

Evaluación de los mediadores IL-1 α , IL-1 β y TNF- α , en fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis

Evaluation of mediators IL-1 α , IL-1 β and TNF- α , in crevicular gingival fluid of patients with periodontitis

Rosamary Simone ^{1,a}, Laura Escalona ^{2,a}, Maira Ávila ^{2,b},
Andreína Fernandes ^{2,c}, María Correnti ^{2,c}

¹ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Odontología, Postgrado de Periodoncia. Caracas, Venezuela.

² Universidad Central de Venezuela, Facultad de Odontología, Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli". Caracas, Venezuela.

^a Especialista en Periodoncia.

^b Licenciada en Biología.

^c Doctora en Ciencias Biológicas.

Correspondencia:

Maira Ávila

Correo electrónico: avimaira@gmail.com

Av. Los Ilustres, Ciudad Universitaria, Edif. Facultad de Odontología, piso 9, Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli", Los Chaguaramos, UCV, Caracas- Venezuela. Código postal: 1051.

Coautores:

Rosamary Simone

rosamarysimone@gmail.com

Laura Escalona

laec56@hotmail.com

Andreína Fernandes

andreinafernandes@yahoo.es

María Correnti

mcorrentip@yahoo.com

Editor invitado:

Juan Carlos Cuevas-González

Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: proyecto CDCH No. PG-10-7070-2007.

Recibido: 10/12/18

Aceptado: 26/02/19

Publicado: 05/06/19

Resumen

Objetivo. Evaluar los niveles de mediadores químicos inflamatorios como la interleucina-1 α (IL-1 α), interleucina-1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y los parámetros clínicos en pacientes diagnosticados con periodontitis crónica o agresiva, antes y después de la terapia periodontal no quirúrgica (TPNQ). **Métodos.** Se tomaron muestras de fluido gingival crevicular (FGC) en 11 pacientes diagnosticados con periodontitis y 11 controles sanos para evaluar niveles de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α antes y después de la TPNQ, mediante la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). **Resultados.** En el grupo con periodontitis se observó disminución significativa de los parámetros clínicos después del tratamiento ($p < 0,05$). En FGC, IL-1 β presentó los niveles más elevados, seguido de IL-1 α y TNF- α . Posterior a la TPNQ, IL-1 β disminuyó 17 veces su concentración e IL-1 α 4 veces en relación a los valores iniciales, sin embargo, solo se observó una relación estadísticamente significativa para TNF- α . Las mayores correlaciones con los parámetros clínicos de la enfermedad periodontal se observaron para IL-1 β ($p < 0,01$), seguido por IL-1 α ($p < 0,05$) y una baja correlación con TNF- α . **Conclusiones.** En este trabajo, el grupo de pacientes con periodontitis presentó mayores niveles de IL-1 α , IL-1 β y TNF- α en FGC, siendo IL-1 β la citocina más elevada. Posterior al TPNQ, se observó disminución significativa de los valores clínicos periodontales. Así mismo, las interleucinas redujeron sus valores promedios, sin alcanzar los del grupo control. Las correlaciones observadas entre los índices periodontales y los mediadores sugieren mayor correlación de IL-1 β con los signos clínicos de la enfermedad periodontal.

Palabras clave: Periodontitis; Citocinas; Inflamación (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Objective. Evaluate the levels of inflammatory chemical mediators such as interleukin-1 α (IL-1 α), interleukin-1 β (IL-1 β), tumorosis factor- α (TNF- α) and clinical parameters in patients diagnosed with chronic or aggressive periodontitis, before and after non-surgical periodontal therapy (NSPT). **Methods.** Crevicular gingival fluid (CGF) samples were taken in 11 patients diagnosed with periodontitis and 11 healthy controls

for evaluating levels of IL-1 α , IL-1 β , TNF- α before and after the NSPT, using the ELISA technique (Immunosorbent Assay Linked to enzymes). **Results.** In the group with periodontitis the decrease of the clinical parameters after the treatment is also observed ($p < 0.05$). In FGC, IL-1 β had the highest levels, followed by IL-1 α and TNF- α . After NSPT, IL-1 β decreased 17 times its concentration and IL-1 α 4 times in relation to the initial values, however, only a statistically significant relationship for TNF- α . The major relationships with the clinical parameters of periodontal disease were observed for IL-1 β ($p < 0.01$), followed by IL-1 α ($p < 0.05$) and a low correlation with TNF- α . **Conclusions.** In this study, the group of patients with periodontitis presented higher levels of IL-1 α , IL-1 β and TNF- α in FGC, with IL-1 β being the highest cytokine. After NSPT, periodontal clinical values have been significantly reduced. Likewise, the interleukins reduced their average values, without reaching the control of the group. The correlations observed between periodontal indices and mediators are mostly related to IL-1 β with the clinical signs of periodontal disease.

Keywords: Periodontitis; Cytokines; Inflammation (source: MeSH NLM).

Introducción

Las enfermedades periodontales constituyen un grupo heterogéneo de alteraciones de los tejidos de protección y soporte de los dientes, de origen infeccioso y de carácter inflamatorio ¹.

Todas las enfermedades periodontales, cuyo factor etiológico primario es la biopelícula dental, involucran dos componentes: el factor microbiológico, que ocasiona daño directo a los tejidos a través de los productos bacterianos, y el hospedero durante la respuesta de defensa contra el ataque bacteriano ^{2,3}.

Una vez establecida la enfermedad periodontal, se forma un infiltrado inflamatorio constituido por diferentes tipos celulares, como linfocitos y macrófagos, que producen distintas citocinas que participan en la activación de los procesos de defensa y simultáneamente en la destrucción de tejido conectivo y óseo ^{1,4}. Las citocinas median la comunicación entre las células, regulando una serie de funciones como la quimiotaxis, inflamación, inmunidad y reparación tisular ¹. Son proteínas pequeñas o péptidos que regulan la producción y activación de diferentes células efectoras, se producen transitoriamente, son muy potentes y generalmente ejecutan su función a bajas concentraciones e interactúan con receptores expresados en número relativamente bajo. Algunas citocinas las produce un solo tipo celular, sin embargo, otras son producidas por varios tipos de células. Son pleiotrópicas (múltiples actividades) y por lo tanto, la respuesta a una citocina depende de su concentración local, tipo celular y otros reguladores a los que están expuestos ⁵.

Varios estudios han reportado la participación de los mediadores de la inflamación en el desarrollo de la periodontitis ⁶⁻⁹, donde se demuestran tanto funciones destructivas como de protección por parte de las citocinas en esta enfermedad.

Las citocinas proinflamatorias son capaces de estimular a los macrófagos y a otras células para producir cantidades importantes de prostaglandinas (PG), en particular PGE₂, que son potentes vasodilatadores e inductores de la producción de citocinas por diversas células. Las PG actúan sobre los fibroblastos y osteoclastos, junto con las citocinas, para inducir la producción de metalopro-

teinasas de matriz (MMPs), lo cual es relevante para el recambio tisular y para el proceso destructivo periodontal. La interleucina 1 (IL-1), la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF) estimulan la reabsorción ósea. Las actividades de estas tres citocinas han sido estudiadas en muestras de fluido gingival crevicular (FGC), en saliva y en tejidos con inflamación clínica ^{5,10}. Investigaciones *in vitro*, en cuanto al mecanismo de acción de la IL-1 sobre los fibroblastos, demuestran su participación en la reparación o destrucción de la matriz celular ¹¹.

El propósito de esta investigación fue evaluar los niveles de las interleucinas IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y los parámetros clínicos en pacientes diagnosticados con periodontitis, antes y después de la TPNQ.

Métodos

Se realizó un estudio prospectivo y experimental, llevado a cabo en la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, en el Postgrado de Periodoncia, en pacientes diagnosticados con periodontitis crónica o agresiva, siguiendo los criterios establecidos en 1999 por la Academia Americana de Periodontología ¹². El objetivo fue determinar los niveles de las interleucinas IL-1 α , IL-1 β y TNF- α en FGC y correlacionarlo con los parámetros clínicos antes y 45 días después de realizar la TPNQ. Esta terapia incluyó los siguientes procedimientos; instrucciones al paciente sobre técnicas de cepillado y uso de métodos auxiliares para el control de la higiene bucal, remoción de la biopelícula y del cálculo dental, raspado y alisado radicular. Tomando en cuenta que el restablecimiento del epitelio de unión al diente, posterior al tratamiento periodontal no quirúrgico ocurre entre 1 y 2 semanas, la reparación del tejido conjuntivo continúa su maduración durante 4 a 8 semanas, y el establecimiento de la flora microbiana ocurre a los 2 meses; la reevaluación periodontal se realiza aproximadamente a los 45 días (6 semanas), más de 2 meses puede ser demasiado tiempo porque las bacterias patógenas ya han repoblado los sacos periodontales ¹³.

Previo a la toma de muestra, los pacientes firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de

Bioética de la Facultad de Odontología de la UCV No. 006-2007.

Muestra de estudio. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, la muestra estuvo conformada por 22 pacientes distribuidos en dos grupos. El grupo de estudio: integrado por 11 pacientes de los cuales siete fueron diagnosticados con periodontitis crónica y cuatro con periodontitis agresiva y el grupo control: integrado por 11 sujetos sanos sistémica y periodontalmente. Los pacientes asistieron por primera vez al Postgrado de Periodoncia durante el período comprendido entre julio del 2010 y julio del 2013. A cada uno se le realizó seguimiento hasta que todos completaran el tratamiento periodontal inicial. Los individuos del grupo control fueron seleccionados en la misma institución según los siguientes criterios de inclusión: sanos periodontalmente o con diagnóstico de gingivitis asociada a placa, no debían presentar profundidades al sondaje > 3 mm, ni pérdida de inserción en ningún diente.

Para el grupo estudio se seleccionaron pacientes con historia clínica completa, exámenes de laboratorio y evaluación clínica y radiográfica, diagnóstico de periodontitis crónica o de periodontitis agresiva y se excluyeron pacientes con alguna patología sistémica, tomando medicamentos por tratamiento de alguna patología de base sistémica, antimicrobianos o antiinflamatorios no esteroideos (AINES) en los últimos 6 meses anterior a la toma de muestra, embarazadas o en período de lactancia.

Determinación de los parámetros clínicos periodontales. La evaluación periodontal de los pacientes incluyó la medición de los siguientes parámetros clínicos: índice de biopelícula dental (IP), según O'Leary *et al.*¹⁴, para lo cual se hizo una conversión de los valores obtenidos en porcentajes a un rango de 1 al 3, según una escala de valores, donde el 1 representó los IP ubicados entre 0% a 20%, el 2 los valores ubicados entre 21% y 60%, y el 3 los comprendidos entre 61% y 100%. Se utilizó el índice gingival (IG) de Löe y Silness¹⁵, se midió la profundidad al sondaje (PS) desde el margen gingival hasta el fondo del saco, al igual que la pérdida del nivel de inserción clínica (PNI) midiendo la distancia desde la unión cemento-esmalte hasta el fondo del saco, las cuales se expresaron en mm. Las mediciones fueron realizadas en seis sitios por diente (mesio-bucal, bucal, disto-bucal, disto-lingual, lingual y meso-lingual) para todos los dientes excluyendo los terceros molares. Se utilizó una sonda periodontal Goldman/Fox Williams, calibrada en milímetros. Todas las mediciones fueron realizadas antes y después de la TPNQ, por un examinador previamente calibrado con un índice Kappa de 0,8.

Toma de la muestra de FGC. Los dientes para la toma de muestra de FGC fueron seleccionados entre los homólogos con mayores profundidades al sondaje (> 4 mm) en cada cuadrante, excluyendo los terceros molares. Se eligieron cuatro dientes, uno por cuadrante, tomándose cuatro muestras por diente con conos de papel # 35 estéril, las muestras se colectaron antes y después de la TPNQ, en las zonas del diente con los sacos periodontales más profundos. Previo a la toma de la muestra,

los dientes seleccionados fueron aislados de forma relativa con rollos de algodón, luego se procedió a limpiar la superficie coronal para eliminar el exceso de biopelícula dental supragingival. Se introdujeron los conos de papel (cuatro por diente) en el margen gingival manteniéndolos insertados por 30 segundos. Los conos visiblemente contaminados con sangre fueron descartados. Posteriormente los conos se introdujeron en tubos Eppendorf y fueron refrigerados a -20 °C hasta su procesamiento. Las muestras fueron tomadas por el mismo examinador.

Procesamiento de la muestra para la determinación de los niveles de mediadores químicos inflamatorios IL1- α , IL1- β y TNF- α . Los conos de papel fueron colocados en 100 μ l de Buffer Tris (Tris 12 mM, NaCl 0,1 M, 0,05% de Tween 20), se agitaron en vórtex durante 1 minuto, tres veces, para desprender el material recolectado. Se procedió a centrifugar a 8000 x g, durante 5 minutos y el sobrenadante obtenido se utilizó para medir los niveles de IL1- α , IL1- β y TNF- α presentes en el FGC, utilizando los kit comerciales: Human IL-1 alpha/IL-1F1 Quantikine ELISA Kit, Human IL-1 beta/IL-1F2 Quantikine ELISA Kit y el Human TNF- alpha/ TNFSF1A Quantikine HS ELISA Kit (Quantikine, R&D Systems Inc., Minneapolis, Minnesota, USA), siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

Análisis estadístico. Se aplicaron pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas, fijando como nivel de significación ($p < 0,05$). En el procesamiento, tabulación y cálculos estadísticos descriptivos e inferenciales se empleó el software SPSS para Windows en su Versión N° 13 en español, y Microsoft Office Excel 2007 para la elaboración de tablas y gráficos.

Para determinar si la población de origen de las muestras era normal, en relación a los valores de parámetros clínicos, se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se utilizó la prueba estadística paramétrica t de Student para el análisis de los valores promedios de parámetros clínicos obtenidos (IG, IP, PS, PNI). A su vez para tener una comparación de las medias obtenidas entre los pacientes diagnosticados con periodontitis agresiva y periodontitis crónica, antes y después de aplicar la TPNQ, se manejó el análisis de ANOVA. Además, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para el establecimiento de correlaciones entre las diferentes variables.

Resultados

La muestra estuvo conformada por 22 pacientes, con edad promedio de 34,13 años \pm 12,9 de los cuales 11 presentaban enfermedad periodontal y fueron asignados al grupo de estudio y 11 sujetos sanos correspondientes al grupo control. En el grupo con enfermedad periodontal, el 54,5% (6/11) pertenecía el sexo femenino y el 45,5% (5/11) al sexo masculino, mientras que en el grupo control el 72,7% (8/11) eran mujeres y 27,3% (3/11) hombres.

De los 11 pacientes en el grupo de estudio, siete fueron diagnosticados con periodontitis crónica y una edad promedio de 33,8 \pm 11,9 años representando el 63,7% (7/11)

y cuatro con periodontitis agresiva, con edad promedio entre $18,2 \pm 4,27$ correspondientes al 36,3% (4/11).

Evaluación de los niveles de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y comparación de los parámetros clínicos periodontales, entre el grupo de estudio antes del tratamiento y el grupo control. En la evaluación de los parámetros clínicos del grupo estudio antes de aplicar la TPNQ, se observó que el IG promedio fue de $2,01 \pm 0,40$; ubicando a estos pacientes en el rango de inflamación moderada a severa. Con respecto al IP, se obtuvo un promedio de $2,9 \pm 0,30$, lo que indica que estos pacientes presentaron niveles de biopelícula dental abundante. La PS mostró un valor promedio de $4,0 \pm 1,16$ y la PNI fue de $4,26 \pm 1,3$. El índice de sangramiento al sondaje (SS) presentó un promedio de $0,74 \pm 0,25$, indicando que la enfermedad se encontraba activa en la mayoría de los sitios sondeados. Estos valores en conjunto confirman el diagnóstico de periodontitis (Tabla 1).

Con respecto a los valores promedios de los mediadores químicos inflamatorios seleccionados, se observó que la IL-1 β presentó los niveles más elevados, con una concentración de $6\ 412,96$ pg/ml, seguidos de la IL-1 α , con $3\ 065,00$ pg/ml y finalmente, el TNF- α , con un valor de $1,60$ pg/ml. Sin embargo, en el grupo control IL-1 α fue la citocina con mayor concentración $97,79$ pg/ml, seguido de IL-1 β $63,43$ pg/ml y TNF- α $1,14$ pg/ml (Tabla 1). Al comparar las medias obtenidas en los pacientes del grupo de estudio antes del tratamiento y el grupo control, se observaron valores superiores en el grupo de estudio, para todos los parámetros evaluados, los cuales fueron estadísticamente significativos con un 95% de confianza ($p < 0,05$), excepto para el TNF- α .

Evaluación de los niveles de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y comparación de los parámetros clínicos periodontales, en el grupo con periodontitis antes y después del tratamiento. En relación a las variables clínicas, en el grupo con periodontitis antes y después del tratamiento se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) lo que indica una mejora de las condiciones iniciales de la enfermedad periodontal, excepto para el índice SS (Tabla 2).

Al analizar los niveles de las interleucinas, se observaron variaciones después de la aplicación del tratamiento, en donde la IL-1 β disminuyó 17 veces su concentración y la IL-1 α cuatro veces en relación a los valores iniciales. Sin embargo, debido a la amplia desviación típica observada, no se obtiene un resultado estadísticamente significativo, dando una significancia estadística solo para el TNF- α , en donde la variabilidad fue mucho menor (Tabla 2).

Evaluación de los niveles de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y comparación de los parámetros clínicos periodontales entre el grupo de estudio después del tratamiento y el grupo control. Con el objeto de evaluar los resultados obtenidos posterior al tratamiento periodontal, se compararon los valores de los parámetros clínicos y de los mediadores después del tratamiento con los del grupo control. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), excepto para el SS y el TNF- α , lo que sugiere que aunque el grupo con periodontitis disminuye sus valores después del tratamiento, estos no llegan a igualarse a los obtenidos en el grupo control (Tabla 3).

Tabla 1. Evaluación de las concentraciones de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y los parámetros clínicos en el grupo de estudio antes del tratamiento y el grupo control

	Grupo estudio	Grupo control	
Antes tratamiento			
Parámetros clínicos periodontales	Media \pm DE	Media \pm DE	Prueba t valor p
IG	$2,01 \pm 0,40$	$0,46 \pm 0,45$	<0,001
IP	$2,90 \pm 0,30$	$0,63 \pm 0,51$	<0,001
PS	$4,00 \pm 1,16$	$1,89 \pm 0,42$	<0,001
SS	$0,74 \pm 0,25$	$0,03 \pm 0,07$	<0,001
PNI	$4,26 \pm 1,32$	$1,90 \pm 0,53$	<0,001
Niveles de interleucinas (pg/ml)	Media \pm DE	Media \pm DE	Prueba t valor p
IL- 1 β	$6\ 412,96 \pm 9\ 849,34$	$63,43 \pm 19,04$	0,055
IL- 1 α	$3\ 065,00 \pm 3\ 527,99$	$97,79 \pm 15,81$	0,011
TNF- α	$1,60 \pm 0,99$	$1,14 \pm 0,84$	0,26

IG: Índice gingival

IP: Índice de biopelícula dental

PS: Profundidad de sondaje

SS: Sangramiento al sondaje

PNI: Pérdida del nivel de inserción

Tabla 2. Evaluación de las concentraciones de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y comparación de los parámetros clínicos periodontales en el grupo de estudio antes y después del tratamiento

Grupo de estudio			
Parámetros clínicos periodontales	Antes tratamiento	Después tratamiento	Prueba t valor p
	Media \pm DE	Media \pm DE	
IG	2,01 \pm 0,4	1,63 \pm 0,42	0,03
IP	2,9 \pm 0,3	1,54 \pm 0,52	<0,001
PS	4 \pm 1,16	3,00 \pm 1,12	0,001
SS	0,74 \pm 0,25	0,65 \pm 1,14	0,805
PNI	4,26 \pm 1,32	3,24 \pm 1,14	<0,001
Niveles de interleucinas (pg/ml)	Media \pm DE	Media \pm DE	Prueba t valor p
IL-1 β	6 412,96 \pm 9 849,34	371,29 \pm 221,54	0,067
IL-1 α	3 065 \pm 3 527,99	776,29 \pm 619,83	0,063
TNF- α	1,6 \pm 0,99	1,32 \pm 0,91	0,045

IG: Índice gingival

IP: Índice de biopelícula dental

PS: Profundidad de sondaje

SS: Sangramiento al sondaje

PNI: Pérdida del nivel de inserción

Tabla 3. Evaluación de las concentraciones de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y los parámetros clínicos entre el grupo de estudio después del tratamiento y el grupo control

Parámetros clínicos periodontales	Grupo estudio	Grupo control	Prueba t valor p
	Media \pm DE	Media \pm DE	
IG	1,63 \pm 0,42	0,46 \pm 0,45	<0,001
IP	1,54 \pm 0,52	0,63 \pm 0,51	<0,001
PS	3,00 \pm 1,12	1,89 \pm 0,42	0,006
SS	0,65 \pm 1,14	0,03 \pm 0,07	0,093
PNI	3,24 \pm 1,14	1,90 \pm 0,53	0,002
Niveles de interleucinas (pg/ml)	Media \pm DE	Media \pm DE	Prueba t valor p
IL-1 β	371,29 \pm 221,54	63,43 \pm 19,04	<0,001
IL-1 α	776,29 \pm 619,83	97,79 \pm 15,81	0,002
TNF- α	1,32 \pm 0,91	1,14 \pm 0,84	0,647

IG: Índice gingival

IP: Índice de biopelícula dental

PS: Profundidad de sondaje

SS: Sangramiento al sondaje

PNI: Pérdida del nivel de inserción

Evaluación de los niveles de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α y comparación de los parámetros clínicos entre los pacientes con periodontitis crónica y agresiva, antes y después del tratamiento. El grupo de estudio estuvo constituido por pacientes con periodontitis crónica y periodontitis agresiva, y sus valores fueron analizados por separado. Se evidenció que la variable edad

fue la única que presentó una significancia estadística de $p < 0,05$ (Tabla 4). Sin embargo, se aprecia cómo los promedios de las medias son más elevados en pacientes con periodontitis agresiva, tanto para los parámetros clínicos, como para los niveles de IL-1 α , IL-1 β y TNF- α . Al analizar la respuesta al tratamiento periodontal en relación a los mediadores, en los pacientes con diagnósti-

co de periodontitis agresiva se observó una disminución de la concentración de IL-1β de 25 veces su promedio; para la IL-1α de cuatro veces y poca variabilidad para el TNF-α. En los pacientes con periodontitis crónica igualmente se observó disminución de las concentraciones de IL-1β ocho veces su promedio inicial, IL-1α redujo 3,7 veces su valor y poca variabilidad en las concentraciones del TNF-α, antes y después del tratamiento.

El análisis de las correlaciones para los parámetros clínicos periodontales expresó correlaciones estadísticamente significativas entre ellos (p<0,01), lo que indica que a mayor cantidad de biopelícula, mayor es el índice de inflamación, profundidad del sondaje, pérdida de inserción y sangramiento al sondaje.

Al evaluar las correlaciones entre los niveles de los mediadores antes y después del tratamiento, los resultados más significativos se observaron entre IL-1α e IL-1 β con una correlación de 0,680 y nivel de significancia 0,01 bilateral. Las correlaciones entre IL-1α y TNF-α fue de 0,359 y la de IL-1β con TNF-α de 0,353, ambas con nivel de significancia de 0,05 bilateral.

La relación entre las concentraciones de IL-1α, IL-1β y TNF-α con los parámetros clínicos periodontales antes y después del tratamiento periodontal y el grupo control, mostró los siguientes resultados: correlación de IL-1β con IG de 0,481; con IP de 0,508; con PS de 0,639 y con PNI de 0,603 (nivel de significancia bilateral de 0,01). Las correlaciones de IL-1α fueron: 0,481 para IG; 0,426 para IP; 0,376 para PS y 0,379 para PNI (nivel de significancia bilateral 0,05). Las mayores correlaciones con los signos clínicos de la enfermedad periodontal se

observaron para IL-1β, seguido por IL-1α y muy baja correlación no significativa con TNF-α.

Discusión

Actualmente se considera a la respuesta inmunitaria del hospedero frente a la invasión bacteriana como la responsable de los daños que ocurren en los tejidos periodontales. La perpetuación de esta respuesta debido a la presencia de agentes patógenos rompe los mecanismos homeostáticos y causa la liberación de mediadores químicos como las citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF-α, proteasas y PGE2), las cuales promueven la destrucción de la matriz extracelular de los tejidos y estimulan los procesos de resorción ósea ¹⁶.

El presente estudio estuvo dirigido a evaluar las concentraciones de IL-1α, IL-1β, TNF-α, y de los parámetros clínicos periodontales en fluido gingival de pacientes con periodontitis crónica y agresiva, antes y después de la TPNQ de raspado y alisado radicular, y comparar los resultados obtenidos con los valores promedio en sujetos periodontalmente sanos.

Los valores iniciales antes del tratamiento para los parámetros clínicos periodontales y las concentraciones promedio de las interleucinas evaluadas mostraron diferencias significativas, siendo más elevados en los pacientes con periodontitis. El incremento en la concentración de estos mediadores es el resultado de la actividad celular producto de la respuesta inmunitaria en los tejidos periodontales. Los incrementos observados en la IL-1α son consistentes con activación epitelial y los altos niveles de IL-1β con marginación leucocitaria, diapéde-

Tabla 4. Evaluación de las concentraciones de IL-1α, IL-1β, TNF-α y comparación de los parámetros clínicos periodontales según el tipo de periodontitis, antes y después del tratamiento

Parámetros clínicos periodontales	Antes tratamiento		Después tratamiento		ANOVA Valor p
	Periodontitis crónica Media ± DE	Periodontitis agresiva Media ± DE	Periodontitis crónica Media ± DE	Periodontitis agresiva Media ± DE	
IG	1,89 ± 0,46	2,22 ± 0,16	1,7 ± 0,41	1,53 ± 0,49	0,691
IP	2,86 ± 0,37	3 ± 0,000	1,71 ± 0,48	1,25 ± 0,5	0,666
PS	3,72 ± 1,28	4,5 ± 0,82	2,79 ± 0,94	3,38 ± 1,47	0,215
SS	0,69 ± 0,27	0,84 ± 0,197	0,38 ± 0,22	1,12 ± 1,95	0,228
PNI	3,88 ± 1,43	4,95 ± 0,904	2,99 ± 1,07	3,7 ± 1,28	0,132
Niveles de interleucinas (pg/ml)	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Valor p
IL-1β	2 484,36 ± 3 395,48	13 288,02 ± 14 187,03	282,68 ± 182,35	526,38 ± 216,13	0,096
IL-1α	2 486,79 ± 3 434,61	4 076,89 ± 3 968,71	663,96 ± 567,82	972,88 ± 744,85	0,447
TNF-α	1,65 ± 1,15	1,52 ± 0,75	0,99 ± 0,47	1,9 ± 1,27	0,365

IG: Índice gingival

IP: Índice de biopelícula dental

PS: Profundidad de sondaje

SS: Sangramiento al sondaje

PNI: Pérdida del nivel de inserción

sis y vasodilatación¹⁷. Estos resultados son similares a los obtenidos por Teles *et al.*¹⁸, donde se demostró un incremento en la concentración de IL-1, IL-8 y metaloproteinasas en pacientes periodontalmente afectados en comparación al grupo control y por Goutoudi *et al.*¹⁹, quienes también encontraron mayores niveles de IL-1 β en los sitios enfermos, y reportaron que durante el tiempo de mantenimiento periodontal estos valores disminuyen gradualmente. Así mismo, otro estudio realizado por Lavu *et al.*²⁰ reportaron altos niveles de IL-1 β y de TNF- α en pacientes con periodontitis en comparación con los controles sanos. Por el contrario, en otra investigación donde se evaluaron los niveles de IL-1 β en fluido crevicular de pacientes con periodontitis, no se observaron concentraciones elevadas en pacientes periodontalmente comprometidos²¹.

En cuanto a los niveles de TNF- α obtenidos en el presente trabajo, no se encontraron variaciones estadísticamente significativas entre los diferentes grupos analizados. En contraste, Gokul *et al.*²² reportaron una variabilidad estadísticamente significativa entre el grupo control y los pacientes con gingivitis y periodontitis, en donde las mayores concentraciones de TNF- α se observaron en el grupo con periodontitis, probablemente por la discrepancia en el número de muestras. Por el contrario, una investigación realizada en ratones con gingivitis experimental, donde se evaluó la presencia de TNF- α en fluido crevicular, no se encontró una relación estadísticamente significativa²³. Los resultados reportados por Reis *et al.*¹⁰ indican que IL-1 α fue la citocina más prevalente en FGC y fue detectada en todos los sitios estudiados y que posterior a la TPNQ, los niveles de IL-1 α , IL-1 β e IL-6 se redujeron significativamente en comparación con IL-10 y TNF- α , los cuales presentaron menores variaciones. Los resultados obtenidos en los diferentes estudios reflejan la variación en los niveles de los mediadores tanto en sujetos sanos, como con enfermedad periodontal.

En el presente trabajo, se encontró una alta variabilidad en las concentraciones de los mediadores químicos inflamatorios en el grupo con periodontitis, por lo tanto se analizaron por separado los valores promedio del grupo con periodontitis crónica y los del grupo con periodontitis agresiva. Se observó que las concentraciones eran más elevadas en los pacientes con periodontitis agresiva, sin embargo no se consiguieron diferencias estadísticamente significativas, probablemente debido al tamaño reducido de la muestra, lo cual puede explicarse por factores como período de evaluación y a la menor prevalencia de esta patología. Estos resultados son similares a los obtenidos por Gümüş *et al.*²⁴, donde compararon los niveles de pentraxin-3 e IL-1 β en pacientes diagnosticados con periodontitis crónica y agresiva en muestras de saliva, y encontraron concentraciones más elevadas en pacientes con periodontitis agresiva que duplicaron sus niveles con respecto a los diagnosticados con periodontitis crónica.

Teles *et al.*¹⁸, evaluaron el fluido gingival de sujetos sanos y pacientes con periodontitis agresiva, y observaron

que las cantidades de biopelícula dental subgingival estaban asociadas con diferentes expresiones en el patrón de citocinas, el índice de IL-1/ IL-10 fue mayor en el grupo con periodontitis agresiva en comparación con el grupo control, indicando un desequilibrio entre citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, con aumento de las proinflamatorias como la IL-1. Otra investigación reportó que los niveles totales de IL-1 β y TNF- α en el grupo con periodontitis agresiva generalizada, fueron significativamente mayores a los obtenidos en los grupos con periodontitis crónica, gingivitis y periodontalmente sanos²⁵. Por otra parte, un estudio realizado en un grupo de 24 pacientes con diagnóstico de periodontitis agresiva y 21 pacientes con periodontitis crónica, no encontraron relaciones estadísticamente significativas en los parámetros clínicos ni en la concentración de los mediadores evaluados (IL-1 β , IL-1RA, IL-4, IL-6, IL-10 e IL-12). Esta diferencia en los resultados podría deberse a que la evaluación de los mediadores fue realizada en muestras de sangre y no de FGC²⁶.

Al aplicar la TPNQ se observó una disminución estadísticamente significativa de todos los parámetros periodontales evaluados, sin embargo, los mediadores analizados, aunque reducen sus promedios después de la terapia periodontal, no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas, esto puede deberse a la variabilidad en la respuesta inmunitaria de cada individuo y al número de muestras, lo que concuerda con otros estudios^{19,27}.

Por el contrario, otras investigaciones realizadas por Konopka *et al.*²⁸ y Costa *et al.*²⁹ observaron que la terapia no quirúrgica a corto plazo mejoró de forma significativa los índices periodontales y disminuyó los niveles en fluido gingival crevicular de la IL-1 β , IL-8 y MMP-8.

La relación entre los valores de los parámetros clínicos con los niveles de IL-1 α e IL-1 β , mostró una correlación significativa, que no se observó con el TNF- α , estos resultados son similares a los obtenidos por otras investigaciones que reportan una mayor concentración de mediadores en tejido inflamado, y en relación directa con los parámetros periodontales³⁰⁻³³. Por el contrario, otros estudios no han mostrado correlaciones entre los parámetros clínicos periodontales y los mediadores de la inflamación estudiados^{21,26,34}. Estas discrepancias están relacionadas con las poblaciones estudiadas, el tamaño y tipo de muestra utilizada, que han incluido: suero, saliva, tejido gingival o FGC. Así mismo, pueden influir el procedimiento utilizado para la toma de muestra y las diferentes técnicas de análisis empleadas en los estudios: ELISA, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e Inmunohistoquímica.

En el presente trabajo de acuerdo con los resultados obtenidos, se encontró una alta variabilidad en las concentraciones de los mediadores químicos inflamatorios evaluados. El grupo con periodontitis presentó los mayores niveles de IL-1 α , IL-1 β y TNF- α en FGC, siendo IL-1 β la citocina que presentó los niveles más elevados.

Posterior a la TPNQ, se observó una disminución significativa de los valores clínicos periodontales, y en cuanto a los mediadores evaluados, estos redujeron sus valores promedios sin alcanzar los del grupo control.

Las correlaciones observadas entre los índices periodontales y los mediadores evaluados sugieren mayor correlación de IL-1 β con los signos clínicos de la enfermedad periodontal.

Referencias bibliográficas

1. Tonetti M, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):39-53.
2. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):821-78.
3. Socransky J, Haffajee A, Cugini M, Smith C, Kent R. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134-44.
4. Page R. Periodontal disease a new paradigm. *J Dent Edu.* 1998;62(10):812-21.
5. Gemmell E, Marshall R, Seymour G. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1997;14:112-43.
6. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to the periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003;74(3):391-401.
7. Stashenko P, Dewhirst F, Peros W, Kent R, Ago J. Interactions between interleukin-1, tumor necrosis factor, and lymphotoxin in bone resorption. *J Immunol.* 1987;(138):1464-68.
8. Garlet G. Destructive and protective role of cytokines in periodontitis: a reappraisal from host defense and tissue destruction viewpoint. *J Dent Res.* 2010;89(12):1349-63.
9. Sawada S, Chosa N, Ishisaki A, Naruishi K. Enhancement of gingival inflammation induced by synergism of IL-1 β and IL-6. *Biomed Res.* 2013;34(1):31-40.
10. Reis C, DA Costa A, Guimarães J, Tuna D, Braga A, Pacheco J, et al. Clinical improvement following therapy for periodontitis: Association with a decrease in IL-1 and IL-6. *Exp Ther Med.* 2014;8(1):323-27.
11. Page R. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1991;26(3 Pt 2):230-42.
12. Armitage G. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;(4):1-6.
13. Segelnick S, Weinberg M. Reevaluation of initial therapy: when is the appropriate time?. *J Periodontol.* 2006;77(9):1598-1601.
14. O'Leary T, Drake R, Naylor J. The plaque control record. *J Periodontol.* 1972;43(1):38.
15. Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-51.
16. Masado M, Persson R, Kenney J, Lee S, Page R, Allison A. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990;25(3):156-63.
17. Offenbacher S, Barros S, Mendoza L, Mauriello S, Preisser J, Moss K, et al. Changes in gingival crevicular fluid inflammatory mediator levels during the induction and resolution of experimental gingivitis in humans. *J Clin Periodontol.* 2010;37(4):324-33.
18. Teles R, Sakellari D, Konstantinidis A, Socransky S, Haffajee A. Application of the checkerboard immunoblotting technique to the quantification of host biomarkers in gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 2009;80(3):447-56.
19. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004;32(7):511-20.
20. Lavu V, Venkatesan V, Venugopal P, Lakkakula B, Paul SF, Peria K, et al. Clinical Relevance of Cytokines Gene Polymorphisms and Protein Levels in Gingival Cervical Fluid from Chronic Periodontitis Patients. *Iran J Immunol.* 2017;14(1):51-58. DOI: IJIV14i1A5.
21. Wilton J. Interleukin-1 beta and IgG subclass concentrations in gingival crevicular fluid from patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol.* 1993;38(1):55-60.
22. Gokul K. Estimation of level on TNF alpha in gingival crevicular fluid and serum, in periodontal health and disease. A biochemical study. *Indian Dent. Res.* 2012;23(3):348-52.
23. Heasman P, Collins J, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin 1 beta, leucotriene B4, prostaglandine E2, and TNF alpha, in experimental gingivitis in humans. *J Periodontol Res.* 1993;28(4):241-47.
24. Gümüş P, Nizam N, Nalbantsoy A, Özçaka O, Buduneli N. Saliva, Serum Levels of Pentraxin-3 and Interleukin-1beta in Generalized Aggressive or Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2014;85(3):e40-6.
25. Ertugrul A, Sahin H, Dikilitas A, Alpaslan N, Bozoglan A. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(1):44-51.
26. Cairo F, Nieri M, Gori A, Tonelli P, Branchi R, Castellani S, et al. Markers of systemic inflammation in periodontal patients, chronic versus aggressive periodontitis an explorative cross sectional study. *Euro J Oral Implantol.* 2010;3(2):147-153.
27. Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A. Levels of interleukin 1 beta, 8, 10 and RANTES, in gingival crevicular fluid and cell population in adult periodontitis patients and effect periodontal treatment. *J Periodontol.* 2000;71(10):1535-45.
28. Konopka J, Pietrzak A, Brzezińska-Błaszczyk E. Effect of scaling and root planning on Interleukin 1 beta, interleukin 8, and MMP-8, levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2012;47(6):681-88.
29. Costa F, Cortelli S, Silva T, Costa A, Lima R, Cortelli J, et al. Cytokine levels in crevicular fluid associated

- with compliance during periodontal maintenance therapy. *Clin Oral Investig*. 2018;dec 11. DOI: 10.1007/s00784-018-2770-x. [Epub ahead of print]
30. Chaudhari A, Byakod G, Waghmare P, Karhadkar V. Correlation of levels of interleukin-1 β in gingival crevicular fluid to the clinical parameters of chronic periodontitis. *J Contemp Dent Pract*. 2011;12(1):52-59.
 31. Lein T, Liu C, Liu B, Lin S, Liao C, Rossomando E. Interleukin 1- β clinical parameters and matched cellular-histopathologic changes of biopsed gingival tissue from periodontal patients. *J Periodontol Res*. 2003;38(3):247-54.
 32. Oliveira A, de Faveri M, Gursky L, Mestnik M, Feres M, Haffajee A, et al. Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *J Clin periodontol*. 2012;39(3):295-302.
 33. Hieda Y, Usui M, Nakamura T, Morishita M, Hanatani T, Moritani Y, et al. Decreased Ratios of Interleukin-1 β and Intercellular Adhesion Molecule 1 in Gingival Crevicular Fluid after Scaling and Root Planing Associated with Periodontal Pocket Healing. *Open Journal of Stomatology*. 2017;(7):361-376. <https://doi.org/10.4236/ojst.2017.79031>.
 34. Górska R, Gregorek H, Kowalski J, Laskus-Perendyk A, Syczewska M, Madaliński K. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2003;30(12):1046-52.

