Niveles de interleukina 17 en el fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis crónica progresiva

Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid (CGF) of progressive chronic periodontitis patients

GONZÁLEZ QUESADA J*
JORQUERA CORTÉS R**
JORQUERA CORTÉS O***
RIVERA ÁLVAREZ S**

González Quesada J, Jorquera Cortés R, Jorquera Cortés O, Rivera Álvarez S. Niveles de interleukina 17 en el fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis crónica progresiva. Av Periodon Implantol. 2009; 21, 3: 157-162.

RESUMEN

Los biomarcadores de destrucción tisular presentes en el fluido gingival crevicular (GCF) pueden ser de utilidad para identificar y predecir la progresión de la Enfermedad Periodontal y para ver la respuesta al tratamiento. La interleukina 17 (IL-17) es una citoquina producida por las células T CD4 y tiene un papel importante en la iniciación o mantenimiento de la respuesta pro-implantaria y recientemente se ha encontrado que estimula la reabsorción ósea osteoclástica. Esta función biológica es relevante en la etiopatogénesis de la periodontitis. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de IL-17 en el fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis crónica progresiva.

Material y método: En 14 sitios activos y 14 sitios inactivos, determinados de acuerdo con el método de tolerancia (Haffajee 1983) se tomó muestras de fluido gingival crevicular. La cantidad de IL-17 presente, se determinó con el Human IL-17 Inmunoassay Quantikine R&D INC. Mineapolis, USA. Los resultados se analizaron con el software Stata 7.0 y el Student's Test para muestras no pareadas.

Resultados: La cantidad de IL-17 presente en el GCF fue significativamente mayor en los sitios activos, en relación con los sitios inactivos ($p=0,0005$). *Conclusiones:* Estos resultados sugieren la posibilidad de que la IL-17 podría ser un buen marcador de pérdida de inserción y destrucción de hueso alveolar.

PALABRAS CLAVE: Fluido gingival crevicular, biomarcadores, enfermedad periodontal crónica progresiva, osteocalcina.

SUMMARY

Biomarkers harvested from gingival crevicular fluid (GCF) may be useful to identify and predict periodontal disease progression and to monitor the response to treatment. Interleukin-17 (IL-17) is a T-cell-derived cytokine that play a important role in the initiation or maintenance of the pro-inflammatory response and has recently been found to stimulate osteoclastic resorption. These biological functions are relevant to the aetiopathogenesis of periodontitis.

Aim: The purpose of the present study was to determine the presence of IL-17 in gingival crevicular fluid (GCF) of progressive chronic periodontitis patients.

Method: GCF samples were collected with Periopaper from 14 active sites and 14 inactive sites determine by the tolerance method (Haffajee, 1983). The amount of IL-17 was determined by Human

* Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

** Universidad de Chile. Chile.

*** Universidad de Salvador Bahía. Brasil.

IL-17 Immunoassay, Quantikine, R&D, Inc, Minneapolis, USA. The statistical data was analysed by Stata 7.0 using an unpaired Student t-test.

Results: The levels of IL-17 were significantly higher in active sites than inactive sites ($p=0,0005$).

Conclusions: These findings suggest that IL-17 could be a good marker for future attachment and alveolar bone loss.

KEY WORDS: Gingival crevicular, biomarkers, progressive chronic periodontitis, osteocalcine.

Fecha de recepción: 9 de enero 2009.

Fecha de aceptación: 14 de enero 2009.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico precoz de la enfermedad periodontal destructiva de los tejidos de soporte del diente, tiene gran importancia; es por esta razón que la investigación en Periodoncia se ha encaminado a la aplicación de métodos de identificación de riesgo que permitan en forma objetiva y no invasiva identificar a los pacientes que podrían padecerla (1, 2).

Los biomarcadores de destrucción tisular son moléculas que pueden ser medidas objetivamente y evaluadas como indicadores de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas a la intervención terapéutica (Biomarkers Definitions Group, 2001)(3), estos biomarcadores están presentes en el fluido crevicular gingival (GCF) y pueden ser de utilidad para identificar y predecir la progresión de la enfermedad periodontal y para ver la respuesta al tratamiento (4).

Es posible asociar marcadores de degradación tisular con la progresión de la enfermedad periodontal, uno de estos marcadores es la interleukina 17 (IL-17) que es una citoquina proinflamatoria producida por las células TCD4 (Yao, 1995)(5), nuevas evidencias sugieren que esta molécula es producida por una población de célula TCD4 helper, las célula Th 17 (6), las cuales juegan un rol esencial en la regulación de los procesos inflamatorios y en las enfermedades autoinmunes (7-10).

La interleukina 17 estimula a las célula epiteliales, endoteliales y fibroblastos para producir IL 6, IL 8, PGE2 y es un importante inductor sobre los osteoblastos en la expresión de RANKL, estimulando la erosión del hueso en la artritis (11-13), se postula que el bloqueo de esta citoquina puede prevenir la destrucción ósea en esta enfermedad. Takahashi et al (14) demostraron que IL-17 es producida localmente por las célu-

las T en lesiones periodontales y puede exacerbar las reacciones inflamatorias producidas por los fibroblastos gingivales en la enfermedad periodontal (Kotake, 1995) (15).

El propósito de esta investigación es determinar la presencia de IL-17 en el fluido crevicular gingival de pacientes con periodontitis crónica progresiva antes y después del tratamiento periodontal.

MATERIAL Y MÉTODO

En un grupo de 20 pacientes, mayores de 35 años con diagnóstico de periodontitis crónica severa, con un mínimo de 14 dientes presentes en boca que no presentaban enfermedades de base, ni consumían o habían consumido AINES en los últimos 6 meses, ni antibióticos en los últimos 12 meses. Se realizó un completo examen clínico y radiográfico enfatizando la profundidad al sondaje del surco gingivo dentario y el nivel de inserción clínica en medidas replicadas. Luego fueron revisados clínicamente durante dos meses para definir progresión de la enfermedad periodontal de acuerdo con el método de tolerancia (Haffajee, 1983) (16).

Se definió como sitio activo aquel que exhibió pérdida de inserción de 2 o más mm. Al comparar las mediciones obtenidas después de 2 meses con las del examen inicial, y sitio inactivo aquel que no presentó pérdida de inserción.

Siete pacientes presentaron progresión y se les tomó muestras de FGC de dos sitios activos y dos sitios inactivos. Posteriormente se realizó el tratamiento y nuevamente se tomaron muestras de GCF tres meses después de finalizado éste, utilizando como control los sitios que no presentaron progresión.

Para la toma de muestra se aisló el campo en forma relativa y se seco el sitio con jeringa de aire, se usaron tiras de papel Periopaper Proflow Amityville, NY, USA, las que se mantuvieron en el sitio seleccionado durante 30 segs. Desechando aquellas contaminadas con sangre o saliva. Luego fueron procesadas para medir la IL-17 empleando la técnica ELISA y el kit específico de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Human IL-17 Inmunoassay Quantikine R&D Inc. Minneapolis USA) expresando la concentración de IL-17 en picogramos por mililitro (pg/ml).

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el software estadístico Stata 7.0 y los parámetros clínicos de profundidad al sondaje y nivel de inserción clínica se analizaron mediante T-test de Student para muestras no paramétricas y U-test Mann-Whitney.

RESULTADOS

De los 20 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión y aceptaron participar en este estudio, en 7 se detectó progresión de la enfermedad periodontal (Haffajee 1983) se tomó muestras de FGC en dos sitios activos y dos sitios inactivos en cada paciente antes y después de efectuar el tratamiento periodontal.

Las características clínicas de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y firmaron el consentimiento informado se pueden observar en la tabla 1. Los pacientes tenían una edad promedio de 52 años, el nivel de inserción clínica previo al tratamiento, presentaba un promedio de 4,46 mm, al inicio del

estudio y luego de realizado el tratamiento, el nivel de inserción clínica se redujo a 3,54 mm promedio. La profundidad al sondaje expresada en milímetros experimentó una disminución después del tratamiento, de un promedio de 3,35 mm al inicio se estableció un promedio de 2,4 mm una vez realizado el tratamiento. El porcentaje de placa microbiana acumulado al inicio del estudio fue de 69,7% y al final del estudio se determinó un porcentaje de 28,38%, lo cual representa una importante variación. En relación con el índice de sangrado, la medición inicial expresó 60,02% y una vez finalizado el tratamiento el porcentaje de sitios sangrantes fue de 21,43%.

De acuerdo con los valores expresados en esta tabla se puede apreciar la influencia positiva del tratamiento, pues todos los parámetros clínicos señalados, disminuyeron, lo cual significa un mejoramiento en las condiciones clínicas de estos pacientes.

Las características clínicas de los pacientes con progresión se muestran en la tabla 2. Se puede observar que todos los parámetros clínicos presentan una disminución estadísticamente significativa. Con un promedio de edad de 50,3 años, los pacientes presentan una variación en el nivel de inserción clínica de 4,7 mm al inicio a 3,5 mm postratamiento. Esta situación se repite con la profundidad al sondaje que varía desde un promedio de 3,7 mm antes del tratamiento a 2,6 mm después de efectuado éste. La disminución del porcentaje de placa microbiana acumulada varía desde 68% al inicio a 19,7% al final del tratamiento, lo mismo ocurre con el índice de sangrado que disminuye de 58,6% al inicio a 18,4% en la medición final.

TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS 20 PACIENTES AL INICIO DEL ESTUDIO Y POSTRATAMIENTO

Característica	Inicial	Rango	Postratamiento	Rango
Edad	52,4±5,9	44-65		
Nivel de inserción clínico mm.	4,46±0,7	3,5-6,3	3,54±0,51	2,71-4,57
Profundidad de sondaje mm.	3,35±0,45	2,8-4,7	2,47±0,22	2,2-3,02
Índice de placa %	69,7±6,8	53-81,8	28,38±4,6	17-33
Índice de sangrado %	60,02±5,3	52-73,6	21,43±3,06	14,5-27,4

Porcentaje o promedio ± desviación estándar.

TABLA 2.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES QUE MOSTRARON PROGRESIÓN ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL

Característica	Antes del tratamiento	Rango	Después del tratamiento	Rango	P valor
Edad	50,3±5,2	44-60			
Nivel de inserción clínico mm.	4,7±0,8	4,3-6,26	3,5±0,6	3,9-5,4	0,001
Profundidad al sondaje mm.	3,7±0,5	3,5-4,71	2,6±0,24	2,4-2,9	0,001
Índice de placa %	68,8±9,1	53-78,5	23,2±3,9	19,7-26,8	0,001
Índice de sangrado %	58,6±5,6	52-66	21,1±2,9	18,4-23,7	0,005

Porcentaje o promedio ± desviación estándar. P valor de las diferencias antes y después del tratamiento.

En relación con los pacientes en los cuales hubo progresión de la enfermedad periodontal, las características clínicas de los sitios activos e inactivos antes y después del tratamiento se observan en la tabla 3. Se puede apreciar que los niveles de inserción, profundidad al sondaje y porcentaje de sitios que presentan sangrado disminuyen.

El promedio de la concentración de IL-17 en el FGC en los sitios activos e inactivos al inicio y luego del tratamiento se puede observar en la tabla 4. Se puede observar que el marcador en estudio se expresa en el fluido crevicular mayormente cuando hay actividad y se reduce al efectuar el tratamiento, observándose reducción en sitios activos e inactivos.

TABLA 3.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS SITIOS ACTIVOS E INACTIVOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

Característica	Sitio activo antes	Sitio activo después	Sitio inactivo antes	Sitio inactivo después
Nivel de inserción clínico mm.	7,5±1,16	5,21±0,97	6,43±0,76	4,21±0,58
Profundidad al sondaje mm.	6,21±1,19	3,86±0,77	5,36±0,84	3,29±0,47
Sangrado %	71,4	28,5	85,7	42,7

Promedio± desviación estándar.

TABLA 4.- CONCENTRACIÓN DE INTERLEUKINA-17 EN EL FGC DE LOS SITIOS ACTIVOS E INACTIVOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

Marcador	Sitio activo antes	Sitio activo después	Sitio inactivo antes	Sitio inactivo después
Interleukina-17 pg/ml	881,9±103,98	71,06±12,11	252,93±13,40	72,86±10,38

En el gráfico 1 se comparan los niveles de IL-17 en el FGC se puede observar que al inicio del estudio los niveles son significativamente mayores en los sitios activos que en los sitios inactivos ($p=0,0005$). Cuando se comparan los niveles de IL-17 después del tratamiento no se aprecia diferencia estadísticamente significativa entre sitios activos e inactivos.

La disminución en los niveles de IL-17 después de efectuar el tratamiento concuerdan con los parámetros clínicos que aparecen en las tablas 2 y 3.

DISCUSIÓN

La concentración de IL-17 en el FGC fue significativamente mayor en los sitios activos que en los sitios inactivos esto concuerda con los estudios de Vernal et al (17) que muestran que la concentración de IL-17 presente en el FGC de pacientes con periodontitis crónica es significativamente mayor que en individuos sanos. Se ha demostrado que las células Th17 antagonizan con las células T reguladoras (Treg) por lo que amplifican la respuesta proinflamatoria y promueven la autoinmunidad. Además se ha encontrado que IL-17 estimula la producción de citoquinas como: factor de necrosis tumoral (TNF α) e IL-1 β de macrófagos (18, 19).

De acuerdo con el estudio de Takahashi et al (14), la IL-17 se produce en la lesión periodontal y puede tener un papel activo en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal.

En relación con los efectos del tratamiento periodontal, que reduce significativamente los niveles de IL-17

tanto en los sitios activos como en los sitios inactivos esta reducción se puede relacionar con la disminución de patógenos periodontales entre los que se encuentra la *Porfiromona gingivalis* que induce un aumento significativo en la IL-17 en pacientes con destrucción de los tejidos de soporte (20).

CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestro estudio y con los resultados obtenidos IL 17 podría ser un biomarcador eficiente para indicar futura destrucción de los tejidos de soporte pues sus niveles se encontraron elevados en los sitios que presentaban progresión de la enfermedad periodontal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lamster I. Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol* 1997; 2:123-37.
2. Taba M Kinney J, Kim A Giannobile W. Diagnostic Biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin N Am* 2005;49:551-71.
3. Biomarkers Definitions Group "Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework". *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95.
4. Embery G, Waddington R. Gingival crevicular fluid: biological markers of periodontal tissue activity. *Adv. Dent. Res* 1994;8:329-36.
5. Yao Z, Painter S, Fanslow W MacLuff B, Spriggs M, Armitage R. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *The J of Immunology* 1995;155:5483-6.
6. Ferretti S, Bonneau O, Dubois G, Jones C, Trifilieff A. IL 17 produced by lymphocytes and neutrophils, is necessary airway neutrophilia: IL 15 as a possible trigger. *J of Immunology* 2003;170:2106-12.
7. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL KuchrooVk. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235-8.
8. Ebersole J. Humoral Immune Responses in gingival crevicular fluid and systemic implications. *Periodontology* 2000. 2003;31:135-66.

Gráfico 1: Concentración de IL-17 (pg/ml) en FGC entre sitio activo y sitio inactivo, antes y después del tratamiento.

* Sitios activos vs sitios inactivos inicial $p=0,005$.

9. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 2004;343:1-16.
10. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cells lineages. *Annu Rev Immunol* 2007;25:821-52.
11. Chabaud M, Garnerio P, Dayer J, Guerne P, Fossiez F, Miossec P. Contribution of IL 17 to synovium matrix destruction in rheumatoid arthritis. *Cytoquine* 2000;12: 1092-9.
12. Kramer JM Gaffen SL. IL 17: a new paradigm in inflammation autoimmunity and therapy. *J Periodontol* 2007; 78:1083-93.
13. Lubberts E, Van der Bersselaar, Oppers Walgreen B Shwarzenberger P, Coenen de J, Kolls J, Joosten L, van der Berg W. IL-17 promotes bone erosion in murine collagen induced arthritis through loss of the receptor activator of NK- κ B ligand /osteoprotegerin balance. *The J of Immunology* 2003;170:2655-62.
14. Takahashi K, Azuma T, Motohira H, Kinane S. The potential role of IL-17 in the immunopathology of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2005;32:369-74.
15. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Kamatani N, Gillespie M, Martin T, Suda T. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J of Clinical Investigation* 1999;103:1345-52.
16. Haffajee AD, Sokransky S, Goodson JM. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *J Clin Periodontol* 1983;10:257-65.
17. Vernal R, Dutzan N, Chaparro A, Puente J, Valenzuela Ma, Gamonal J. Levels of IL-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of gingival tissue from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32:383-9.
18. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, FloresRomo L, Ait Yahia, Maat C, Pin J, Garrone P. T cell IL 17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J of Experimental Medicine* 1996;183:2593-603.
19. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Mineau F, Pelletier JP. IL 17 stimulates the production and expresión of proinflammatory cytokines, IL 1 β and TNF α by human macrophages. *J Immunol* 1998;160:3513-21.
20. Oda T Yoshie H, Yamazaki K. *Porphyromonas gingivalis* antigen preferentially stimulates T cells to express IL-17 but not receptor activator of NK κ B ligand in vitro. *Oral Microbiology and Immunology* 2003;18:30-6.

CORRESPONDENCIA

Prof. Dra. Sonia Rivera Álvarez
Profesora Asociada
Área Periodoncia. Facultad de Odontología.
Universidad de Chile
Avda. Santa María 0596.
Providencia
Santiago. Chile

Teléfono (56-2) 232 5805
Fono, fax (56-2) 2332949
soniarivera27@hotmail.com