176
Ley

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

RESPUESTA INMUNE CELULAR A ANTIGENOS Y MITOGENOS DE LA PLACA DENTOBACTERIANA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PARODONTAL

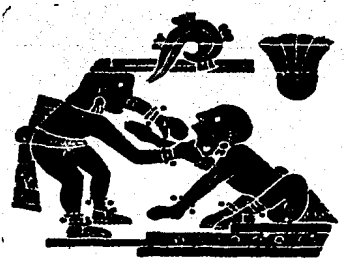
Vo Bo

T E S I S

Que para obtener el Título de
CIRUJANO DENTISTA

p r e s e n t a:

SERGIO RAYMUNDO LEYVA MEJIA



México, D. F. 1987

UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

		Pág.
	INTRODUCCION.	1
I.	LA RESPUESTA INMUNE	4
	a. RESPUESTA ANTIGENO ESPECIFICA	5
	b. MITÓGENOS	7
	c. BLASTOGENESIS	8
II.	TRANSFORMACION BLASTOIDE EN LA ENFERMEDAD PARODONTAL HUMANA	11
	a. ESTIMULACION CON ANTIGENOS DE PLACA DENTOBACTERIANA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PARODONTAL	11
	b. ESTIMULACION CON SONICADOS DE PLACA DENTOBACTERIANA	12
	c. FACTORES SUPRESORES PRESENTES EN EL SUERO DE PACIENTES CON PERIODONTITIS SEVERA	13
	d. ESPECIFICIDAD DEL FACTOR INHIBITORIO	15
	e. INMUNOSUPRESION INDUCIDA POR LINFOCITOS T CON RECEPTOR PARA LA IgG	15
III.	COMENTARIO	18
	a. POSIBLES MODELOS DE INTERFERENCIA MEDIADA POR ANTICUERPOS EN LA RESPUESTA INMUNE CELULAR	18
	b. POSIBLE SIGNIFICANCIA DE LA INMUNOSUPRESION INDUCIDA POR BACTERIAS	20
IV.	EFECTOS DE LA TERAPIA PARODONTAL SOBRE LA BLASTOGENESIS	22

Pág.

V. SUBSTANCIAS LIBERADAS POR LOS LINFOCITOS T DE PACIENTES CON ENFERMEDAD PARODONTAL 24

VI. MITOGENOS DE LA PLACA DENTOBACTERIANA 26

VII. RESPUESTA INMUNE DEL FETO A ANTIGENOS DE PLACA DENTOBACTERIANA DE MADRES CON ENFERMEDAD PARODONTAL. 29

VIII. DISCUSION 31

IX . CONCLUSION. 34

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. . . . . .

INTRODUCCION

El término enfermedad parodontal comprende un grupo de padecimientos inflamatorios crónicos que afectan los tejidos -- que rodean y soportan al órgano dentario.

La literatura actual sugiere que la higiene bucodental deficiente permite a la placa dentobacteriana y a sus productos acumularse en exceso sobre el diente y establecer un medio propicio para el inicio de la enfermedad. [1]

La enfermedad se clasifica en dos grupos principales:- las enfermedades llamadas gingivitis que afectan a la encía y - aquellas llamadas periodontitis que se dividen en diferentes -- formas clínicas de acuerdo a la edad del paciente, a la evolu-- ción de la enfermedad y al grado de destrucción de los tejidos- de soporte del diente. [2]

La placa bacteriana que coloniza los tejidos periodontales clínicamente sanos y enfermos se ha estudiado durante los últimos años utilizando diversas técnicas de microscopía. Usando el microscopio de campo obscuro, Listgarten y Hellden, [3] -- observaron que existen diferencias precisas con respecto a las- formas microbianas en la placa bacteriana entre sitios periodontales sanos y enfermos. El mismo y otros [4-11] estudios, han

demostrado que conforme la severidad de la enfermedad progresa- las proporciones de cocos disminuyen y las proporciones de bastones y espiroquetas aumentan. Reciprocamente, la placa bacteriana ya sea asociada con lesiones tratadas, o con tejidos periodontales sanos, contienen proporciones aumentadas de cocos y proporciones disminuidas de bastones móviles y espiroquetas.

Sin embargo, algunas investigaciones [12] sugieren que- ciertas bacterias asumen particular significancia en diversas - formas de periodontitis. La bacteria Actinobacillus actionomycetemcomitans (A.a) parece estar relacionada con la periodontitis avanzada en individuos jóvenes y se ha aislado con mucha -- frecuencia en la periodontitis adulta. Las especies Bacteroides gingivalis, B. intermedius y B. melaninogenicus son identificadas en casos de periodontitis adulta y algunas fusobacterias bucales son patógenos periodontales. Las especies Capnocytophaga a las que previamente se les relacionaba con periodontitis juvenil parecen ser menos importantes de lo que se sugeria, sin embargo estos microorganismos participan en la periodontitis asociada con diabetes mellitus. Además las especies Eubacterium han sido asociadas con la periodontitis en adolescentes.

Los microorganismos asociados a la enfermedad parodontal generalmente no invaden los tejidos periodontales para inducir la enfermedad ya que la reacción inflamatoria se produce -- cuando sus tóxinas se difunden atravéś del epitelio hacia el -

tejido conectivo. Sin embargo, se ha reportado que existe una-invasión bacteriana del tejido conectivo [13] en la periodontitis severa [14-17], periodontitis juvenil [18-21], estomatitis gangrenosa ó noma [22], gingivitis ulceronocrotizante aguda [23-25] y así como en animales de experimentación. [26-29].

Bajo este contexto microbiológico esta tesis analiza-la relación huésped-parásito en cuanto a la inmunidad celular--humana a las bacterias asociadas con la enfermedad parodontal.

CAPITULO I

LA RESPUESTA INMUNE

CAPITULO I

LA RESPUESTA INMUNE

La función del sistema inmunitario es identificar a -- las substancias con las que entra en contacto, como "ajenas" ó- "propias" al organismo y elimina a las ajenas mediante la res-- puesta inmune. [30]

La respuesta inmune es específica y se clasifica en celular y humoral. En la inmunidad celular participan los linfocitos T que se originan en la médula osea y terminan su maduración en el timo. Estas células intervienen en forma directa ó- a través de la elaboración de linfocinas. Por otra parte, la - inmunidad humoral se caracteriza por la participación de los -- linfocitos B que también se originan en la médula osea y al activarse se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos. [31]

Las substancias que provocan una respuesta inmune en - forma específica son los antígenos. En la inmunidad celular, - los antígenos se unen a los linfocitos T através de los receptores presentes en su superficie celular. Estos receptores son glucoproteínas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) que es un locus genético localizado en el sexto cromosoma de las células humanas. Los receptores son de dos --

clases: El receptor clase I es una glucoproteína de peso molecular elevado (45000) y se encuentra en todas las células nucleadas mientras que el receptor clase II es una glucoproteína compuesta por una cadena alfa de peso molecular elevado (34000) y una cadena beta de peso molecular bajo (29000). Este último solo se encuentra en los linfocitos T, linfocitos B y en macrófagos. [32]

Los linfocitos T responden al antígeno que los estimula con una producción policlonal de distintos tipos de linfocitos; estos son linfocitos T cooperadores, T supresores y T citotóxicos.

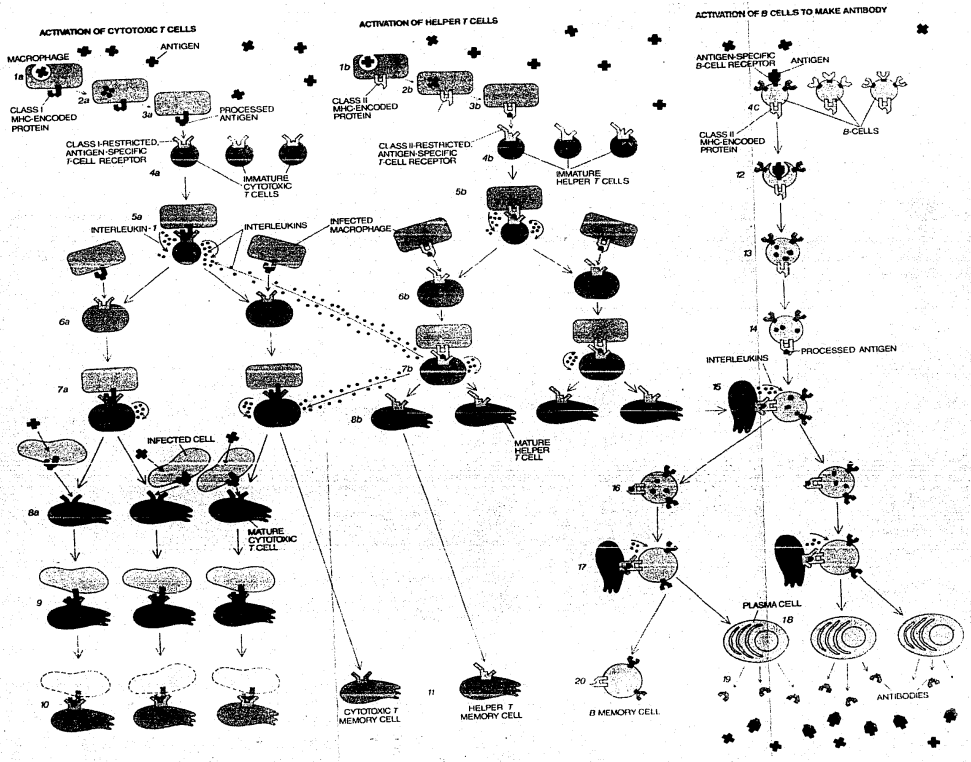
En la inmunidad humoral, la reacción antígeno anticuerpo se efectua através de sitios específicos presentes en las dos moleculas reactantes. Los pertenecientes al antígeno se llaman determinantes antígenicos y los del anticuerpo sitios de fijación del antígeno. El determinante antigénico entra en el sitio de fijación del antígeno como "una llave en su cerradura" y en ambos radica la especificidad antígeno anticuerpo. [30]

a. RESPUESTA ANTIGENO ESPECIFICA DEL SISTEMA INMUNE CELULAR Y HUMORAL

En la figura 1 se muestran tres tipos de respuesta celular: Linfocitos T citotóxicos (izquierda), linfocitos T coope

radores (centro) y linfocitos B (derecha). El antígeno que invade el organismo humano es englobado por el macrófago (1a, 1b), procesado (2a, 2b) y presentado en la superficie del macrófago como una molécula menos compleja (3a, 3b). En este punto el antígeno se une a los receptores de los linfocitos T (4a, 4b). Las células T destinadas a convertirse en citotóxicas y las futuras células T cooperadoras se unen al antígeno (5a, 5b). Las células T unidas al antígeno estimulan al macrófago y este libera interleucina 1 que a su vez estimula al linfocito T para que se divida y prolifere (6a, 6b). La división celular continua produciendose siempre y cuando existan más células que presenten al antígeno en sus superficies (7a, 7b). Apartir de este momento un linfocito T maduro termina su participación (8a, 8b). Si este es un linfocito T citotóxico puede unirse a la célula infectada que presente el antígeno (9) y matarla (10), ó puede quedarse circulando, en la sangre y linfa, como una célula de la memoria que un futuro tendrá contacto con la misma clase de antígeno (11); una célula T cooperadora también puede convertirse en célula de la memoria. La función de las T cooperadoras es estimular la proliferación de los linfocitos B activados.

Simultaneamente, un linfocito B que tenga un receptor para el antígeno se une a él (4c). El linfocito B que ha englobado al antígeno (12) y lo ha procesado (13) también lo presenta menos complejo en su superficie (14). Entonces una célula T cooperadora madura se une al complejo antígeno-anticuerpo del


ACTIVATION OF CYTOTOXIC T CELLS
MACROPHAGE
ANTIGEN
1a
2a
3a
CLASS I MHC-ENCODED PROTEIN
PROCESSED ANTIGEN
CLASS I-RESTRICTED ANTIGEN-SPECIFIC T-CELL RECEPTOR
4a
IMMATURE CYTOTOXIC T CELLS
5a
INTERLEUKIN-1
INTERLEUKINS
6a
7a
INFECTED CELL
8a
MATURE CYTOTOXIC T CELL
9
10
ACTIVATION OF HELPER T CELLS
1b
2b
3b
CLASS II MHC-ENCODED PROTEIN
CLASS II-RESTRICTED ANTIGEN-SPECIFIC T-CELL RECEPTOR
4b
IMMATURE HELPER T CELLS
5b
INFECTED MACROPHAGE
6b
7b
8b
MATURE HELPER T CELL
11
CYTOTOXIC T MEMORY CELL
HELPER T MEMORY CELL
ACTIVATION OF B CELLS TO MAKE ANTIBODY
ANTIGEN-SPECIFIC B-CELL RECEPTOR
ANTIGEN
4c
B-CELLS
CLASS II MHC-ENCODED PROTEIN
12
13
14
PROCESSED ANTIGEN
INTERLEUKINS
15
16
17
PLASMA CELL
18
19
ANTIBODIES
20
B MEMORY CELL

linfocito B (15). La unión provoca la liberación de interleucinas que permiten al linfocito B dividirse y diferenciarse (16); La división celular continua, siempre y cuando esta siga siendo estimulada por T cooperadoras (17). Entonces los linfocitos B-convertidos en células plasmáticas, liberan sus receptores antígeno-específicos, como anticuerpos, que se unen al antígeno libre y lo destruyen (19). Mientras tanto, linfocitos B maduros-se queda en la circulación como células de la memoria. [32]

b. MITOGENOS

Los mitógenos son substancias que activan inespecíficamente a los linfocitos y provocan su diferenciación celular. [33]

Entre los mitógenos empleados en las pruebas inmunológicas para evaluar la función de los linfocitos humanos se encuentran las lectinas. [34]

Las lectinas son un grupo de glucoproteínas vegetales-que tienen afinidad por ciertos carbohidratos. Algunas se -- adhieren a los linfocitos humanos porque en la superficie de estas células existen carbohidratos con afinidad para el carbohidrato de la lectina que los estimula.

Las lectinas comunmente utilizadas son: La fitohemaglutinina con afinidad por la D galactosamina y la concanavalina -

A con afinidad por la alfa manosa son predominantemente mitogénicas para los linfocitos T, mientras que el mitógeno extraído de la raíz de la Phytolacca americana (PWM) estimula los linfocitos B. [35]

c. BLASTOGENESIS

Los linfocitos activados manifiestan una serie de eventos bioquímicos y cambios morfológicos que los llevan desde un estado de reposo a la división celular. Estos eventos son conocidos con el nombre de blastogénesis, linfoproliferación y transformación blastoide.

A. Eventos Bioquímicos

De segundos a minutos se manifiestan cambios en la membrana celular después de la estimulación con antígenos ó mitógenos. Aumenta la permeabilidad para los cationes divalentes; se incrementa la síntesis y recambio de fosfolípidos; se activa la adenilatociclasa y se eleva el AMP_c intracelular; aumenta la captación de calcio y ocurren cambios en los nucleótidos cíclicos.

Unas horas más tarde, se aceleran las síntesis del RNA, de poliaminas y el metabolismo de los carbohidratos.

En días posteriores se presenta la síntesis del DNA -- que da por resultado la división celular y constituye la base - de los análisis clínicos.

La conveniencia ha conducido a los inmunólogos a em- - plear como marcador de la transformación blastoide, la síntesis del DNA en lugar de eventos menos avanzados como el metabolismo del AMP_c ó de los fosfolípidos. [32]

B. Cambios Morfológicos

El citoplasma aumenta de tamaño y es notable por su ri queza en ribosomas agrupados en acúmulos ó polirribosomas. El - aparato de golgi es de gran tamaño y las mitocondrias son núme- rosas y dilatadas. También se observa la aparición de vacuolas, acúmulos de glucógeno y microfibrillas.

El núcleo contiene muy poca heterocromatina y el nu-- cleolo es de gran tamaño. Después se observa la disperción de- la cromatina nuclear que corresponde a la síntesis del DNA y - aparecen linfocitos pequeños ó blastos que son el resultado de la división celular. [34]

"La transformación blastoide es una técnica comunmente empleada para evaluar la inmunidad celular in vitro. Esta prue ba indica lo que posiblemente ocurre in vivo cuando los linfoci

tos reaccionan con el antígeno ó mitógeno, y es una expresión - de los cambios que se manifiestan cuando los linfocitos en reposo son transformados en linfoblastos".

CAPITULO II

TRANSFORMACION BLASTOIDE EN LA ENFERMEDAD PARODONTAL HUMANA

CAPITULO II

TRANSFORMACION BLASTOIDE EN LA ENFERMEDAD PARODONTAL HUMANA

a. ESTIMULACION DE LA BLASTOGENESIS CON ANTIGENOS DE PLACA DENTOBACTERIANA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PARODONTAL.

Diferentes autores han estudiado la relación huesped - parásito en la enfermedad parodontal humana. En la década de - los 70 la Dra. Ivanyi y el Dr. Lehner iniciaron una serie de investigaciones para evaluar la participación de la inmunidad celular en la enfermedad parodontal humana. Sus estudios fueron realizados mediante la técnica de la transformación blastoide - utilizando bacterias asociadas con enfermedad parodontal.

En su primer investigación Ivanyi y Lehner [36] utilizaron extractos de Veillonella alcalenscens, Fusobacterium fusiforme y Bacteroides melaninogenicus para estimular linfocitos - de la sangre periférica de pacientes con diferentes grados de - inflamación parodontal; incluyendo gingivitis crónica (GC), periodontitis moderada (PM) y periodontitis severa (PS). También se estudiaron individuos sanos (grupo control) con el objeto de comparar las diferentes respuestas entre salud y enfermedad.

Cuando los linfocitos de ambos grupos fueron estimula-

dos los linfocitos de pacientes con GC y PM respondieron, mientras que los linfocitos de pacientes con PS y los del grupo control no mostraron linfoproliferación.

Los linfocitos de pacientes con GC y PM responden similarmente al reto con sonicados de V. alcalenscens indicando que una vez establecida la respuesta inmunitaria celular a V. alcalenscens esta no cambia. Sin embargo llega un momento en el -- que la respuesta inmune a V. alcalenscens se bloquea, lo cual - esta relacionado con los severos cambios clínicos.

b. ESTIMULACION CON SONICADOS DE PLACA DENTOBACTERIANA

Posteriormente, Ivanyi y Lehner [37] investigaron las -- respuestas de pacientes con PS y del grupo control al ser estimulados con sonicados autólogos y homólogos de placa dentobacteriana con el fin de estudiar las posibles causas de la ausencia de linfoproliferación.

En este estudio se observó que los linfocitos de pa- - cientes con GC y PM respondieron tanto a su propia placa como a la de pacientes con PS e individuos sanos. Sin embargo los linfocitos de pacientes con PS y de individuos sanos no respondieron a ninguno de los sonicados. (Gráfica 1)

LINFOCITOS \ ANTIGENOS	G C	P M	P S	I S
G C	+	+	+	+
P M	+	+	+	+
P S	—	—	—	—
I S	—	—	—	—

(Grafica 1)

Estos resultados indican que los linfocitos del grupo-control no han sido sensibilizados y por lo tanto no reconocen-al antígeno que estimuló a los linfocitos de pacientes con GC y PM.

c. FACTORES SUPRESORES PRESENTES EN EL SUERO DE PACIENTES CON-PS.

Tomando en cuenta que en enfermedades como la tuberculosis y ataxia telangectacia se han encontrado factores séricos que inhiben la blastogénesis, Ivanyi y Lehner [38] analizaron la posible intervención de factores séricos que contribuyen al bloqueo de la blastogénesis en pacientes con PS.

En la realización de este análisis, linfocitos de pa--

pacientes con GC y PS se cultivaron en suero autólogo, homólogo, suero fetal de ternera (SFT) y fueron estimulados con sonicados de V. alcalenscens.

Al cultivar los linfocitos de pacientes con PS en suero de pacientes con GC y suero fetal de ternera se restituyó su capacidad de responder al reto con V. alcalenscens. Para confirmar que el suero de pacientes con PS contiene el factor inhibidor, se incubaron los linfocitos de pacientes con GC en suero de pacientes con PS y se observó que su respuesta a la estimulación con V. alcalenscens quedaba bloqueda. (Gráfica 2)

Esto índica que el suero de pacientes con PS contiene un factor inhibidor que impide la blastógenesis de sus linfocitos.

LINFOCITOS	SUEROS: SFT	GC	PS
PS	+	+	—
GC	+	+	—
PM	+	+	—

(Grafica 2)

d. ESPECIFICIDAD DEL FACTOR INHIBITORIO

Ivanyi y Lehner [39] analizaron el suero de pacientes -- con GC y PS mediante una cromatografía de intercambio ionico para determinar la especificidad de este factor inhibitorio y la- posibilidad de que fuera un anticuerpo.

Este análisis reveló que el suero de pacientes con GC- y PS contenia predominantemente anticuerpo IgM específico para- V. alcalenscens mientras que el único suero que poseía los títulos más altos de IgG específica era el de los pacientes con PS.

Basandose en este resultado, Ivanyi y Lehner propusieron que al ser los pacientes con PS los únicos en poseer los títulos más altos de IgG, este anticuerpo podría tener una participación directa en la inmunosupresión observada en estos pa- - cientes.

e. INMUNOSUPRESION INDUCIDA POR LINFOCITOS T CON RECEPTOR PARA LA IgG.

Moretta [40,41] demostró que, mediante la técnica de rosetas, se pueden identificar diferentes subpoblaciones de linfocitos T con receptores en la superficie celular para la IgM ó - IgG. Aquellos con receptor para la IgM (T_M) cooperan, mientras aquellos con receptor para la IgG (T_G) suprimen la diferencia--

ción de los linfocitos B inducida por él mitógeno PWM.

Con base en estos hallazgos y a los niveles predominantes de IgG en pacientes con PS, Ivanyi y col [42] estudiaron la posibilidad de que la inmunosupresión observada en estos pacientes se debiera a la participación de las células T_G.

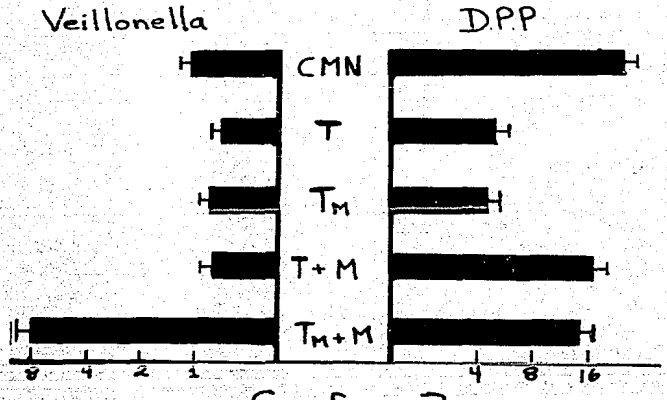
Se prepararon cinco cultivos diferentes con linfocitos T y células mononucleares (CMN). En los tres primeros se cultivaron, por separado, CMN, células T y células T_M. En los otros dos, se cultivaron células T y células T_M a las cuales se les adhirieron posteriormente monocitos. Todos estos cultivos se llevaron a cabo excluyendo células T_G y fueron estimulados con V. alcalenscens y DPP.

Los resultados indican que los cultivos de CMN, células T y de células T_M no fueron estimulados en grado significativo por V. alcalenscens.

Sin embargo cuando al cultivo de células T_M se le agregaron monocitos se incremento la respuesta a V. alcalenscens. También los monocitos al ser adheridos a los cultivos estimulados con DPP restablecieron la blastogénesis. (Gráfica 3)

Estos resultados demuestran que la deficiente respuesta a V. alcalenscens en pacientes con PS se puede restablecer

removiendo las células T_G y llevando la respuesta a un nivel de síntesis de DNA comparable con aquel encontrado en pacientes -- que padecen GC y PM. Además sugieren que la célula responsable de la inmunosupresión lleva un receptor F_c en su superficie y - es específica para antígenos de V. alcalenscens ya que no inhibió la proliferación linfocitaria inducida por DPP.



Grafica 3

CAPITULO III

C O M E N T A R I O

CAPITULO III

C O M E N T A R I O

a. POSIBLES MODELOS DE INTERFERENCIA MEDIADA POR ANTICUERPOS EN LA RESPUESTA INMUNE CELULAR

Después de una extensa revisión de la literatura sobre los mecanismos de inmunosupresión que se manifiestan en diversas enfermedades, en esta tesis se proponen los siguientes mecanismos que posiblemente bloquean la respuesta inmune celular en la enfermedad parodontal.

1.- Por efecto anti-idiotipo el anticuerpo anti-Veillonella podría presentar reacción cruzada con idiotipos presentes en los linfocitos; en este mecanismo se proponen dos alternativas:

a.- El anticuerpo formado contra el antígeno, actúa como anticuerpo anti-idiotipo al reconocer los determinantes idiotípicos presentes en los receptores al antígeno, de los linfocitos efectores, bloqueandose así la capacidad de estos linfocitos para responder.

b.- El anticuerpo anti-Veillonella reconoce los determinantes idiotípicos de las células T_s activandolas, estas a su vez actuan sobre los linfocitos T efectores inhibiendo su acti-

vidad. (Fig. 2)

2.- Através de los sitios de reconocimiento para F_c - del anticuerpo anti-Veillonella en superficies celulares. Se - proponen:

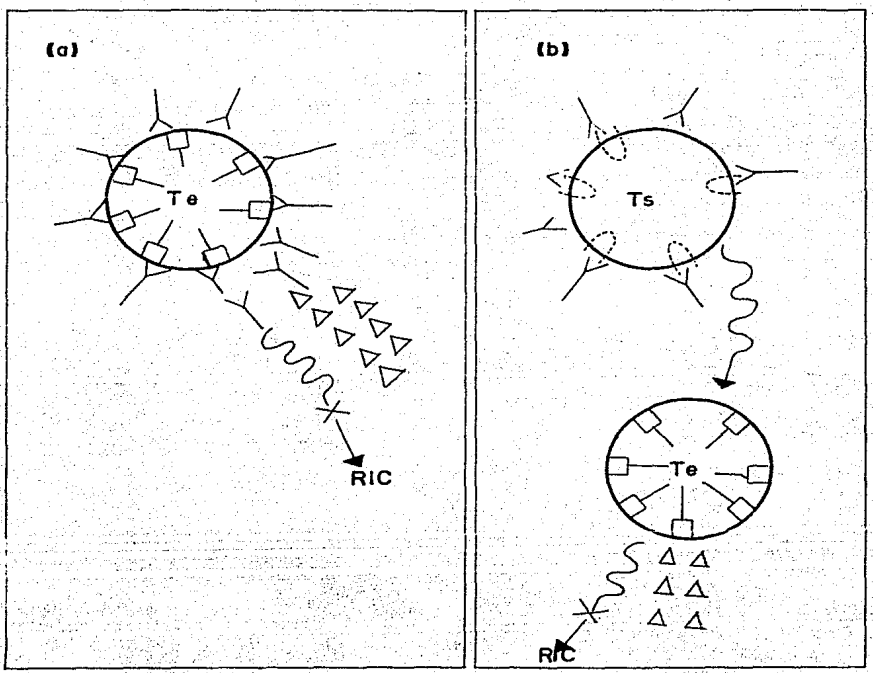
a.- Que existen receptores en los linfocitos y macrófagos supresores para la porción F_c del anticuerpo, el cual se- uniría a la célula, activandola para suprimir la acción de los- linfocitos T efectores y por ende la respuesta inmune celular.

b.- Que los linfocitos T efectores además del recep-- tor para el antígeno tuvieran receptores F_c, de ahí que una vez que se uniera el anticuerpo presente en altas concentraciones,- podría enmascarar a los receptores para el antígeno, o provocar un cambio a nivel de membrana que evitaría que estas células -- llevaran a cabo la estimulación por el antígeno. (Fig. 3)

Como los complejos antígeno-anticuerpo son excelentes- formas para la intromisión ilícita de los anticuerpos auto-anti -idiotipo, se ha propuesto que puede ser de esta forma que di-- chos anticuerpos interfieren con la acción de los linfocitos T; Hayward y col proponen que la inmunosupresión encontrada <u>in vitro</u>, al poner en contacto linfocitos T y complejos inmunes, es- provocada por la interacción de la porción F_c de los determinan tes antigénicos de las inmunoglobulinas presentes en complejos-

Fig. 2

Por efecto anti—idiotipo El anticuerpo Anti—Veillonella tiene reacción cruzada con idiotipos presentes en linfocitos.[47,48]



Ag

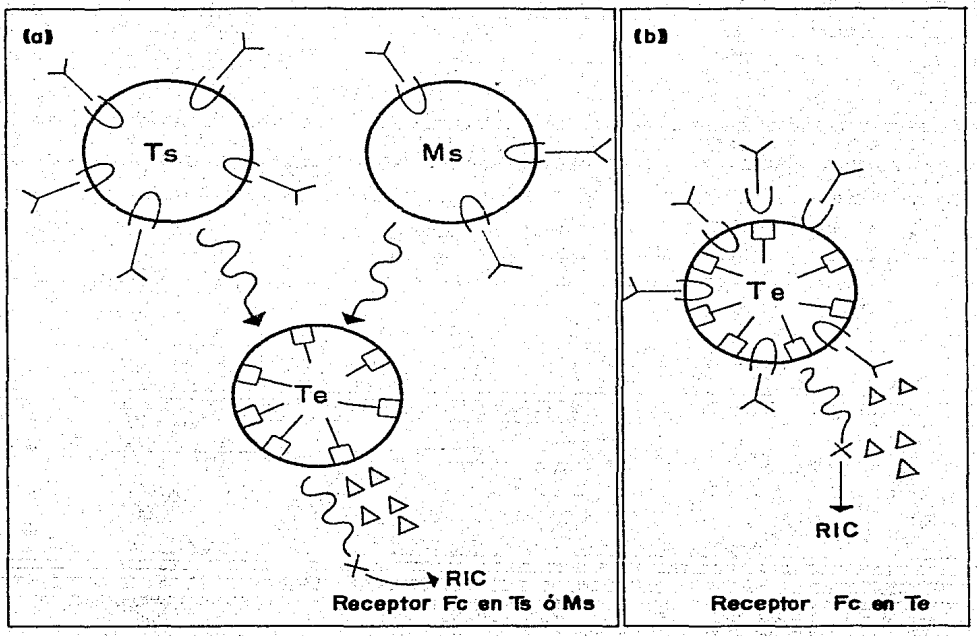
Receptor Ag

Ac. Anti—Veillonella

Determinantes idiotipicos en población aumentada de Ts

Fig. 3

Através de los sitios de reconocimiento para Fc de los anticuerpos anti—Veillonella en suprficie celular.[49]



△	Ag.
⊏	Receptor Ag.
⊂	Receptor para Fc.
⟙	Ac Anti—Veillonella.
Ts	T supresor
Te	T efector
Ms	Macrófago Supresor
RIC	Respuesta Inmune Celular

inmunes con los receptores de los linfocitos T siendo estos inducidos a presentar actividad supresora. Además, tanto los complejos inmunes que contienen I_gG como los que contienen I_gM pueden provocar que las células T in vitro adquieran actividad supresora siendo que los complejos inmunes han sido identificados en sistemas tumorales [43] y en enfermedades infecciosas como histoplasmosis [44], coccidioidiomicosis [45] y tuberculosis. [46]

b. POSIBLE SIGNIFICANCIA DE INMUNOSUPRESION INDUCIDA POR BACTERIAS

Algunos investigadores [50] han propuesto que la inmunosupresión en la enfermedad parodontal es inducida por bacterias. Estas propuestas se resumen en los cuatro incisos siguientes.

A.- Función normal reguladora. Schwab propuso que la capacidad de las bacterias para modular la respuesta inmune es parte de un proceso natural en el cual la flora microbiana participa en la regulación de muchos procesos fisiológicos incluyendo la respuesta inmune específica.

B.- Participación Patogénica. Se ha considerado que los agentes microbianos inmunosupresores pueden participar de manera definitiva determinando la aparición de algunas infecciones provocadas por micro-organismos no relacionados. Shenker propuso que los pacientes que portaban A.a podrían sufrir -

de inmunosupresión local o sistémica la cual podría acelerar la patogenecidad de A.a y de otros microorganismos oportunistas. - Shenker y DiRenzio, también han propuesto efectos similares del factor inmunosupresor de F. nucleatum.

C.- Efecto protector. Los hallazgos clínicos e histo patológicos en pacientes inmunodeficientes o terapeuticamente - inmunosuprimidos no sugieren del todo que estas condiciones - - afecten el curso o severidad de la enfermedad parodontal. Se - ha sugerido que la respuesta deprimida a organismos periodonto-patógenos podría ser benéfica y ser el objetivo inmunoprofilactico deseado en la enfermedad parodontal.

D.- Posible diagnóstico y valor pronóstico. Tolo y - Shenk estudiaron recientemente la posibilidad de desarrollar métodos serodiagnósticos para la periodontitis con base en los niveles elevados de anticuerpo específico a bacterias relaciona-- das con la periodontitis. El objetivo de tales estudios es establecer una base serológica para la identificación de sujetos-propensos o para la evaluación de un pronóstico. La observa-- ción de la depresión de los niveles de anticuerpo y de la res-- puesta blastogénica a algunas bacterias en muchos pacientes, sugiere que tales respuestas también pueden ser de gran valor en- este contexto.

CAPITULO IV

EFECTOS DE LA TERAPIA PARODONTAL SOBRE LA BLASTOGENESIS

CAPITULO IV

EFECTOS DE LA TERAPIA PARODONTAL SOBRE LA BLASTOGENESIS

Diversos autores han estudiado los efectos de la terapia parodontal sobre la respuesta blastogénica. Baker y col [51] encontraron que los linfocitos periféricos, aparentemente sin respuesta de pacientes con periodontitis severa, incrementáron su respuesta a antígenos de placa bacteriana después de 6 meses ha haber iniciado el tratamiento. Osterberg [52], encontro que la respuesta blastógenica de 8 pacientes con periodontities severa a los extractos de A. Viscosus, F. Nucleatum y de placa autóloga se incremento significativamente durante la terapia.

Lopatin [53] estudio los efectos de la terapia parodontal sobre la blastogénesis en 23 pacientes con periodontitis moderada. La respuesta a extractos ultrasonicados de A. viscosus, F. nucleatum, B. gingivalis, S. sanguis y a varios estimulantes no relacionados con la enfermedad fue monitoreada durante la terapia activa y por un periodo de dos años. Después de haber concluido la fase profiláctica, las respuestas a todos los microorganismos, excepto, B.gingivalis, se incrementaron ligeramente. Entre el primero y segundo año de terapia continua, las respuestas. a A. viscosus,--

B. ginvigalis y F. nucleatum se incrementaron tan significativamente que al cabo de 2 años después de haber concluido el tratamiento, las respuestas a A. viscosus y F. nucleatum fueron más altas que los valores alcanzados antes de dicho tratamiento.

Susuki [54] reportó que la reacción autóloga del cultivo de linfocitos mixtos, la cual fue normal en sanos, se mostró deprimida en paciantes con periodontitis antes de que estos recibieran tratamiento. Esta depresión se mantuvo durante 6 meses después de la terapia y volvió a la normalidad 12 meses después del tratamiento.

CAPITULO V

SUBSTANCIAS LIBERADAS POR LOS LINFOCITOS T DE PACIENTES CON ENFERMEDAD PARODONTAL

CAPITULO V

SUBSTANCIAS LIBERADAS POR LOS LINFOCITOS T DE PACIENTES CON ENFERMEDADES PARODONTAL

Una vez que los linfocitos humanos se diferencian en células inmunocompetentes liberan mediadores solubles o linfocinas al ser estimulados por antígenos.

Se ha demostrado que los linfocitos T de pacientes con enfermedad parodontal producen MIF (Factor Inhibitorio de la migración de macrófagos) y muestran citotóxicidad sobre eritrocitos de pollo, cuando se les estimula con V. alcalenscens.[55] También al ser estimulados con antígenos de placa dentrobacteriana liberan un factor activador de osteoclastos [56] y linfocinas citotóxicas para los fibroblastos de encía humana. [57] Además los linfocitos de pacientes con gingivitis producen un factor de la migración de leucocitos cuando se les estimula con antígenos de V. parvula. Por último, ambas células T y B producen un factor quimiotáctico de monocitos. [58].

Estudios recientes [59] han demostrado que la interleucina 1 (IL-1) puede ser detectada en el fluído gingival de zonas inflamadas que de zonas no inflamadas en pacientes con periodontitis. También se ha observado que los fibroblastos gingivales humanos producen grandes cantidades de IL-1, y que por tal moti-

vo, el incremento de IL-1, en la encía de pacientes con peridontitis puede provenir de dichas células y de macrófagos.

Esta interleucina 1 ha demostrado tener varias funciones:

1.- Incrementa las respuestas inflamatoria e inmunologica en los tejidos gingivales.

2.- Atrae a los leucocitos PMN para migrar hacia los tejidos gingivales.

3.- Estimula la resorción osea en el ratón.

4.- Es un estimulador potente de la producción de colagenasa por parte de los fibroblastos.

5.- También se ha reportado que la IL_1 de monocitos humanos tratados con LPS incrementa la producción de colagenasa tipo IV en células epiteliales de glándula mamaria.

6.- Inhibe la producción de una proteína osea (Osteocalcina) en osteoblastos humanos.

En otros estudios [60] se ha comprobado que linfocitos extraidos de biopsias gingivales de pacientes con enfermedad parodontal, son capaces de producir <u>in vitro</u> y sin estimulación, tanto interleucina 2 como una substancia que activa la resorción osea.

CAPITULO VI

MITOGENOS DE LA PLACA DENTOBACTERIANA

CAPITULO VI

MITOGENOS DE LA PLACA DENTOBACTERIANA

En el año de 1970 se reportó que los linfocitos humanos no eran activados *in vitro* por LPS bacterianos y hasta 1974 no existia reporte alguno de que los linfocitos humanos se activaran con levan y dextran. En este último año, Ivanyi y Lehner [61,62,63], pensando en que la placa dentobacteriana contiene estas substancias, investigaron si eran mitogénicas *in vitro* para los linfocitos humanos.

En la realización de este estudio se cultivaron linfocitos de la sangre periférica de individuos sanos y de pacientes con enfermedad parodontal. Ambos cultivos fueron estimulados con LPS de la bacteria *V. alcalenscens* y con levan y dextran de las bacterias *Corynebacterium levaniformis* y *Leuconostoc*.

Los resultados obtenidos muestran que los LPS, levan y dextran activan los linfocitos humanos. Sin embargo estos tres estimulantes difieren en su poder mitogénico y en sus concentraciones óptimas.

El levan induce el índice de estimulación más alto mientras los LPS y el dextran estimulan en menor intensidad.

Las concentraciones óptimas son de 500 μg para el levan, 50 μg. para el dextran y de 10 μg para los LPS. El componente de los LPS que activa a los linfocitos B humanos es la porción lipídica A.

Los linfocitos de pacientes con enfermedad parodontal responden mejor que los individuos sanos al levan y a los LPS.- La razón de esto aún no esta clara pero se han propuesto posibles mecanismos para ello. Se sugiere que los LPS estimulan una subpoblación de células B humanas las cuales se pueden encontrar en los sitios de inflamación crónica tales como el liquído sinovial de pacientes con artritis reumatoide [64]. Entonces es posible que estos linfocitos B sean responsables del incremento de la respuesta al levan y a los LPS en pacientes con enfermedad parodontal.

También el número de linfocitos B con receptores para el complemento se encuentran aumentados en sitios de inflamación crónica y ya que la enfermedad parodontal es una enfermedad inflamatoria crónica, es posible que el aumento de la respuesta a los LPS y al levan, podría interpretarse como un aumento de receptores C3 de los linfocitos.

Otro mecanismo sugiere que la estimulación de linfocitos B por mitógenos es macrófago dependiente. Es posible que el procesamiento de los LPS, levan y dextran por células fagocí

ticas podría liberar un mitógeno endógeno como mediador de la - estimulación linfocítica. En consecuencia, índices más eleva-- dos de estimulación podrían resultar de concentraciones más - - grandes de lo normal de macrófagos en la sangre periférica de - pacientes con enfermedad parodontal.

En otras investigaciones [65], se ha demostrado que los- hallazgos in vitro con linfocitos humanos son comparables con -- los efectos in vivo de LPS en la hipersensibilidad mediada por- células T en el ratón; por ejemplo: La exposición de linfocitos humanos a LPS 6 levan 24 horas antes de la exposición a V. al-- calenscens produce inmunosupresión de células T, por el contra- rio, si la secuencia de antígeno y mitógeno es invertida, la -- proliferación de células T aumenta.

CAPITULO VII

RESPUESTA INMUNE DEL FETO A ANTIGENOS DE PLACA DENTOBACTERIANA DE MADRES CON ENFERMEDAD PARODONTAL

CAPITULO VII

RESPUESTA INMUNE DEL FETO A ANTIGENOS DE PLACA DENTOBACTERIANA DE MADRES CON ENFERMEDAD PARODONTAL

Investigaciones recientes [66] sobre la respuesta inmune materno-fetal a antígenos de placa bacteriana han revelado que la sensibilización de los linfocitos a antígenos de dicha placa ocurre in utero ya que los linfocitos del cordón umbilical de neonatos provenientes de madres con enfermedad parodontal manifiestan blastogénesis al ser estimulados con V. alcalenscens, A. viscosus, dextran B1355, LPS, levan y sulfato dextrano.

Además Donalson [67] y col han demostrado que los linfocitos B de neonatos responden al ser estimulados con antígenos de A. viscosus, F. nucleatum, A. israelli y Peptococus micros.

El mecanismo por el cual se sensibilizan los linfocitos fetales a los antígenos de placa dentobacteriana materna es poco conocido. La evidencia indíca que los antígenos de la placa dentobacteriana de la madre no atraviezan la placenta para sensibilizar directamente los linfocitos fetales, pues no se han detectado anticuerpos IgM en el feto.

Una alternativa sería que los linfocitos fetales se --

sensibilicen por medio de un factor de transferencia que tiene la capacidad de preparar a los linfocitos fetales para que respondan al antígeno aún sin haber sido expuestos al mismo. El mecanismo por el cual el factor de transferencia prepara a los linfocitos es desconocido. [68]

DISCUSION

La enfermedad parodontal es un padecimiento inflamatorio crónico que en sus distintas variedades afecta hasta un 80% de los seres humanos.

Los resultados obtenidos por Ivanyi y Lehner señalan la importancia de los antigenos y mitógenos de la placa dentobacteria en la inducción de la respuesta inmune en la enfermedad parodontal. Esta respuesta inmunitaria celular se inicia y se mantiene durante las etapas tempranas del padecimiento pero en las formas severas de la enfermedad se deprime.

Otros autores[69-71] no han obtenido los mismos resultados que Ivanyi y Lehner ya que han reportado respuestas linfoproliferativas positivas tanto en individuos sanos como en pacientes con periodontitis juvenil generalizada y periodontitis severa. Quizas esta contradicción se debe a que existen diferencias en la técnica utilizada para aislar, estimular y cultivar los linfocitos.[72]

Por otra parte, existe considerable interes para esclarecer las razones por las cuales algunos individuos sanos responden al reto con antígenos de placa bacteriana mientras que otros no responden. Se ha propuesto que ciertos individuos sa

nos no manifiestan blastogénesis porque previo al experimento, reciben asistencia profesional tanto en cepillado como en higiene bucal para reducir al máximo la acumulación de bacterias sobre el diente y los tejidos[72]. Aun así, esto no es una explicación satisfactoria ya que en los estudios de Ivanyi y Lehner -- los grupos control solo fueron seleccionados através de un examen clínico y radiológico del parodonto y no recibieron asistencia profesional alguna.

Ivanyi y Lehner[37] proponen que los individuos sanos -- que no responden a bacterias bucales no estan sensibilizados a los antígenos a los cuales fueron expuestos. Sin embargo, esto es poco probable ya que en alguna etapa de su vida pudieron haber quedado sensibilizados. Otra alternativa es que si estas personas padecieron gingivitis quizas la exposición al antígeno no fue lo suficiente para haber creado inmunidad permanente.

La respuesta inmune celular participa en la patogénesis de la enfermedad parodontal ya que los linfocitos de pacientes con gingivitis y periodontitis liberan linfocinas citotóxipara los tejidos periodontales[73,74]. Además los cambios clínicos e histopatológicos *in vivo* corroboran estos hallazgos observados *in vitro*[75]. Otra sugerencia[76] es que en los pacientes -- que reciben terapia inmunosupresiva, o en aquellos que padecen inmunodeficiencia, el grado de enfermedad periodontal es menor a aquel que se espera observar en relación a la cantidad de pla

ca bacteriana acumulada sobre el diente.

In utero, el feto posee linfocitos sensibilizados a -- antígenos de placa dentobacteriana materna y además antícuerpos IgG específicos obtenidos por transferencia placentaria. [68]

En el período de lactancia el neonato adquiere protección contra bacterias bucales através de los anticuerpos IgG, - IgM e IgA presentes en el calostro de la leche materna[77] pues - al no existir parodonto sus linfocitos no atraviezan la mucosa- para penetrar en la cavidad bucal. Sin embargo esta situación- cambia con la erupción de los dientes primarios ya que los elementos de la respuesta tanto humoral como celular primero en- - tran a la zona crevicular y después pasan a la cavidad bucal en el exudado del surco gingival.

Si la linfosensibilización adquirida in utero, persistiera y afectara el parodonto del neonato durante su primer dentición, esto sería un factor congénito en la enfermedad parodontal. Entonces el control de placa bacteriana adquiriria relevante importancia en términos preventivos tanto en la propia madre como en el niño.

CONCLUSION

1. La enfermedad parodontal se asocia con el exceso de placa - dentobacteriana acumulada sobre el diente y los tejidos.

2. La respuesta inmune celular participa en la enfermedad parodontal ya que este padecimiento es un proceso inflamatorio.

3. Esta respuesta inmune se inicia y se mantiene durante las - etapas tempranas del padecimiento pero en las formas severas de la enfermedad se deprime.

4. Los posibles mecanismos por los cuales la respuesta inmune- se anula son:

   a. Por efecto anti-idiotipo.
   b. Atraves de los sitios de reconocimiento para F_c del anticuerpo anti-Veillonella en linfocitos T y macrófagos.

5. Las bacterias también regulan la respuesta inmune.

6. La terapia parodontal reestablece la blastogenesis solo enciertas variedades de la enfermedad.

7. La respuesta inmune celular participa en la patogénesis de- la enfermedad.

8. Los mitógenos Levan, Dextran y LPS también inducen la res-- puesta inmune.

9. El neonato es sensibilizado *in utero* a antigenos de placa - dentobacteriana materna.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Newman MG: Current concepts of the Pathogenesis of periodontal disease. J. Periodontol. Vol. 56 No. 12 Dic. 1985.

2. Glickman I. Periodontal Disease In: Periodontal disease: Immunological factors I. (ed. by Glickman I) MSS Information Corporation New York

3. Listgarten MA and Hellden L: Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontall y diseased sites in humans, J. Clin Periodontol 5: 115, 1978.

4. Listgarten MA and Levis S: Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deteriorations J. Clin Periodontol. 8:122, 1981.

5. Armitage GC, Dickinson WR and Jenderseck RS et al.: Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. J. Periodontal 53:550, 1982.

6. Singletary MM, Crawford JJ and Simpson DM: Darkfield microscopy monitoring of subgingival bacteria during periodontal therapy. J. Periodontol 53: 671, 1982.

7. Keyes PH and Rams TE:A rationale for management of periodontal disease: rapid identification of microbial therapeutic targets with phase-contrast microscopy J Am Dent Assoc. 106: 803, 1983.

8. Listgarten MA and Schifter C.: Differential darkfield microscopy of subgingival bacteria as an aid in selecting recall intervals: results after 18 months. J. Clin Periodontol 9: 306, 1982.

9. Mousques T, Listgarten MA and Phillips RW: Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. J. Periodont Res 15: 144, 1980.

10. Rosenberg ES, Evian CE and Listgarten MA.: The composition of the subgingival microbiota after periodontal therapy J. Periodontol 52: 435, 1981.

11. Listgarten MA, Lindhe J and Hellden L. Effect of tetracycline and scaling on human periodontal disease. J. Clin Periodontol. 5: 246, 1978.

12. Slots J and Dahlén G: Subgingival microorganisms and bacterial virulence factors in periodontitis. Scand J. Dent Res 93: 119-27, 1985.

13. Manor A, Lehendiger M, Shiffer A and Tovel: Bacterial invasion of periodontal tissues in advanced periodontitis in humans J Periodontol. Vol. 55 No. 10 Oct. 1984.

14. Frank RM and Voegel JC: Bacterial bone resorption in advanced cases of human periodontitis. J Periodont Res 13: 251, 1978.

15. Frank RM: Bacterial penetration in the apical pocket wall of advanced human periodontitis J. Periodont Res 15:563, 1980.

16. Saglie R, Newman MG, Carranza FA and Pattison GL: Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. J. Periodontol. 53: 217, 1982.

17. Allenspach-Petrzilka GE and Guggenheim B: Bacterial invasion of the periodontium; an important factor in the pathogenesis of periodontitis? J Clin Periodontol. 10:609, 1983.

18. Gillett RR and Johnson NW.: Bacterial invation of the periodontium in a case of juvenile periodontitis. J Clin Periodontol 9: 93, 1982.

19. Saglie FR, Carranza FA, Newman MG, Cheng L and Lewin KJ: Identification of tissue-invading bacteria in human periodontal disease. J Periodont Res 17: 452, 1982.

20. Carranza FA, Saglie R, Newman MG and Valentin PL: Scanning and transmission electron microscopic study of tissue invading microorganisms in localized juvenile periodontitis. J Periodontol. 54: 598, 1983.

21. Christersson LA, Albini B and Zambon J., et. al. Demostration of Actinobacillus actinomycetemcomitans in gingival of localized juvenile periodontitis lesions. (Abstr. 255) J. Dent Res 62: 198, 1983.

22. Merrell BR, Joseph SW, Casazza L J. and Duncan JF: Bacterial bone resorption in noma (gangrenous stomatitis) J Oral Pathol. 10: 173, 1981.

23. Listgarten MA: Electron microscopic observation on the bacterial flora of acute ulcerative gingivitis. J Periodontol. 36: 328, 1965.

24. Heylings RT: Electron microscopy of acute ulcerative gingivitis (Vicent's type). Demostration of fusospirochaetal complex of bacteria within pre-necrotic gingival epithelium. Br. Dent J. 122: 51, 1967.

25. Courtois GJ, Cobb CM and Killoy WJ: Acute necrotizing ulcerative gingivitis a transmition electron microscope study J Periodontol. 54: 671, 1983.

26. Sallay K, Sanavi, Ring I. et. al: Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. J Periodont Res 17: 263, 1982.

27. Allenspach-Petrzilka GE and Guggenheim B: Bacterioides melaninogenicus. Intermedius invasion of rat gingival tissue J Periodont Res 17: 456, 1982.

28. Sallay K, Listgarten MA, Sanavi F et. al: Bacterial invation of oral tissues of immunosuppressed rats. Infec and Immun 43: 1091, 1984.

29. Sanavi F, Listgarten MA, Boyd F, Sallay K and Nowothy A: The colonization and establishment of invading bacteria in periodontium of ligature-treated Immuno-suppressed rats. J. Periodontol. Vol. 56 No. 5. May 1985.

30. Larralde C.: Inmunopatología. En: "texto de patología" Pelayo Correa, Arias Stella J, Perez Tamayo R y Carbonell L (Eds) p. 99 Prensa Medica Mexicana. 1970.

31. Bellanti JA Immunology II. W.B. Sauders Company 1978.

32. Marrack P and Kappler J: The T cell and its receptor Scientific American. p. 28-37 February 1986.

33. Fundenberg HH. Inmunología Básica y clínica. Editorial El manual moderno, S.A. de C.V. 1983.

34. Ashman RF. Lymphocyte activation In: Fundamental Immunology Ed. by E. Paul Raven Press, New York 1984.

35. Sharon N and Lis H. Lectins: Cell agglutinating and sugar-specific proteins. Science Vol. 177 No. 4053 September 1972.

36. Ivangi L and Lehner T: Stimulation of lymphocyte transformation in patients with periodontal disease Archs Oral Biol. 15, 1098-1096 1970.

37. Ivanyi L and Lehner T: Lymphocyte transformation by sonicates of dental plague in human periodontal disease. Arch Oral Biol. 16: 1117-1121. 1971.

38. Ivanyi L and Lehner T: The significance of serum factors in stimulation of lymphocytes from patients with periodontal disease by Veillonella alcalenscens Int. Arch Allergy 41: 620-627 1971.

39. Ivanyi L, Challacombe SJ and Lehner T: The specificity of, serum factors in lymphocyte transformation in periodontal disease. Clin and Exp Immunol 14: 491-500 1973

40. Moretta L, Ferrarini M, Mingari MC, Moretta A and Webb SR: Subpopulation of human T cells identified by receptors for immunoglobulins and mitogen responsiveness. J Immunol 117: 2171-2174, 1976.

41. Moretta L, Webb SR, Grossi CE; Lydyard PM and Cooper MD: Functional analysis of two human T cell subpopulations: Help and Supression of B-cell responses by T cell bearing receptors for IgM or IgG. J. Exp. Med. Vol. 146 184-196, 1977.

42. Ivanyi L, Topic B and Lydyard PM: The role of T lymphocytes in cell-mediated immunity in patients with periodontal disease. Clin Exp. Immunol 46: 633-639 1981.

43. Sjogren HO, Hellstrom I, Bansal SC and Hellstrom E: Suggestive evidence that the blocking antibodies of tumor bearing individuals may antigen antibody complexes. Proc. Natl, Acad. Sci. U.S.A. 68: 1372-1375 1971.

44. Bullock WE, Artz RP and Bathena D. Histoplasmosis: Association with circulating immune complexes, eosinophilia and mesangiophatic glomeulonephritis. Arch. Inter-Med. 139: 700-702, 1979.

45. Yoshinoya S. Cox RA and Rope RM: Circulating immune complexes in coccidioidiomycosis. J. Clin Investi. 60: 655 - 663. 1980.

46. May JJ, Xatilus J, Henson PM: and Dreisin RB: The purification and identification of circulating immune complexes in tuberculosis. Am. Rev. Respir. Dis. 128: 920-925.

47. SY MS, Bach BA, Dohi Y, Nisonoff A, Bencerraf B, and Greene, MI: Antigen and receptor-driven regulatory mechanism. I. Induction of Supressor T cells with antiidiotypic antibodies. J. Exp. Med. Vol. 150 Nov. 1979. 1216-1228.

48. Bottomly K, Mathieson B.J., and Moises DE: Anti-idiotype induced regulation of helper cell function for the response to phosphorylcholine in adult balb/c mice. J. Exp. Med. Vol. 148 1978.

49. Moretta L, Mingari M; Moretta A, Haynes Bf and Fauci AS In: "Progress in Immunology IV" (M-Fougereaud and J. Dausset eds) p.223 Academic Press New York.

50. Kristoffersen T: Host response to bacteria and bacterial products in periodontal disease: immunosuppresive effects of periodontitis-related microorganism? Scand J. Dent. Res. 93: 112-8 1985.

51. Baker JJ, Wright WE, Chan SP and Oppenheim JJ: Longitudinal effects of clinical therapy and the edentolus state on the transformation of lymphocytes from patients with severe periodontitis. Clin. Exp. Immunol. 34: 199-205, 1978.

52. Osterberg SK, Page R.C., Sims T, Wilde G; Blastogenic responsiveness of peripheral blood mononuclear cells from individuals with various forms periodontitis and effects of treatment J. Periodontol. 10: 72-88 1983.

53. Lopatin DE, Smith FN, Syed SA and Morrison EC: The effect of periodontal therapy on lymphocyte blastogenesis to plaque associate microorganisms. J. Periodontal Res 18: 93-102, 1983.

54. Falker W: Lymphocyte AMLR and neutrophil function following periodontal therapy. 667, 1983 (Abstr 162) J. Dent Res 62 (Special Issue).

55. Ivanyi L, Wilton JM and Lehner T: Cell-mediated immunity in periodontal disease: citotoxicity, migration inhibition and lymphocyte transformation studies. Immunol. 22: 141-145. 1972.

56. Horton JE, Raizz LG, Simmons HA, Oppenheim JJ and Mergenhagen S.E.: Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured peripheral blood leuckocytes. Science 793-795, 1977.

57. Horton JE, Oppenheim JJ and Mergenhagen 1973: Elaboration of Lymphotoxin by cultured human peripheral blood leucko cytes stimulated with dental plaque deposits. Clin. Exp. Immunol. 13:383-393. 1973.

58. Mackler BF, Altman LC, Wahl S, Rosenstreich D L, Oppenheim JJ and Mergenhagen SE: Blastogenesis and Lymphokines synthesis by T and B lymphocytes from patients with periodontal disease. Infec and Immun 10: 844-850. 1974.

59. Hanazawa S, Nakada K, Ohmory Y, Miyoshi T, Amano S and Ktano S: Functional role of interleukin 1 in periodontal disease: Induction of interleukin 1 production by Bacteroides gingivalis lipopolysaccharide in peritoneal macrophages from C3H/HeN and C3H/HeJ mice. Infect and Immun. p. 262-270 Oct. 1985.

60. Seymour GJ: Interleukin 2 production and bone resorption activity in vitro by unstimulated lymphocytes extracted from chronically inflamed human periodontal tissues. Arch. Oral. Biol. Vol. 30 No. 6 pp. 481 - 484. 1985.

61. Ivanyi L and Lehner T: Stimulation of human Lymphocytes by B-cell mitogens. Clin. Exp. Immunol. 18, 347-356. 1974.

62. Ivanyi L: Immune response to dextrans, levans and lipopolysaccharide in man. In: The borderline between caries and periodontal disease I. Ed. Lehner T. Academic Prees London.

63. Ivanyi L: The mitogenicity of dextran for B lymphocytes n man. Clin Immunol Immunopathol. 7, 123. 1977.

64. Ivanyi L, Lehner T and Burry HC: The response of synovial fluid Lymphocytes to T and B stimulants in vitro. Immunology 25: 905, 1973.

65. Ivanyi L: Modulation of antigen induced stimulation of human Lymphocytes by LPS. Clin. Exp. Immunol. 23: 385-388. 1976.

66. Ivanyi L and Lehner T: Interdependence of in vitro responsiveness of cord and maternal blood lymphocytes to antigens from oral bacteria. Clin. Exp. Immunol. 30: 252-258, 1977.

67. Donaldson SL, Ranney RR and Tew JG: B-Lymphocytes blastogenesis in response to periodontitis associated bacteria. J Periodontol. Vol. 55 No. 6 June 1984.

68. Lehner T: Immunological mechanisms in caries and gingivitis In: The borderline between caries and periodontal disease I. Ed. Lehner T. Academic Press London.

69. Susuki J.B., Simes T and Page RC: In vitro lymphocyte responsiveness to plaque antigens in patients with periodontitis (Abstr) J Dent Res 60: (Special Issve A) 497, 1981.

70. Susuki JB., Burger B and Falker, W: In vitro lumphocute responsiveness to plaque antigens in patients with juvenile periodontitis. (Abstr) J Dent Res 61: 317, 1982.

71. Stashenko, P, Resmini LM, Haffajee AD and Socransky SS. T cell responses of periodontal patients and healthy subjects to oral microorganism. J. Periodontal Res 1983; 18:587 600.

72. Donaldson SL, Ranney RR, Burmeister JA and Tew JG. Blastogenic responses by Iymprocytes from periodontally healthy populations induced by periodontits-associated bacteria. J. Periodont. Dec. 1982 Vol. 53 No. 12

73. Movius DL, Rogers RS and Reeve CM: Lymphocytotoxicity for gingival epithelial cells in periodontal disease. J. Periodontology 46: 271-276. 1975.

74. O'Neill P, Woodson DL and Mackler BF. Functional characterization of human gingival lymphocytes. J. Periodontal Res 17: 50-59.

75. Schroeder HE, Munzel-Pedrazzoli S, and Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue: the early gingival lesion in man. Arch Oral Biol. 1972.

76. Dolby AE, Walker DM. and Mathews N. Periodontal disease. In: Introduction to oral Immunology. Edward Arrold. London 1981. 40-53.

77. Eggert MF and Gurner BW. Reaction of human colostral and early milk antibodies with oral streptococci. Infec and Immun. June 1984. 660-664.