakis JE, Pepys MB, Bloomer AC, Greenhough TJ. Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nat Struct Biol.* 1996 Apr;3(4):346-54.

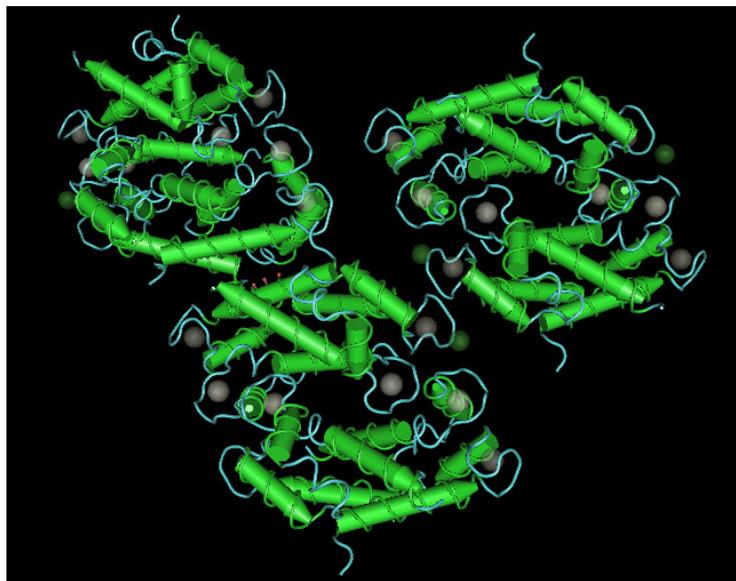


Figura 3. Estructura terciaria de la calprotectina en donde se evidencia su forma cristalina. Ilustra la variación en la secuencia y algunos grupos conformacionales pequeños.

Tomado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?uid=35490>. Vista con Cn3D V4.1. Acceso en Julio 10 de 2009.

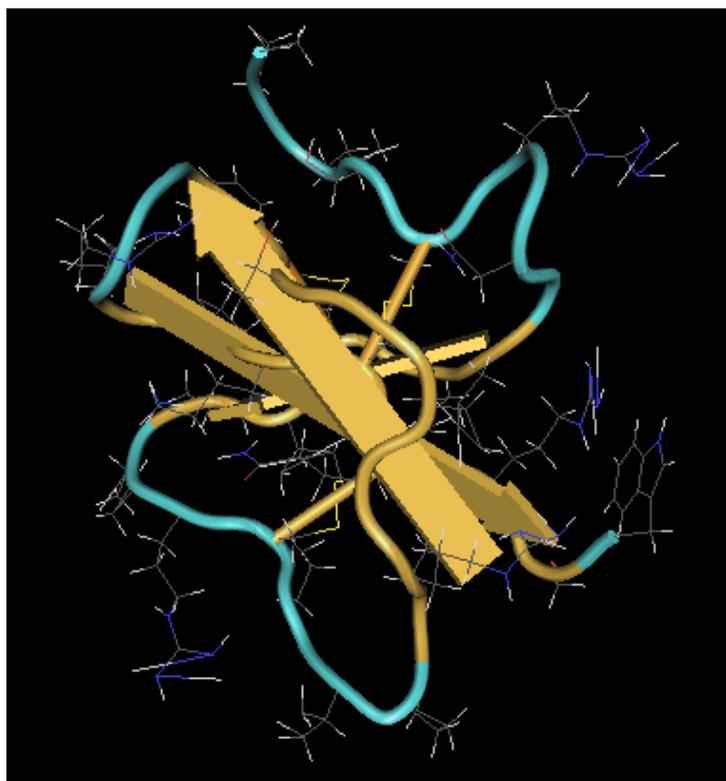


Figura 4. Estructura terciaria de la defensina humana beta 2.

Tomado de: Bauer F, Schweimer K, Klüver E, Conejo-Garcia JR, Forssmann WG, Rösch P, Adermann K, Sticht H. Structure determination of human and murine beta-defensins reveals structural conservation in the absence of significant sequence similarity. *Protein Sci.* 2001 Dec;10(12):2470-9.