



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

LAS CITOCINAS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA:
RICARDO ALVARADO CASTILLO.

DIRECTORA:
DRA. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS



México, D.F.

2002.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



JURADO

Presidente: C.D. Luz Del Carmen González García: _____
Secretario: DRA. Gloria Gutiérrez Venegas: _____
Vocal: C.D. Gerardo Martínez Anaya: _____
1er. Suplente: M.C. Jaime Esquivel Soto: _____
2do. Suplente: Biol. Héctor González Aguilar: _____

El trabajo de revisión bibliográfica titulado "Las citocinas en la enfermedad periodontal", se realizó en el laboratorio de bioquímica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM, bajo la tutoría de la Dra. Gloria Gutiérrez Venegas.

Sustentante:

Ricardo Alvarado Castillo.

Tutor:

Dra. Gloria Gutiérrez Venegas.

AGRADECIMIENTOS

- ◆ A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, por que me permitió formarme como profesional y ahora puedo decir que: "soy egresado de la máxima casa de estudios del país, la más hermosa sin duda".
- ◆ A la Dra. Gloria Gutiérrez, por su amabilidad y la confianza que depositó en mí, pero sobre todo por brindarme su amistad y ser paciente conmigo, ¡que aguante!
- ◆ A mis asesores Perla Kawasaki, Ramiro Castillo y Sergio Orozco, porque desde el primer día que llegue al laboratorio me trataron como su amigo y siempre estuvieron al pendiente de mí y a todos los integrantes del laboratorio por su amabilidad.
- ◆ A mis hermanos Raúl y Armando, a cicolte porque alguna vez fue mi ejemplo y me dejo muchas enseñanzas y a spock porque espero este trabajo le inspire y motive para que logre sus metas personales.
- ◆ A gallina y su hermosa familia, porque siempre han confiado en mí y me adoptaron como parte de ellos, y sobre todo, porque siempre me han ayudado en los momentos difíciles, "muchas gracias".
- ◆ A los "chales", por todos los buenos recuerdos que han dejado en mí y porque somos amigos para toda la vida.

DEDICATORIA.

♦ A ella que jamás se rinde, que es un ejemplo de esfuerzo y dedicación, de perseverancia por alcanzar lo que desea no importando que obstáculos tenga enfrente, a ella que sacrificó muchas cosas tan solo por el placer de verme llegar hasta aquí y que jamás me las ha de cobrar, a ella que trabajó tanto y que me demostró que el verdadero significado de la palabra padres no siempre incluye a dos personas, pues tan solo con ella me basta y sobra, a ella porque nunca me dejó solo y me apoyo incondicionalmente; porque todo esto no hubiera sido posible sin ella y porque estoy agradecido, este trabajo es para ti MAMÍ, el agua de mi vida, te amo.

ÍNDICE

◆ Introducción.	1
◆ Objetivos.	2
◆ Justificación.	2
◆ Antecedentes Históricos.	3
◆ IL-1.	5
◆ IL-2.	8
◆ IL-3.	11
◆ IL-4.	12
◆ IL-5.	14
◆ IL-6.	16
◆ IL-7.	18
◆ IL-8.	19
◆ IL-9.	20
◆ IL-10.	22
◆ IL-11.	23
◆ IL-12.	24
◆ IL-13.	26
◆ IL-15.	27
◆ IL-16.	28
◆ IL-17.	30
◆ IL-18.	30
◆ Interferones.	32
◆ TGF- β .	34
◆ TNF.	37
◆ Factores estimuladores de colonias.	39
◆ El papel de los componentes bacterianos en el desarrollo de la enfermedad periodontal.	41
◆ Efectos de las citocinas en el parodonto.	52
◆ Conclusiones.	56
◆ Bibliografía.	57

INTRODUCCIÓN.

El conocimiento profundo de la forma de actuar de una enfermedad es básica para un buen tratamiento, más si ese conocimiento se extiende hasta el estímulo que le desencadena y a los factores que modulan el desarrollo de la enfermedad, la posibilidad de obtener óptimos resultados en el tratamiento aumentan. Es por ello que la siguiente revisión pretende ofrecer una visión actualizada y más profunda sobre las citocinas y su participación en el desarrollo de la enfermedad periodontal.

Actualmente el conocimiento de las citocinas aún es ciertamente limitado, aunque el desarrollo de la biología molecular así como de la tecnología de monoclonación de anticuerpos han avanzado aceleradamente, lo que ha resultado en una explosión de investigación e información de citocinas que apenas comienza a controlarse, dejando esto un aproximado de 150 citocinas clonadas, solo algunas cuantas han sido investigadas a fondo; la mayoría de estas moléculas conservan el primer nombre que se les asigno y que generalmente denota su función o actividad principal al ser descubiertas. Hasta la fecha no existe una clasificación confiable para las citocinas, por lo que se les agrupa de varias maneras, de acuerdo a la función que desempeñan, su estructura ó inclusive de acuerdo al receptor al que se unen.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Realizar una revisión bibliográfica sobre las citocinas que incluya su estructura, modo de acción y actividades que desempeñan, y determinar su participación en la etiología de la enfermedad periodontal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Elaborar una revisión completa sobre la estructura de las citocinas
2. Describir el modo de acción de las citocinas.
3. Describir las actividades que desempeñan las citocinas.
4. Determinar el grado de participación de las citocinas en el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad periodontal.

JUSTIFICACIÓN.

El conocimiento profundo de los factores que median las respuestas inmunes (en este caso las respuestas inflamatorias presentes en la enfermedad periodontal), nos ofrece la posibilidad de desarrollar métodos que regulen la participación de estos de la manera más conveniente para el mantenimiento de la salud.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

En 1932, Rich y Lewis observaron la migración de neutrófilos y macrófagos en cultivos de tejido de tuberculina sintetizada, siendo ellos los primeros en reportar la existencia de factores derivados de células que mediarán actividades biológicas. En 1962 Vaughan improvisa una técnica que evalúa la migración de células mononucleares en tubos capilares; en 1965 Bloom y Bennet utilizan esta técnica para demostrar que los antígenos podían estimular la síntesis de linfocitos y producir factores que inhibieran la migración de macrófagos. Descubrimientos similares a estos continuaron, por lo que en 1969 se les designó a estos factores como "linfocinas". En 1974 Gery y trabajadores demuestran que no solo existen factores derivados de linfocitos y a estos los llama "monocinas"(1,2), a finales de ese mismo año, Cohen demuestra que son varias las líneas celulares capaces de liberar esos factores proponiéndose entonces el nombre de "citocinas"(3).

Las citocinas son polipéptidos o glicoproteínas simples con un peso molecular aproximado de 30 kDa, con excepción de la IL-12 que es un heterodímero. Estas moléculas son sintetizadas por una gran variedad de células, regulan diversas actividades que van desde mecanismos de defensa del huésped hasta eventos de reparación de tejidos, proliferación y diferenciación celular, de igual forma participan en algunas enfermedades de respuesta autoinmune. Los efectos que regulan las citocinas son propios más no específicos y están determinados por el receptor al que se unen y sobre todo la célula blanco sobre la que actúan. Su producción se limita a estímulos inductores que promueven la síntesis y liberación de estas moléculas. Algunas son producidas regularmente en una forma precursora y antes de ser secretadas son modificadas por adición de carbohidratos en sus cadenas laterales por lo que se designan como glicoproteínas; el radio de

acción de las citocinas es usualmente corto ya que actúan de forma autócrina ó parácrina (Fig. 1).

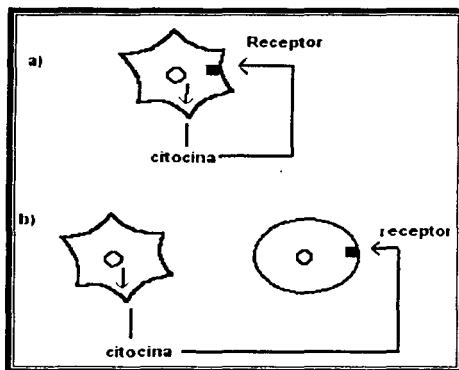


Fig.1. Se muestran los dos tipos básicos de interacción célula-citocina. La estimulación autócrina ocurre cuando una célula posee receptores para responder a las citocinas que ella misma produce (a). La estimulación parácrina ocurre sobre un diferente tipo celular y de manera local (b).

Las citocinas actúan asociándose a receptores ubicados en diferentes células, la estructura de las proteínas receptoras pueden ser simples o compuestas, estas proteínas receptoras transducen la señal al núcleo donde posteriormente a través de proteínas translocadoras se produce la expresión del gen en el núcleo (fig.2). El tiempo de vida de estas moléculas después de ser secretadas es usualmente corto .

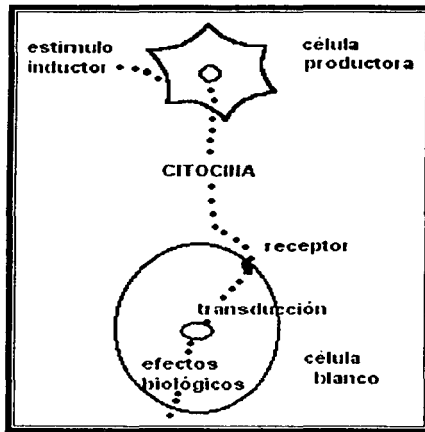


Fig.2. Modelo esencial de acción de las citocinas. Las citocinas son secretadas en respuesta a un estímulo inductor. Estas se unen a receptores específicos sobre la superficie de células blanco, ocasionando cambios bioquímicos que resultan en la transducción de la señal. Las señales son llevadas al núcleo donde inducen la expresión del gen y suceden los efectos biológicos.

IL-1

Inicialmente la IL-1 era conocida como un factor pirógeno endógeno, un producto de leucocito capaz de inducir fiebre cuando era administrado en animales (4). Su función como un regulador inmunológico, fue sugerido tras descubrir su actividad como activador de timocitos.

Consiste de tres moléculas distintas aunque relacionadas: IL-1 α , IL-1 β e IL-1 γ . Las moléculas IL-1 α e IL-1 β poseen puntos isoeléctricos que las distinguen (5 y 7). Ambas citocinas son producidas por el hombre y son codificadas por genes diferentes. En tejidos humanos predomina el RNAm de IL-1 β sobre el de IL-1 α . Ambas citocinas son sintetizadas de precursores de 31 kDa, ya en su forma activa son proteínas de 17.5 kDa. (10-13)(fig.3).

IL-1ra es una glicoproteína de 22-26 kDa, que en su forma madura consta de 152 aminoácidos y posee un 19 a 26 % de secuencia homóloga aminoácida con IL-1 α e IL-1 β . Esta molécula inhibe las acciones biológicas de IL-1 α y β , al competir por los mismos receptores y bloquear la señal transducción. El gen de IL-1Ra se localiza en el brazo largo del cromosoma 2 en la banda q14-21. IL-1Ra es sintetizada ya como una proteína secretada que contiene una secuencia hidrofóbica clásica, y su procesamiento es vía el el aparato de golgi (fig.3).

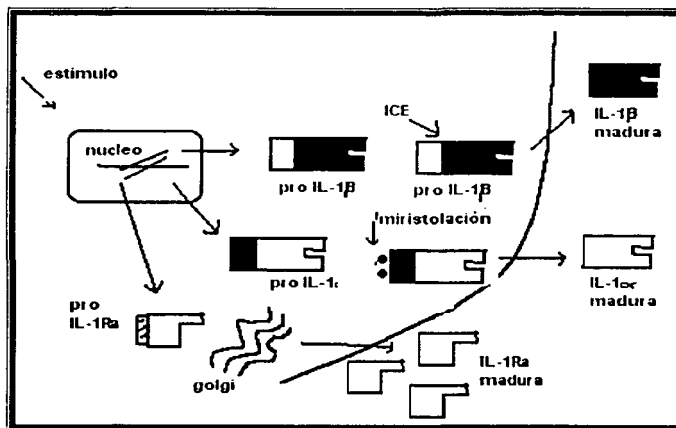


Fig.3 La figura muestra la forma en que los miembros de la familia de IL-1 son sintetizadas a su forma madura tras la acción de la enzima ICE para IL-1 β , el proceso de miristolación para la IL-1 α y la acción del aparato de Golgi para IL-1ra.

Existen dos receptores principales para IL-1, ambos pertenecen a la familia de receptores para inmunoglobulina. El receptor tipo I (IL-1RI) es una glicoproteína de 80 kDa, que es encontrada principalmente sobre células endoteliales, hepatocitos, fibroblastos, queratinocitos y linfocitos T. El tipo II (IL-1RII) es una glicoproteína de 68 kDa que se expresa principalmente en linfocitos B, monocitos y neutrófilos. El receptor tipo I esta asociado

principalmente a IL-1 α y el tipo II a IL-1 β ; aunque cualquier miembro de la familia de IL-1 puede unirse a ellos. Las regiones extracelulares de ambos son 28% homólogas, los dos poseen un segmento transmembranal y el campo intracelular de IL-1RII es más corto. Estos receptores no son capaces de formar un complejo y el receptor tipo I no es capaz de inducir la señal en la transducción.

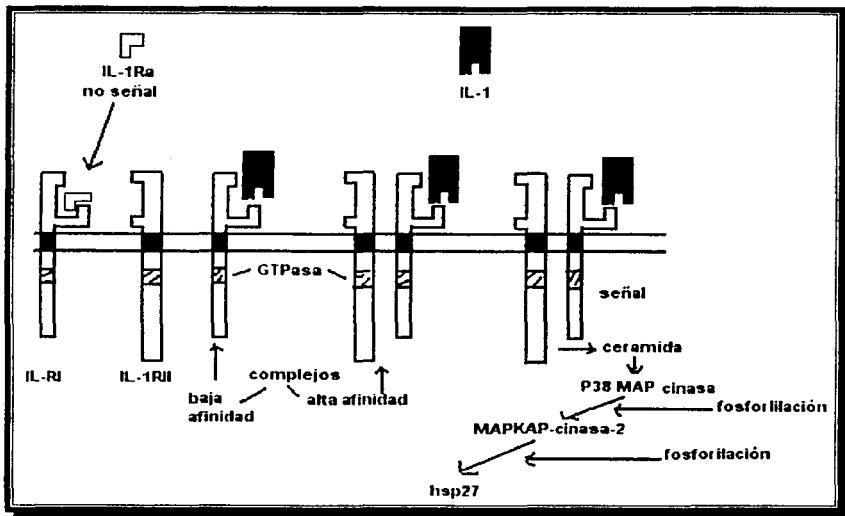


Fig.4. El mecanismo de señalización para IL-1 se basa en una múltiple y secuencial fosforilación de cinasas y en la formación de un complejo receptor formado por el receptor tipo I y II para IL-1. IL-1ra actúa como un inhibidor competitivo para IL-1.

IL-1 media diversos procesos de defensa del cuerpo, se produce ante lesiones ó infecciones y es producida principalmente por: fibroblastos, queratinocitos, linfocitos T y B, astrositos y células microgliales. IL-1 induce la producción de IL-2 por linfocitos T, e induce la expresión de su complejo receptor. Actúa también sobre linfocitos B junto con otras citocinas (como IL-

4), para la secreción de inmunoglobulinas(5); en conjunto con IL-6 actúa como un factor de diferenciación de células B.

Se presenta como una de las moléculas primarias en reacciones inflamatorias, e induce la producción de prostaglandina E2, colagenasa y fosfolipasa (6). En la inflamación incrementa la expresión de moléculas de adhesión sobre la superficie de células endoteliales, aumentando la adherencia de neutrófilos, monocitos y linfocitos. También participa de manera indirecta en otros procesos, produciendo factores de crecimiento que actúan sobre células hematopoyéticas, fibroblastos, células endoteliales y del estroma de la médula ósea(7,8). Es además, un factor de activación de hepatocitos y regula la inducción de proteínas por el hígado(9).

Esta molécula contribuye en la patofisiología de la enfermedad periodontal ya que expresa al gen activador de la colagenasa, enzima que provoca la degradación de la colágena y por ende de la encía y ligamento periodontal.

IL-2

Originalmente fue descrita como una molécula producida por un medio de linfocito humano estimulado con un antígeno ó mitogeno , el cual elevaba la mitogénesis de timocitos y mantenía el crecimiento de células T *in vitro*(14-17).

El DNA complementario de IL-2 ha sido clonado de varias superficies celulares humanas y el gen de IL-2 se localiza en el cromosoma 4(18). Esta citocina consta de 133 aminoácidos y tiene varios sitios de ligado O-sacárido. Grandes cantidades de IL-2 recombinada humana han sido producidas en bacterias, levaduras, insectos y células cultivadas de tejido mamífero. IL-2 ha sido cristalizada y analizada por difracción de rayos X (19,20), esta contiene seis segmentos cortos helicoides y un puente disulfuro es formado por residuos de cisteína en las posiciones 58 y 105. El primero, segundo y quinto segmento helicoidal contienen los residuos que interactúan con el receptor.

actuar sobre las STATs que serán las encargadas de translocarse al núcleo y expresar al gen. Las STATs que participan en la señalización de IL-2 son la 1, 3 y 5. Existen además otras vías de señalización representadas en la figura 6, como la vía de las proteínas map-quinasas que mediante proteínas de bajo peso molecular, regulan entre otras respuestas la expresión de *c-fos* y *c-jun*.

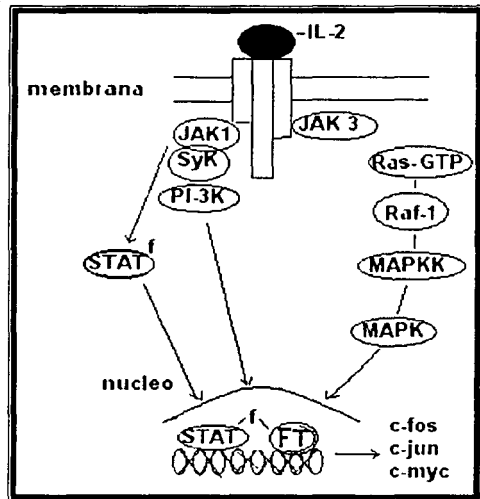


Fig 6. Modelo de las distintas vías de transducción de IL-2. La estimulación del RIL-2 por el ligando activa varias vías: la activación del Ras-cinasa de la cinasa de MAP (MAPKK)-cinasa MAP(MAPK) lleva a la expresión de los genes *c-fos* y *c-jun*, la activación de la proteína SyK a la expresión del gen *c-myc*. Se desconoce la función de las proteínas JAKS en la inducción de los protooncogenes.

IL-2 es secretada principalmente por linfocitos T auxiliares (TH), y causa la proliferación de estas células; aumenta además la secreción de linfocinas y la manifestación de receptores de membrana para algunos factores de crecimiento; también induce la expresión de las moléculas de

histocompatibilidad clase II. IL-2 es utilizada principalmente en la inmunoterapia del cáncer y enfermedades infecciosas.

IL-3

Esta citocina fue estudiada en un principio bajo varios nombres: factor estimulante persistente (PSF)(21), factor de crecimiento de mastocitos(MCGF)(22-24), factor de crecimiento de células hematopoyéticas(25), estimulador activo de C-FUS(26), factor inductor de Thy-1(27) , como un factor que estimula la producción de eritrocitos en presencia de eritropoyetina (28) y por su acción estimuladora de colonias celulares múltiples de médula ósea *in vitro* .

El gen de IL-3 se localiza en el cromosoma 5 humano muy cerca del gen para GM-CSF (factor estimulante de colonias de mastocitos y granulocitos.) IL-3 consta de 166 aminoácidos y contiene 4 sitios de N-glicosilación. Un puente disulfuro entre la cisteína 43 y 106 estabiliza la estructura terciaria de esta molécula. Esta citocina ha sido investigada en tejido mamífero, levaduras y bacterias para caracterizar sus actividades biológicas(29).

IL-3 es encontrada en células auxiliares T, además activa el crecimiento y diferenciación de células hematopoyéticas pluripotenciales, obteniendo así diversos tipos celulares sanguíneos, incluyendo: macrófagos, granulocitos, megacariocitos, eritrocitos, eosinófilos y mastocitos (30). IL-3 actúa sinérgicamente con G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos) para aumentar la formación de colonias de neutrófilos; también IL-3 mantiene la proliferación de blastocitos los cuales retardan el desarrollo de colonias múltiples, manteniendo así la multipotencial población progenitora.

IL-3 se liga a un receptor heterodimérico que comparte algunas cadenas pertenecientes a la familia de receptores de hemapoyetina. El receptor para IL-3 se compone de las sub-unidades α y β , la sub-unidad α

pesa 70 kDa y es una proteína transmembranal que liga a IL-3 con un grado bajo de afinidad. La sub-unidad β pesa 125 kDa y se le determinó βc , ya que interactúa con distintos complejos receptores para citocina.

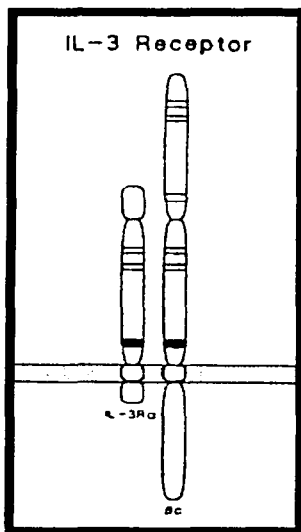


Fig.7. El esquema muestra la estructura del complejo receptor para IL-3 el cual esta compuesto de una cadena α que es específica para IL-3 y la cadena β que comparte con otros complejos receptores para citocina.

IL-4

Originalmente recibió nombres diversos como factor reemplazante de células T, factor de crecimiento de células B, factor de diferenciación de células B, etc. Hasta que a causa de sus múltiples funciones se propuso el nombre de IL-4.

IL-4 consta de 140 aminoácidos residuales y tiene dos sitios para N-glicosilación. El gen de esta interleucina se localiza en el cromosoma 5(34).

El receptor para IL-4 es una glicoproteína de 140kDa que se compone de 800 aminoácidos con un campo extracelular de 207 aminoácidos que contiene 4 cisteínas conservadas y una caja WSXWS (2 motivos), un campo transmembranal de 24 aminoácidos y una gran porción intracelular de 569 aminoácidos. La estructura de este receptor es multimérica ya que consiste de 3 especies moleculares de pesos diversos, 140, 70-75 y 65 kDa.

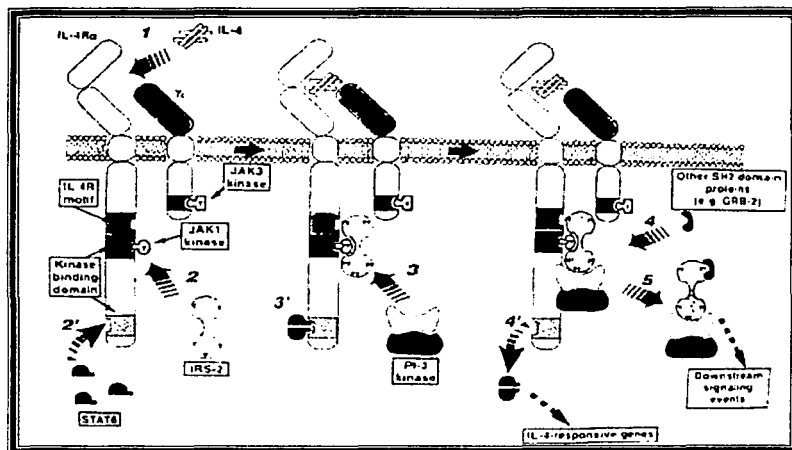


Fig.8. La unión de IL-4 a su receptor solo se da cuando esté en su estado dimerizado con la cadena común receptora γ . Después de esta interacción, la tirosina cinasa asociada al receptor se activa y fosforila los residuos de tirosina, logrando así la interacción de JAK1 y JAK3 al complejo receptor(1). La proteína IRS-2 interactúa con el receptor y es también fosforilada(2). Monómeros de STAT6 se unen también al complejo(2'). El IRS-2 fosforilado permite la unión de la subunidad fosfoinositol-3 cinasa (PI-3 cinasa) e induce su activación(3). El STAT6 es fosforilado por JAK1 permitiendo su dimerización y liberación de la cadena receptora(3'). El IRS-2 fosforilado puede interactuar con otras proteínas SH2 del dominio(4). La translocación de los dímeros de STAT6 al núcleo resultará en la activación de los genes reguladores de IL-4(5). El complejo IRS-2-PI-3 cinasa es liberado del complejo receptor para transducir la señal de IL-4(5).

IL-4 actúa sobre células B induciendo la secreción de Ig, principalmente la IgE (32,35,36); además induce la expresión de moléculas de histocompatibilidad clase II(31,37). IL-4 inhibe la diferenciación y proliferación de células B dependientes de IL-2(42). Los efectos de esta citocina sobre células B son antagonizados por IFN γ (38-41). Algunos linfocitos T son dependientes de IL-4 para su crecimiento(43). También produce el crecimiento de mastocitos (33) y actúa sinérgicamente con factores estimuladores de colonias, para promover el desarrollo de células hematopoyéticas(44).Incrementa la habilidad de los macrófagos en la presentación del antígeno a linfocitos T (45).IL-4 estimula también la fusión de macrófagos alveolares y médula ósea para formación de células gigantes multinucleadas(46), estas células se asocian a lesiones granulomatosas y son llamadas células gigantes de Langhans.

IL-5

Inicialmente fue descrita como un factor que reemplazaba linfocitos T *in vitro* , por lo que era llamado factor reemplazante de células T (TRF)(47-48). Es una citocina que consiste de 134 aminoácidos y que posee dos sitios para N-glicosilación(49-50), existe como un dímero ligado por un puente disulfuro. El gen para IL-5 se localiza en el cromosoma 5 (34)

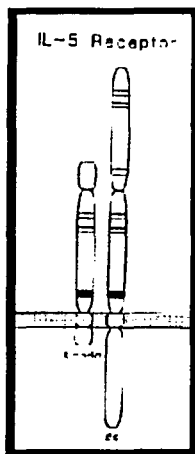


Fig.9. El receptor para IL-5 es una molécula compuesta de 2 subunidades, este complejo comparte la cadena β con IL-3 y su cadena α es específica para IL-5.

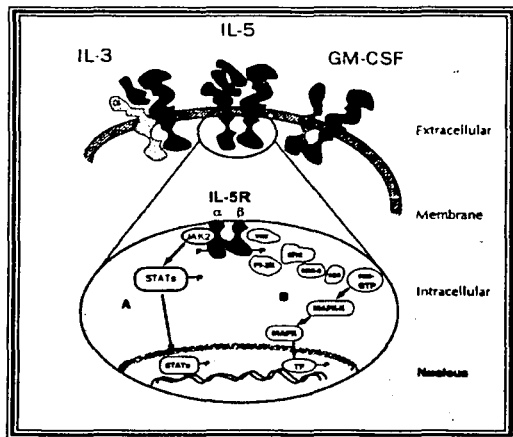


Fig.10. Esquema que muestra las diferentes vías de señalización para IL-5, IL-3 y el factor de estimulación de colonias de granulocitos y macrófagos.

Las vías de activación de IL-5 pueden ser dos: la vía JAK-STAT y la vía *ras*. El evento da inicio cuando IL-5 se liga a su receptor, induciendo la dimerización de este y activando la cascada de señalización. La activación de la vía JAK-STAT se logra tras la fosforilación de la tirosina, que activa a las Janus cinasas (JAKs) las cuales a su vez fosforilarán a las proteínas citoplasmáticas pertenecientes a los factores de transcripción de la familia STAT (60,69,70), estas proteínas (STATS) entonces se translocarán al núcleo y se ligarán al gen que codificará las proteínas. Esta vía se manifiesta principalmente a través de la sub-unidad α y es la principal vía de activación utilizada por eosinófilos (54,55). Aparte de la vía JAK-STAT, IL-5 activa a otras cinasas pertenecientes a la vía *ras* (56). Dos especies de cinasas *lyn* son fosforiladas y activadas por IL-5 y se encuentran relacionadas a la sub-unidad β del receptor, el producto de proto-oncogene *vav* y el fosfoinositol-3 cinasa (PI-3K). El producto resultante de esta acción P-GTP, se liga entonces al *ras* y a través del MAPK-cinasa, se transloca al núcleo, donde un factor de transcripción aún no identificado (TF) se ligará al gen.

IL-5 codifica no solo actividades sobre células B, también lo hace sobre IL-4 induciendo la producción de IgE y la expresión de CD23 sobre células B. También induce la proliferación de precursores de eosinófilos y su activación. Algunos estudios *in vitro* han demostrado que actúa también directamente en la liberación de histamina y la proliferación de basófilos(57). IL-5 es producida principalmente por células T.

IL-6

IL-6 junto con IL-1, son el mejor ejemplo de una citocina mediadora de diversas respuestas del huésped y reguladora de múltiples tipos celulares. La primera definición de esta interleucina fue simplemente como una proteína de 26 kDa sin funciones biológicas aparentes. Poco después se descubrió un factor de crecimiento característico para células B transformadas y estudios sobre la regulación de anticuerpos y la diferenciación terminal de células B

llevaron a la identificación de un producto de células T soluble el cual inducía la producción de anticuerpos por células B(58-60). Después se reconoció que estas moléculas eran idénticas a la proteína 26 kDa producida por fibroblastos humanos y se le designó como IL-6. La proteína madura de IL-6 consta de 183 a 185 aminoácidos y tiene dos sitios para N-glicosilación y varios para O-glicosilación.

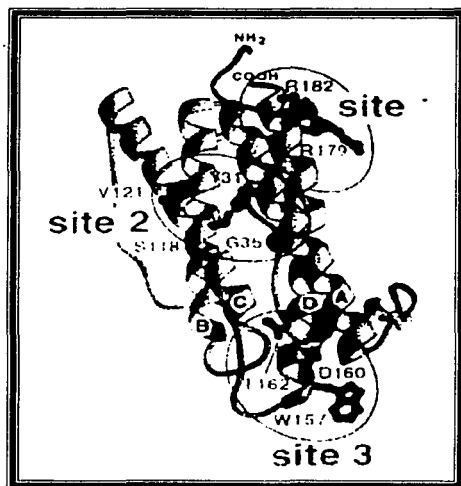


Fig. 11. La estructura de la IL-6.

IL-6 posee un complejo receptor que se compone de una proteína de 80 kDa que es específico para él y una glicoproteína de 130 kDa la cual es requerida para la señal de transducción. La estructura del receptor de dos cadenas es similar a muchas otras citocinas. En la señalización de IL-6, la familia de tirosinas cinasas JAK participan. Se activa esta vía tras la asociación de IL-6 al receptor el cual recluta a JAK que por fosforilación activa a la proteína STAT3 que se transloca al núcleo para la expresión del gen.

IL-6 no solo es producida por una gran variedad de células entre las que destacan los linfocitos T, macrófagos y fibroblastos, sino que también participa en la regulación de varios tipos celulares. IL-6 puede estimular el crecimiento de colonias hematopoyéticas compuestas de granulocitos y macrófagos(61), también, en combinación con otros factores recombinantes hematopoyéticos, aumenta o modifica la respuesta de estos mismos. Esta molécula es un potente inductor de diferenciación cuando se añade a ciertas líneas celulares en la leucemia mieloide. IL-6 actúa además como un factor de diferenciación de linfocitos T en diferentes etapas, y en linfocitos T maduros activa la producción de IL-2(62,63).

IL-7

El descubrimiento y caracterización de IL-7 se basó en estudios previos en médula ósea, con el fin de entender las etapas tempranas de hematopoyesis. De un factor de crecimiento que fue aislado de células SV40 transformadas del estroma, se clonó el DNA complementario de la IL-7(64). Diversos estudios posteriores mostraron que la superficie más abundante que contenía el RNAm de IL-7, eran las células epiteliales del timo (65).

Aún cuando IL-7 fue descrita solo como un factor productor de células pre-B de médula ósea, también es un importante factor de equilibrio para células tempranas T. Aparentemente esta citocina es inactiva en células B maduras. El hecho de que IL-7 sea localizada en el timo sugiere que esta puede estimular el crecimiento de timocitos sin ayuda de otros factores u agentes, además de que puede ser un factor de crecimiento para la población más inmadura de timocitos.

El receptor para IL-7 consiste de 2 sub-unidades, IL-7R α y la cadena común γ , que se designó de esa forma debido a que es componente de otros receptores para citocina, como de IL-2, IL-4, IL-9 e IL-15. Ambas cadenas son requeridas para la unión de alta afinidad de IL-7. El gen para IL-7R α se localiza en el cromosoma 5p13(67). Este complejo receptor es miembro de la familia de receptores para citocinas hematopoyéticos, esta familia se

caracteriza por tener residuos de cisteína extracelulares conservadas, un motivo Trp-Ser-X-Trp-Ser en el dominio extracelular y la ausencia de actividad intrínseca tirosina-cinasa(66).

Las JAK tirosinas cinasas 1 y 3, proveen una vía de transducción al núcleo a través de la fosforilación y activación de los STATs, que se translocan al núcleo y realizan la transcripción ligándose al elemento específico del DNA, IL-7 utiliza a los STAT 1, 3 y 5(68,69,71). Otra vía de transducción conocida de IL-7 utiliza preferentemente la cadena α y utiliza a tirosinas cinasas como p59fyn y la proteína translocadora p13-cinasa(70).

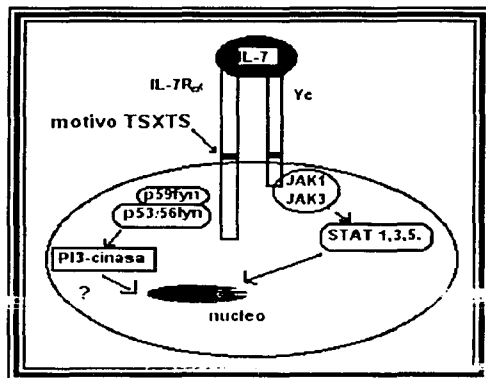


Fig.12. Modelo de la interacción y señalización de IL-7.

IL-8

Es una citocina con efectos similares a las sustancias quimiotácticas conocidas, como la anafilotoxina C5q derivada del plasma, la leucotrina B4 y los péptidos bacteriales o sintéticos formil-metionil; por esta razón IL-8 es conocida también como la proteína neutrófilo activadora (NAP-1). Al ser descubierta fue llamada factor quimiotáctico neutrófilo derivado de monocito (MANCF). Una larga lista de citocinas con propiedades quimiotácticas han sido descubiertas, todas con similaridad estructural a IL-8, por ello fueron llamadas en conjunto quimiocinas. La característica principal de esta familia

de proteínas pro-inflamatorias es la conservación de cuatro residuos de cisteína, básicas para la conservación de su estructura terciaria. El gen para las quimiocinas se localiza en los cromosomas 4 y 17. Las quimiocinas activan y atraen a neutrófilos y a distintas poblaciones de leucocitos.

IL-8 es una molécula de entre 6 a 10 kDa que es estable al calor y resistente a pH extremo. La proteína no posee sitios para N-glicosilación y consta de 72 a 77 aminoácidos, presenta una región N-terminal hidrofóbica y dos puentes disulfuro, la molécula es un dímero según el estudio tridimensional. Consta de 4 exones y 3 intrones y su gen se localiza en el cromosoma 4.

Interleucina 8 es liberada por diversas células, incluyendo leucocitos, fibroblastos, células endoteliales, epiteliales, condrocitos, etc. IL-8 puede ser liberada tras estímulos con productos bacteriales (principalmente lipopolisacáridos) ó mitógenos y en respuesta a citocinas primarias como IL-1 ó TNF.

IL-8 estimula la migración dirigida principalmente de neutrófilos y de leucocitos, también inhibe la producción de IgE .

IL-9

Fue descubierta en 1990 y en principio fue llamada factor de crecimiento de células T III (TCGF-III) .Es una glicoproteína de 30-40 kDa y es producida principalmente por linfocitos auxiliares 2 (TH2). Actúa sobre células del sistema inmune y hematopoyético. Su gen se localiza en el cromosoma 5(72) en las regiones 5q31-> q35 y consta de 5 exones y 4 intrones(73). Su receptor se relaciona a la familia de los receptores hematopoyéticos, consiste en una glicoproteína de 64 kDa y contiene 468 aminoácidos con dos regiones hidrofóbicas para la señal péptida y el campo transmembranal. El campo extracelular tiene 233 aminoácidos y 6 residuos de cisteína. Para la transcripción de la señal de IL-9, el gen promotor contiene sitios potenciales para el reconocimiento de varios factores de

transcripción TPA-inducible como AP-1 y AP-2, los cuales proveen una base estructural para la expresión de IL-9.

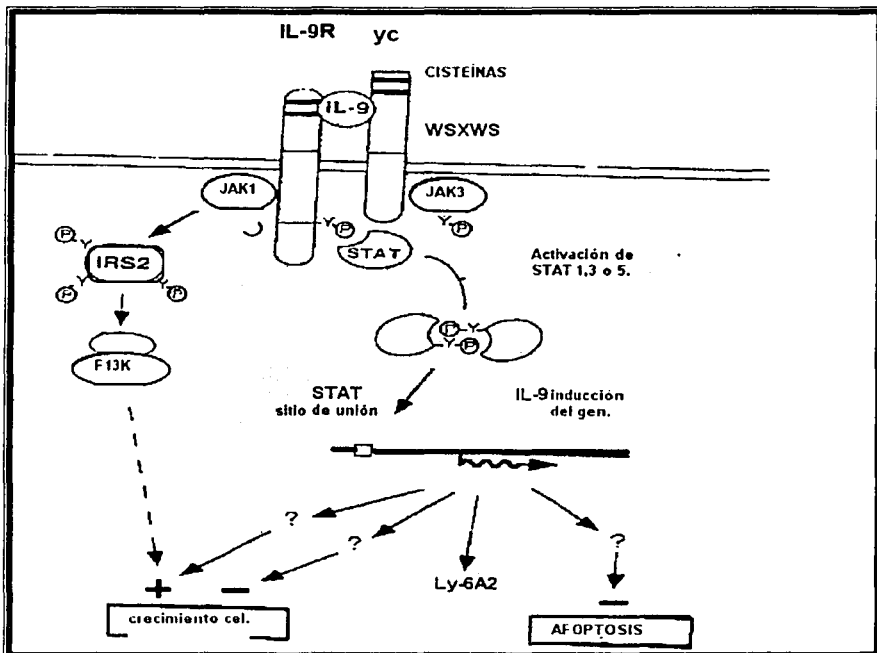


Fig. 12. Modelo de señalización y expresión de actividades biológicas inducidas por IL-9

Se han descrito varias actividades a IL-9 sobre progenitores hematopoyéticos, células T, B y timocitos, lo que sugiere que interactúa con muchas otras citocinas y que participa en respuestas celulares de mastocitos y la oncogénesis de células T. IL-9 actúa sinérgicamente con IL-3 en la proliferación de mastocitos derivados de médula ósea, en compañía de IL-4 inducen la producción de IgG1 e IgE de células B. IL-9 auxilia en la formación de colonias de eritrocitos en presencia de eritropoyetina, utilizando progenitores de sangre periférica ó médula ósea. En contraste, la formación

de colonias de macrófagos ó granulocitos no fue influenciada por IL-9, sugiriendo que su actividad en el sistema hematopoyético adulto, es como regulador específico de eritropoyesis.

IL-10

Originalmente fue nombrada como un factor inhibitorio de síntesis de citocina, después de análisis inmunoquímicos y bioquímicos, se concluyó que se trataba de una nueva citocina y se le dio el nombre de interleucina 10.

Es una molécula de 35 kDa y es un homodímero no disulfuro. Posee nula glicosilación y pierde su actividad rápidamente a pH 5.5, tiene cuatro cisteínas y 5 exones que ocupan 5.1 kb del genoma. Su gen se localiza en el cromosoma 1.

El receptor para IL-10 consta de 570 aminoácidos y el campo transmembranal y extracelular tienen sobre 220 aminoácidos.

Varias células T producen interleucina 10, especialmente las auxiliares 1 y 2 (TH1 y TH2). Las células B producen también IL-10, especialmente en presencia del virus del Epstein Barr. Los macrófagos producen cantidades substanciales de IL-10, además de los queratinocitos.

IL-10 actúa como un débil antiviral en respuestas inmunes. Inhibe la síntesis de varias citocinas, principalmente: IL-1, GM-CSF, TNF, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12. IL-10 inhibe la actividad citotóxica de los macrófagos. También bloquea la inducción de IL-12 que promueve la proliferación de algunas líneas de células T, principalmente evita la proliferación de células T auxiliares 1 (TH1), en contraste, IL-10 estimula la proliferación de células auxiliares 2, actuando en sinergismo con IL-2 e IL-4. En resumen, IL-10 puede inhibir el desarrollo de respuestas inmunes mediadas por células auxiliares 1 ó en contra de patógenos intracelulares, aunque cabe mencionar que posee un potencial terapéutico en la inhibición de respuestas autoinmunes mediadas por células.

IL-11

Esta proteína consta de 199 aminoácidos incluyendo una señal péptida de 21 aminoácidos. Tiene un peso molecular de 23 kDa. El gen de IL-11 tiene 7 kb de largo, posee 5 exones y 4 intrones y se localiza en el brazo largo del cromosoma 19(74,75). La región 5' de este gen contiene múltiples elementos implicados en la regulación de la transcripción, incluyendo sitios para la proteína activadora 1 (AP-1) y el factor nuclear - κ B(NF κ B)(76). Aún cuando IL-11 comparte muchas actividades biológicas con IL-6, no existe homología secuencial con ella u otras citocinas conocidas, a nivel de nucleótidos ó aminoácidos.

IL-11 se expresa en diversos tipos celulares y tejidos que incluyen: células endoteliales, fibroblastos, condrocitos, sinoviocitos, osteoblastos, células epiteliales, neuronas, etc(77-79). Dependiendo del tipo celular, la expresión de la IL-11 puede ser regulada a nivel transcripcional ó post-transcripcional(76). Citocinas pro-inflamatorias pueden causar la inducción de IL-11, las cuales son: IL-1 y TNF, además de los estéres de forbol el ácido retinoico y la histamina(80).

IL-11 se liga a una unidad receptora α exclusiva. Esta unidad media la señal de transducción de IL-11 a través de GP 130, que es una proteína identificada como parte del complejo receptor de IL-6. La unidad receptora consta de un campo extracelular característico de la familia de receptores hematopoyéticos, tiene dos sitios potenciales para N-glicosilación, una porción transmembranal y un corto campo citoplasmático(81). Cuando esta unidad receptora se expresa en ausencia de GP 130 liga a IL-11 con un grado bajo de afinidad, por lo que la interacción con GP 130 la convierte en una unidad receptora con alto grado de afinidad, inclusive, la co-expresión de IL-11R α y GP 130 es requerida para la inducción de la señal de transducción.

IL-11 puede incrementar el crecimiento de diversas líneas celulares hematopoyéticas, esto en contribución con otras citocinas, incluyendo: IL-3,

GM-CSF, G-CSF, IL-4 e IL-12. En general los efectos de IL-11 son similares a los de IL-6, es por ello que IL-11 es un potente estimulador de megacariocitopoyesis junto con IL-6(82). Esta citocina posee también efectos múltiples ajenos al sistema hematopoyético; incrementa la generación de osteoclastos, promoviendo la resorción ósea(83) e inhibiendo también su formación. La expresión de IL-11 en condrocitos y sinoviocitos, estimula la producción de un tejido inhibitor de metaloproteasas, siendo posible que en lesiones inflamatorias de las cápsulas tenga un efecto protector(78). La presencia de RNAm de IL-11 en neuronas, sugiere una posible participación de IL-11 en el crecimiento y diferenciación de células progenitoras neuronales(84). Otras acciones adicionadas a IL-11 son: la inhibición de la adipogénesis al impedir la formación de adipocitos; la supresión del crecimiento de células epiteliales gastrointestinales y su participación en la fase aguda de la síntesis de proteínas de los hepatocitos(85).

IL-12

Originalmente fue identificada como un factor de maduración de linfocitos citotóxicos y también como un factor de estimulación de células asesinas por dos grupos de investigadores. Al ser clonadas y obtener las características de estos factores, llegaron a la conclusión de que se trataba de la misma molécula y el nombre de IL-12 se le propuso(86-88).

IL-12 es una citocina de 75 kDa que está formada por dos subunidades, una de 40 kDa y otra de 35 kDa, las cuales se unen por un puente disulfuro, de tal manera que es una molécula heterodimérica. Genes distintos codifican a cada subunidad y se necesita de la expresión de ambos en la misma célula para obtener la forma biológicamente activa. La subunidad p40 madura es un polipéptido de 328 aminoácidos e incluye un característico péptido hidrofóbico y un sitio de ruptura precedida por la secuencia terminal-N, contiene además 10 residuos de cisteína(89,91). La

subunidad p35 es un polipéptido de 253 aminoácidos, 7 residuos de cisteína y 3 sitios para glicosilación, posee también un péptido hidrofóbico y un sitio de ruptura. El gen para la subunidad p40 se localiza en el cromosoma 5q31-q33, mientras que el gen para la subunidad p35 se localiza en el cromosoma 3p12-3q13.2(90).

La inducción de IL-12 ha sido investigada tanto para cada subunidad como para la molécula heterodímera. Las células B producen la molécula biológicamente activa p70. Tras la estimulación de estas células con diésteres de forbol hubo secreción de la sub-unidad p40, no se detectó producción alguna de la subunidad p35. En células periféricas sanguíneas los niveles de secreción de IL-12 fueron bajos. Ninguna citocina fue capaz de inducir la secreción de IL-12. Todos esos datos sugieren que los principales productores de IL-12 son los macrófagos y las células B y que esta interleucina participa en el desarrollo de la respuesta inmune temprana.

El receptor de IL-12 se compone de dos subunidades, la $\beta 1$ y $\beta 2$, la unión de las subunidades de IL-12 se da preferentemente de p40 con IL-12R $\beta 1$ y de p35 con IL-12R $\beta 2$ (92). Aparentemente la señalización esta mediada por la subunidad $\beta 2$. La vía de señalización de IL-12 comienza con la unión de esta a su receptor lo que provoca la fosforilación de p56lck, de las cinasas janus TYK2 y JAK2 y de los transductores de la señal y activadores de transcripción STAT3 y 4 que expresarán al gen en el núcleo.

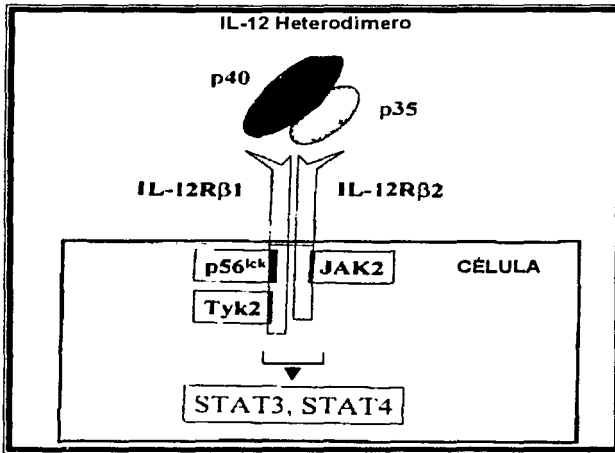


Fig.13. Modelo que representa a la única citocina compuesta por dos subunidades, su receptor y su vía de señalización.

IL-12 induce la proliferación de células asesinas naturales (NK)(93,94), también hace proliferar otras líneas celulares T e incrementa su citotoxicidad. Además es un potente inductor de IFN y en menor cantidad de TNF(95-97).

IL-13

Originalmente fue designada como P600(98,99) y es producida principalmente por células T activadas. Es secretada principalmente como una proteína no glicosilada de 132 aminoácidos y su gen se localiza en el cromosoma 5(100).

IL-13 induce cambios en la morfología de los monocitos y en el fenotipo de células B y monocitos, regula la expresión de MHC clase II, y expresa el receptor para IgE(100,101). También prolifera a células B y es un regulador de la síntesis de IgE. Esta citocina comparte muchas actividades con IL-4(102), aunque difiere en algunas ya que IL-4 suprime la secreción de IFN e IL-13 la incrementa. Interleucina 13 incrementa la producción de IL-1ra

y deprime la producción de óxido nítrico por macrófagos, ejerciendo de esta manera una actividad anti-inflamatoria. Además en acción combinada con IL-2 regula la síntesis de IFN- γ (104). En resumen, IL-13 es una molécula altamente pleiotrópica por sí sola y en sinergismo. El receptor para IL-13 es similar al de IL-4 y comparten la cadena común γ (103)

IL-15

IL-15 fue descubierta por la similitud de actividades que la relacionan con IL-2, además de que comparte algunas cadenas del complejo receptor de IL-2 (la β y γ). La mayoría de las actividades compartidas son *in vitro*, y el hecho de que sus receptores posean cadenas específicas α para cada una, sugiere que estas citocinas poseen actividades distintas *in vivo*.

IL-15 es una proteína de 162 aminoácidos, contiene 4 residuos de cisteína los cuales forman dos puentes disulfuro en las posiciones Cys-35-Cys-85 y Cys-42-Cys-88. La estructura de IL-15 es de tipo helicoidal(105). El gen para IL-15 se localiza en la zona cromosomal 4q31(106), contiene 8 exones y 7 intrones y mide 34 kb.

Esta citocina utiliza las subunidades β y γ del receptor de IL-2(107), para formar un complejo receptor eficiente, este complejo es de alta afinidad y contiene una subunidad específica designada como IL-15R α . En comparación, esta sub-unidad IL-15R α , muestra mayor afinidad de ligando que la porción específica de IL-2R, en ausencia de las sub-unidades β y γ . La estructura de IL-15R α se compone de un campo extracelular de 173 aminoácidos, un campo transmembranal de 21 aminoácidos y un campo citoplasmático de 37 aminoácidos(108). IL-15R α es necesaria para el ligado de alta finidad de IL-15, más no para la señalización, para ello, es posible que IL-15 utilice las mismas vías que IL-2, esto es, inducir la fosforilación de tirosina de JAK1 y JAK3 (janus kinasa) y causar la inducción rápida de los complejos ligados al DNA que contienen las señales de transducción y a los activadores de la transcripción (STAT3 y STAT5)(109). Existe también un

receptor extra para IL-15 , que solo se expresa en mastocitos y en donde IL-15 causa la proliferación de estas células y que se ha designado como IL-15R-X. Este receptor se expresa de manera independiente y utiliza una vía diferente de señalización (JAK2 y STAT5).

La presencia de RNAm de IL-15 en varios tejidos y células y la producción incrementada ante diversos estímulos, sugieren que esta citocina desarrolla un papel protector en las respuestas inmunes. La aparición de IL-15 en infecciones tempranas, contribuye al reclutamiento y activación de células inflamatorias como neutrófilos, asesinas naturales (NK) y células T(110). La IL-15 derivada de células del estroma, sirve como un factor de supervivencia para células T activadas en sangre. Algunos estudios sugieren que interleucina 15 participa como un factor de diferenciación de células asesinas naturales (NK), y la producción en grandes cantidades de IL-15 por macrófagos sinoviales y fibroblastos, contribuye a la patogénesis de la artritis reumatoide.

IL-16

Fue descrita originalmente como un factor quimiotáctico de linfocitos (LCF), por su acción quimiotáctica sobre células T tipo CD4+. Esta interleucina es única en sus características, estructura y función. Es una sialoproteína de 14-17kDa y multimeriza dentro de los homotetrámeros catiónicos(111). El gen codificador de IL-16 se localiza en el cromosoma 15q26.7, lejos de áreas de citocinas ya conocidas. La forma activa consta de 130 aminoácidos, y se convierte en una proteína tetramérica de 50-60kDa.

El único receptor conocido para IL-16 es la molécula CD4, a través de la cual transmite sus señales funcionales, por lo que IL-16 es dependiente de CD4. De lo poco conocido con respecto a este receptor y el evento de señalización, se sabe que la interacción de este complejo resulta en eventos de transducción asociados a fosfolipasa.

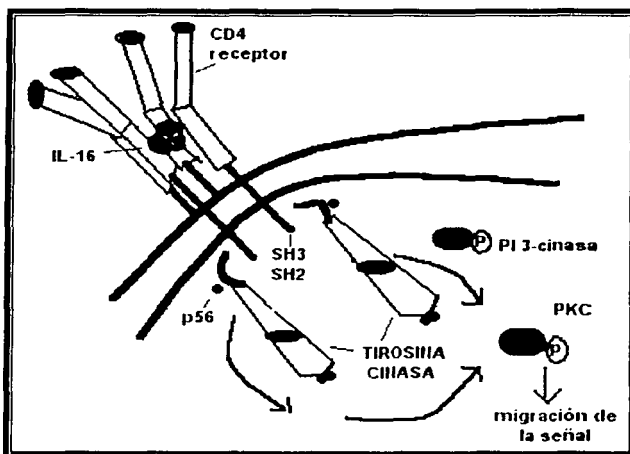


Fig.14. Señalización de IL-16 en unión a su único receptor conocido: CD4.

La IL-16 es secretada por linfocitos T CD8+ y CD4+(112), que la liberan en respuesta a la estimulación con histamina a través de los receptores H2 ó por serotonina a través de receptores tipo S2(113); así como también por estimulación con antígenos ó mitógenos. Otras células capaces de liberar IL-16 son: eosinófilos, células epiteliales bronquiales, mastocitos y fibroblastos de tejido conectivo(114). El tratamiento de fibroblastos cultivados con citocinas pro-inflamatorias, resultó en la liberación de IL-16 y otras sustancias quimioatrayentes, logrando la atracción de células CD4+ al sitio de inflamación. IL-16 es un potente factor quimiotáctico para células T CD4+ y eosinófilos, además de que también compite como un factor de crecimiento para células T CD4+. También induce la expresión de los receptores para IL-2 y en monocitos elevan la expresión de la molécula de histocompatibilidad clase II, similar en magnitud a el IFN- γ pero independiente(115).

IL-17

IL-17 es derivada de células T y actúa en una gran variedad de células. Es una glicoproteína de 155 aminoácidos y la célula T CD4+ es la principal secretora de IL-17, además de las células estromales de varios tejidos, el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), y prostaglandina E2. Cuando esta citocina sinergiza con el TNF ó el IFN γ , inducen la secreción de IL-17 por sinoviocitos. IL-17 y TNF inducen la producción de GM-CSF por fibroblastos sinoviales(116). La inducción de IL-17 a fibroblastos, incrementa la habilidad de estos para sustentar el crecimiento de progenitores hematopoyéticos de CD34+ y dirigen su maduración preferencial a los neutrófilos(116). La habilidad de IL-17 para inducir la secreción de IL-6, IL-8 y PGE2, le sugiere un rol pro-inflamatorio sobre reacciones inflamatorias dependientes de células T. También puede inducir la producción de citocinas hematopoyéticas como IL-6, IL-8 y G-CSF, teniendo así, una actividad hematopoyética indirecta.

El receptor para IL-17 no posee secuencia similar con ningún otro receptor conocido para citocinas. Es una proteína transmembranal larga de 864 aminoácidos, incluyendo una terminal N-péptida con un sitio clavado después del aminoácido 31, seguido por un dominio extracelular de 291 aminoácidos, un dominio transmembranal de 21 aminoácidos y un tallo citoplasmático de 521 aminoácidos. La proteína receptora de IL-17 posee una masa molecular de 97.8 kDa(117). Posee también 12 residuos de cisteína en el campo extracelular en posiciones relativas no característicos de receptores miembros de la familia de inmunoglobulinas, y debido al largo tallo citoplasmático no tiene secuencia homóloga con ningún otro receptor conocido para tirosina-cinasa.

IL-18

Originalmente fue identificado como un factor capaz de inducir la producción del IFN- γ en el ratón con shock endotóxico (118). Al ser clonada

se descubrió que posee un precursor inactivo de 192 aminoácidos(119) con un 12 % de homología secuencial con IL-1 α e IL-1 β (120); la enzima convertidora de IL-1 β (ICE), la cual procesa al precursor inactivo de dicha proteína, mostró también actividad sobre el precursor de IL-18.

El gen para IL-18 se localiza en el cromosoma 11 q22.2-22.3, cercanamente localizado a la familia de IL-1. La forma activa de IL-18, es una molécula de 22.3 kDa y consta de 157 aminoácidos. Esta citocina juega un papel importante en la iniciación de la respuesta inmune y parece ser responsable en parte de la patogénesis del shock séptico y de las lesiones tisulares que ocurren durante la inflamación.

Resultados recientes detectaron la presencia de RNAm de IL-8 en páncreas, riñón, músculo esquelético, hígado, pulmones y células sanguíneas humanas, aunque ello no indica que IL-18 sea producida en su forma activa por estos órganos. Células que si han mostrado la producción de IL-18 activa incluyen a: queratinocitos, osteoblastos, células epiteliales del intestino delgado y glándulas adrenales, de estas últimas se demostró que en la fase aguda del "stress" estas glándulas inducen la expresión de IL-18(121).

Hasta el momento no existe información aparente sobre la naturaleza y distribución de los receptores para IL-18. Al parecer estos receptores solo se expresan sobre células T, B y asesinas naturales, y su gen se localiza en el cromosoma 2 q13-21.

IL-18 actúa sobre células T y células asesinas induciendo la producción de IFN- γ (122), también estimula la proliferación de células T e incrementa la actividad de las células asesinas; además incrementa la producción de IL-2, GM-CSF y células auxiliares 1 *in vitro*.

En vista de las múltiples funciones inmunoregulatorias que se atribuyen a IL-18, es posible que esta se encuentre envuelta en respuestas inmunes antimicrobiales e inclusive promueva respuestas inmunes antitumorales.

INTERFERONES.

Los interferones fueron los primeros miembros descubiertos de la familia de proteínas conocidas como citocinas y son moléculas que interfieren en la replicación de virus, de ahí el nombre(123). Aunque fueron descubiertas como agentes antivirales, los interferones poseen otras funciones biológicas. Actualmente se dividen en dos tipos:

- a) La familia tipo I que incluye a los interferones α , β , ω y τ .
- b) La familia tipo II que corresponde al IFN- γ .

Los miembros de la familia I están relacionados estructuralmente y su gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 9, estos genes no contienen ningún intron. Entre el IFN- α y β , existe solo un 25-30% de secuencia homóloga a nivel de aminoácidos(124). La proteína madura del IFN- α consta de 165 a 166 aminoácidos, IFN- β por su parte consta de 166 e IFN- ω y τ poseen 172 aminoácidos cada uno. IFN- α contiene cuatro cisteínas que forman dos puentes disulfuro, uno de los cuales es indispensable para llevar a cabo sus actividades biológicas(125,126), esta es una proteína no glicosilada. IFN- β por su parte posee un sitio N-glicosilado y tiene un puente disulfuro intramolecular(127), su estructura es de tipo terciario y posee cinco α hélices(128,129).

El gen para la familia tipo II, se localiza en el cromosoma humano 12 y contiene 3 intrones y 4 exones. El IFN- γ funciona como un dímero(130) y contiene 146 aminoácidos, dos sitios para N-glicosilación y no contiene cisteínas.

La vía de transducción de los interferones es llamada JAK-STAT(131-133), el uso de esta vía, reduce la actividad intrínseca de la tirosina cinasa. Los receptores son activados tras la unión del estímulo a ellos, también se activan los JAK, que median a la fosforilación de la tirosina y activan a la proteína transcritora STAT (transductor de la señal y activador de la transcripción) (134,135). Estas proteínas se trasladan al núcleo para formar

el complejo activo de transcripción ligado al gen, que contiene la secuencia específica *cis-acting*, que es llamado ISRE (elemento de respuesta estimulado por interferón). (131). Los interferones α y β , utilizan a ISRE como su *cis-acting* regular, por su parte el interferón γ , utiliza a ISRE u otros *cis*-elementos distintos como son : la molécula de histocompatibilidad clase II (MHCII), el sitio de activación GAS ó el gen GBP el cual contiene tanto a GAS como a ISRE.

Los interferones tipo I y tipo II, se unen a receptores diferentes los cuales pertenecen a la clase II de receptores para citocinas(136,137). Los receptores para la familia tipo I tiene al menos dos cadenas, estas proteínas no tienen actividad intrínseca tirosina-cinasa, aunque su campo intracelular se asocia a una proteína específica de este tipo(131,138,139). El receptor para la familia tipo II (IFN- γ), es un heterodímero que posee dos proteínas transmembranales (140,141). Dos tirosinas cinasas diferentes se unen al campo intracelular de ambas subunidades. Las dos cadenas del receptor para IFN- γ son codificados por genes distintos ubicados en el cromosoma 6 y 21.

La actividad principal de los interferones es la defensa del huésped contra infecciones virales y parasitarias. También actúan como reguladores del crecimiento y diferenciación celular (142). Poseen además efectos antitumorales en algunas líneas celulares de este tipo, por ejemplo, el IFN- α es utilizado en el tratamiento de la leucemia y el sarcoma de Kaposi(142), el IFN- β se utiliza para el tratamiento de la esclerosis múltiple (143); el IFN- γ por su parte, es utilizado en el tratamiento de enfermedades crónico granulomatosas(144). Estas citocinas actúan también sobre el sistema inmune, activando a monocitos, macrófagos, células T citotóxicas y células asesinas naturales (NK). También modula la síntesis de inmunoglobulinas, la expresión del gen de la molécula de histocompatibilidad clase I y II, y codifica a las proteínas que contribuyen a la potenciación del sistema inmune.

Algunos IFNs poseen actividades específicas, por ejemplo, el IFN- γ induce los antígenos de la molécula de histocompatibilidad clase II(MHC-II) a macrófagos activados.

TGF- β

TGF es el prototipo de una familia de citocinas que se encuentran relacionadas por siete residuos de cisteína que les caracterizan. Esta familia posee tal vez, la mayor cantidad de funciones, regulando procesos de diferenciación y crecimiento celular, formación de hueso, patogénesis de enfermedades diversas, carcinogénesis e inflamación.

TGF- β es codificada por una proteína precursora de 390-442 aminoácidos que es procesada proteolíticamente por la furina, una endoproteasa(145). TGF- β existe como un homo u heterodímero de 25 kDa, de 112 aminoácidos y posee un puente disulfuro. Posee 3 isoformas, TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3. Son codificadas por genes únicos localizados en cromosomas diferentes, 19q13, 1q41 y 14q24 respectivamente. Todos poseen la misma cantidad de intrones y exones, 6 y 7. Curiosamente, la localización de todos estos genes corresponden a sitios identificados importantes para la enfermedad del Alzheimer.

La regulación de la expresión de TGF- β 1 es mediada por proteínas promotoras tales como SP-1, AP-1, los cuales promueven la inducción de TGF- β 1, así como su inducción oncogénica, activando genes *jun* y *fos*. Los promotores para TGF- β 2 y 3 son distintos, cada una se caracteriza por la presencia de una caja TATA que marca el sitio de inicio de transcripción y un elemento de respuesta cAMP proximal, CRE/ATF tienen fuertes influencias de transcripción vía el ligado del factor de transcripción ATF-1(146).

Prácticamente cualquier célula puede ser estimulada para la secreción de TGF- β . En la mayoría de las células y tejidos, la isoforma predominante es

la TGF- β 1, ya que generalmente TGF- β 2 y TGF- β 3 se mantienen más a nivel de proteínas.

Los receptores para esta molécula, se distinguen de todos los demás receptores para citocinas por su especificidad para la fosforilación en serina ó treonina, más que los residuos de tirosina(147). Estos complejos receptores son heterotetraméricos, pues consisten de dos receptores diferentes estructural y funcionalmente. La señalización de las tres isoformas de TGF- β , son mediadas por el receptor TGF β R-II y el TGF β R-I ó ALK-5(receptor cinasa activador). La vía básica de señalización para esta citocina utiliza a factores SMAD. La activación del receptor ocurre cuando TGF- β induce la asociación de ambos receptores (tipo I y II), estos poseen una proteína cinasa con actividad serina/treonina en el dominio intracelular, el receptor tipo II entonces fosforila el dominio GS que activa al receptor tipo I que catalizará la fosforilación del R-SMAD (receptor-regulador de SMAD), esta acción incrementa la afinidad de R-SMAD por Co-SMAD (compañero de SMAD) y forman un complejo que resulta en su libre movimiento hacia el núcleo y permite la asociación competente con los activadores transcripcionales.

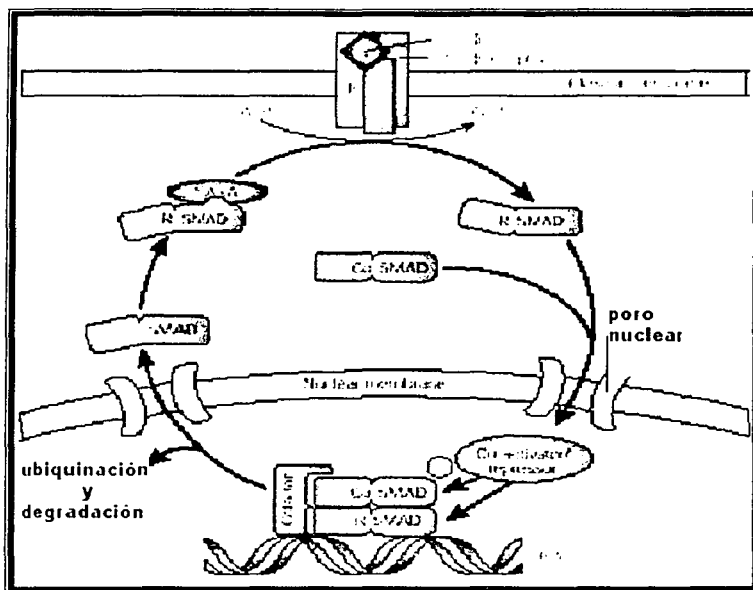


Fig.15. Modelo básico de señalización de TGF-β

En función de que cualquier tipo celular expresa receptores para TGF- β , sus actividades son extensas(148,149). La cualidad que le distingue de las demás citocinas, es su habilidad para limitar el crecimiento de células epiteliales, endoteliales y hematopoyéticas. También regula la función diferenciada de células inmunes, suprimiendo la activación de células T y la secreción de anticuerpos por células B. Posee además efectos quimiotácticos, control en la diferenciación celular, apoptosis y la producción de matriz extracelular. Tal vez su acción más importante es sobre células mesenquimales, donde sus efectos de regulación del crecimiento son menos evidentes, incrementando así la expresión de proteínas extracelulares, la supresión de proteasas y la inducción de inhibidores para proteasa. Todas estas funciones, la colocan como una de las principales mediadoras de

enfermedades fibróticas, carcinogénesis, enfermedades autoinmunes y parasitarias.

TNF

Este factor fue descubierto en 1975, y se le identificó como un factor derivado de macrófago capaz de necrotizar tumores en el ratón. La familia de TNF incluye al TNF- α y a la linfotoxina α y β , que anteriormente eran conocidas como el TNF- β . Esta familia de citocinas comparte algunas actividades biológicas aunque poseen receptores diferentes y regulación diferente del gen de transcripción.

El TNF es en un principio una pro-hormona compuesta de 233 aminoácidos; al ser liberada de la superficie membranal es un monómero de 17 kDa compuesto por 157 aminoácidos. El gen para TNF se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y consta de 4 exones de los cuales uno posee más del 75% de la secuencia aminoácida en la proteína madura (150,151).

TNF media sus efectos biológicos interactuando con dos receptores relacionados llamados TNF-R1 y TNF-R2, la masa molecular de estos es de 60 y 80 kDa respectivamente; sus campos extracelulares contienen varias áreas relacionadas y los campos citoplasmáticos son distintos (152-154). Existen dos proteínas que participan en la conducción temprana de la señal de TNF (proteínas asociadas al receptor) conocidas como TRAF-1 y TRAF-2. La activación del receptor para TNF, resulta en cascadas secundarias de señalización que pueden incluir a prostaglandinas, leucotrienos, calcio, ceramidas y tirosinas-cinasas. La respuesta más común de señal transducción para TNF, es la translocación del factor de transcripción NF- κ B al núcleo (155,156), donde entonces se promueve la transcripción de otras citocinas.

Los macrófagos son la superficie principal de TNF, aunque varios tipos celulares más pueden producirla en su forma activa. El principal estímulo inductor de TNF son las endotoxinas bacteriales (LPS), aunque otros estímulos endógenos y exógenos también pueden inducirla, inclusive el

stress. Algunas citocinas pueden estimular la producción de TNF, por ejemplo, IL-1, GM-CSF y el TNF por si mismo.

TNF actúa como un mediador patológico en una gran cantidad de órganos y sistemas, además, durante su proceso de acción, activa a mediadores secundarios, que al trabajar en conjunto aumentan su toxicidad. Esta citocina puede actuar tanto localmente como sistémicamente y en fases agudas y crónicas. También posee efectos inflamatorios y de destrucción tisular, pues activa a enzimas características de estos padecimientos (colagenasas y proteasas) (157-159), además de estimular a otras citocinas pro-inflamatorias que producen la liberación de óxido nítrico (NO) y radicales libres de peróxido.

La linfotóxina- α es una glicoproteína de 25 kDa que consta de 205 aminoácidos, tiene sitios para N-glicosilación y su estructura biológicamente activa es un homotrímero, que puede ligarse a ambos receptores para TNF. Esta citocina es secretada principalmente por linfocitos activados T, B y asesinas naturales (NK) (160,162). Puede ser inducida por estímulos diversos como mitógenos, productos bacteriales, antígenos específicos e infecciones virales. Posee actividades múltiples, incluyendo: la activación del crecimiento de fibroblastos, destruye diversas líneas celulares tumorales, induce la fragmentación del DNA y activa la expresión de diversos genes, por ejemplo, el de la molécula de histocompatibilidad (MHC) y el de adhesión molecular (160-162). Linfotóxina- α actúa también como un factor de crecimiento para células B (163) y como un factor activador de osteoclastos (164).

Linfotóxina- β es una proteína que posee un dominio citoplásmico corto tipo N-terminal y un dominio transmembranal de 30 aminoácidos, posee sitio para N-glicosilación y una masa molecular de 33 kDa (160,162). Poco es lo que se conoce sobre esta citocina.

FACTORES ESTIMULADORES DE COLONIAS.

Existen tres factores estimuladores de colonias:

1. M-CSF. Factor estimulante de colonias de macrófagos.
2. G-CSF. Factor estimulante de colonias de granulocitos.
3. GM-CSF. Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos.

M-CSF

La forma nativa de M-CSF es un dímero de 45 a 70 kDa. Se han localizado al menos dos ácido ribonucleico mensajero (RNAm) diferentes para M-CSF, aunque son expresados por un gen común. La glicosilación y el procesamiento de las formas nativas de M-CSF, resulta en al menos en dos glicoproteínas, una de 35 a 45 kDa y otra de 20 a 25 kDa, estas proteínas constan de entre 554 y 256 aminoácidos respectivamente.

Esta molécula se liga a una clase sencilla de receptores que se expresan principalmente sobre macrófagos maduros y sus precursores en médula ósea(174-177). Se demostró que este receptor es producto de un protooncogene (*c-fms*).

El ligado de M-CSF a su receptor, activa la cinasa receptora llevando a la autofosforilación del receptor sobre la tirosina (178-180), la internalización y degradación del complejo receptor, y la fosforilación de proteínas celulares.(175,181,182).

M-CSF es producida por células mesenquimatosas, incluyendo células de la médula ósea, fibroblastos y células endoteliales (165,170,171). La estimulación de estas células con esteres de forbol, GM-CSF, interferón- γ ó TNF α , resultan en la producción de esta citocina (172,173).

M-CSF estimula la proliferación de monocitos, macrófagos y sus progenitores de la médula ósea (165). También estimula la expresión del RNAm del factor 4 de plaquetas en megacariocitos, sugiriendo una acción

posible en la producción de plaquetas (167). Además puede actuar de manera combinada con otros factores de crecimiento hematopoyético, IL-3, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, afecta la función de los monocitos y macrófagos maduros, incrementando la producción de IL-1, factor necrótico tumoral (TNF), G-CSF e interferón; además potencia la liberación de prostaglandinas y metabolitos de oxígeno biocidal(166,168,169).

G-CSF

El DNA complementario de G-CSF fue aislado de líneas celulares de carcinomas y es una glicoproteína de 18,6 kDa que posee 174 aminoácidos y dos puentes disulfuro que estabilizan a la molécula.

El receptor para G-CSF es una subunidad sencilla de 150 kDa(187) de alta afinidad, es un polipéptido de 812 aminoácidos. Posee un corto campo trans-membranal y el campo citoplasmático es similar al del receptor para IL-4, el campo extracelular consiste de 601 aminoácidos.

Las endotoxinas son el principal estímulo que eleva la producción de G-CSF por macrófagos, células endoteliales y fibroblastos (185,186).

G-CSF básicamente sustenta la formación de colonias de granulocitos (neutrófilos en un 90%), así como de eritrocitos, células adherentes y linfocitos T (183,184).

GM-CSF

Es una molécula de 127 aminoácidos que posee dos sitios para glicosilación y su gen se localiza en el cromosoma 5. Su receptor es un polipéptido de 84 kDa. Para la acción de esta molécula sobre la célula blanco, GM-CSF, se liga a su receptor estimulando la fosforilación específica-serina de una proteína citosólica de 68 kDa y también de una proteína membranal de 68 kDa, así como también la fosforilación tirosina-específica de una proteína membranal de 90 kDa (200).

GM-CSF es producida por un gran rango de tipos celulares, destacando a células T, células epiteliales y fibroblastos (195-197). La estimulación de las células productoras de GM-CSF con IL-1, TNF α y lipopolisacáridos (LPS), inducen la expresión de esta citocina(198,199).

Este factor estimula la proliferación y diferenciación de células progenitoras de granulocitos y macrófagos (188), aunque ya se ha demostrado que también estimula a células progenitoras de eosinófilos y megacariocitos (189,190). También puede actuar de manera sinérgica, por ejemplo, en combinación con eritropoyetina (Epo), estimula a células progenitoras de eritrocitos, con IL-3 estimula el desarrollo máximo de colonias de eritrocitos, megacariocitos y eosinófilos. GM-CSF también actúa en la actividad funcional de células maduras, por ejemplo, inhibe la migración de neutrófilos e incrementa su actividad en la fagocitosis de bacterias y parásitos (191,192), posee efectos similares sobre monocitos y macrófagos, estimulando su citotoxicidad y habilidad para matar parásitos (193,194).

EL PAPEL DE LOS COMPONENTES BACTERIANOS EN EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

El desarrollo de la enfermedad periodontal inducida por microorganismos está acompañada por las acumulación de células inflamatorias y por cambios en la composición del tejido conectivo (201). Conforme la enfermedad progresa el infiltrado inflamatorio inicialmente dominado por linfocitos y otras células mononucleares es gradualmente convertido en una población rica en células plasmáticas que infiltra en un gran porcentaje al tejido gingival. Lo que con lleva a la pérdida del 60 al 70% de las fibras de colágena, no existe hasta el momento la caracterización de una molécula exclusiva que prediga la destrucción de tejidos pero entre los candidatos más probables se encuentran la citocinas.

blancos de acción se encuentran los fibroblastos gingivales, linfocitos y monocitos.

Citocinas y periodontitis.

Las citocinas se descubrieron en el contexto de la investigación en los mecanismos de pirogénesis e inmunología celular. La primera molécula proinflamatoria en ser descubierta fue la interleucina-1 (llamado también pirógeno endógeno o factor activador de linfocitos LAF). Existen reportes que señalan que IL-1 e IL-6 se encuentran en el fluido cervical de pacientes con periodontitis. Estas citocinas se presentan como proteína y transcritos en tejidos inflamados.

Por otra parte algunos autores señalan que otras citocinas como IL-4, IL-5, IFN γ y TGF β también se presentan en la encía inflamada. No se sabe hasta este momento si la neutralización de las citocinas tuviera un efecto terapéutico, solamente será cuestión de tiempo para tener disponible esta información.

Entre las cuestiones importantes se encuentran:

- > ¿Cuál es la naturaleza del estímulo?
- > ¿Cuál es la naturaleza del entramado de citocinas que expresan pacientes con enfermedad periodontal?

Componentes de bacterias no periodontopatógenas que inducen citocinas.

En la última década ha comenzado a dilucidarse cuales son los componentes bacterianos que son capaces de estimular la síntesis de citocinas. Actualmente existe una importante y creciente participación de investigadores que se encuentran trabajando en este campo. De los microorganismos que inducen la síntesis de citocinas se agrupan en bacterias: a) Gram-positivos; b) Gram-negativos; c) Gram-positivos y Gram-negativos (Tabla 1)

Tabla 1. Factores Bacterianos capaces de estimular la síntesis de citocinas.

Componentes de Bacterias Gram-positivas

Proteína A

Ácido lipoteico

Superantígenos de *Staphylococcus*

Lipoarabinomanano

Componentes de Bacterias Gram-negativas.

Lipopolisacárido

Lípido A

Proteínas asociadas a Lipido A

Proteínas de la membrana externa

Porinas.

Otros componentes de la pared celular.

Proteínas de la superficie celular

Fimbria y pili

Lipopéptidos.

Lipoproteínas

Muramil-dipéptido

Peptidoglican

Polisacáridos

Otros componentes o productos bacterianos.

Toxinas

Proteasas

Superantígenos.

Componentes de Bacterias Gram-positivas.

Existen algunas referencias que muestran que la proteína A, ácido lipoteico, lipoarabinomanano y una proteína micobacteriana que inducen en monocitos IL-1 α , TNF, IL-6 y algunas otras citocinas que se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Componentes de Bacterias Gram-positivas que inducen Citocinas.

Componente	Célula Blanco	Citocina producida	Referencia
Proteína A	Monocito	IL-1 α , IL-4, IL-6, TNF α , IFN γ	215
Acido lipoteicoico.	Monocito	IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α	216-218
Lipoarabinomanano	Monocito	IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, TNF α	219,220
Proteína micobacteriana 58kDa	Monocito	TNF α	221

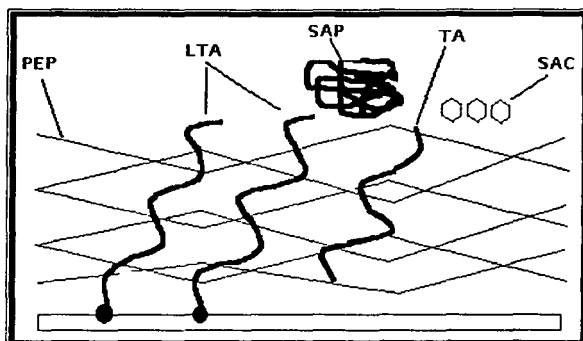


Fig.16. Estructura de la pared celular de una bacteria gram-positiva. PEP. Peptidoglicano. LTA. Ácido lipoteicoico. SAP. Proteína asociada a la superficie. TA. Ácido teicoico. SAC. Carbohidrato asociado a la superficie.

Componentes de Bacterias Gram-negativas que inducen citocinas.

Los principales componentes de las bacterias gram-negativas que inducen citocinas son los lipopolisacáridos y el lípido A. Las citocinas inducidas por LPS y el lípido A se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Componentes de bacterias gram- negativas como inductores de citocinas.

COMPONENTE	CÉLULA BLANCO	CITOCINA PRODUCIDA	REFERENCIA.
LAP	Monocitos	IL-1 β	222
Poros	Monocitos	IL-1, IL-4, IL-6, IL-8	223-225
Proteínas de la membrana externa	Macrófagos	TNF, IL-6	226
Lipoproteínas	Macrófagos	TNF α	227

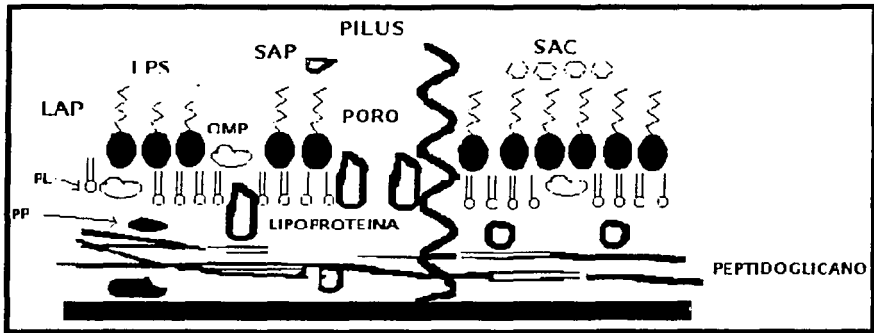


Fig.17. Estructura de la pared celular de una bacteria gram-negativa. PL. fosfolípido. PP. Proteína periplásmica. LAP. Proteína asociada al lípido A. LPS. Lipopolisacárido. OMP. Proteína exterior a la membrana. SAC. Carbohidrato asociado a la superficie. SAP. Proteína asociada a la superficie.

Constituyentes de productos de secreción de otras bacterias gram-positivas y gram-negativas.

Diversos componentes de la envoltura de bacterias gram-negativas y positivas ha demostrado que inducen la síntesis de citocinas. Los investigadores han tendido a enfocarse en los componentes de la cubierta como agentes inductores de citocinas. Estudios recientes han demostrado que exotoxinas bacterianas también presentan esta habilidad. Uno de los más potentes estimuladores de la síntesis de citocinas pro-inflamatorias es la pneumolisina de *Streptococcus pneumoniae*. A la concentración de 3 pg/ml, esta toxina puede estimular a los monocitos humanos a producir tanto IL-1 α y TNF α cuando se trata con 10 pg/ml de pneumolisina se produce el 50% de la respuesta máxima (228)

Componentes que inducen citocinas en bacterias periodontopatógenas.

Se ha demostrado que otros componentes además de los LPS son potentes inductores de la síntesis de citocinas. Algunas toxinas bacterianas como la pneumolisina que mencionamos en líneas anteriores así

como la toxina B de *Clostridium difficile* son fuertes inductores de citosina (228,229). Recientemente se han descrito las proteínas denominadas gingipains obtenidas de *Porphyromonas gingivalis*, que son unas proteasas, con la capacidad de inducir la síntesis de citocinas.

Lipopolisacáridos.

La capacidad de los LPS de bacterias periodontopatógenas en inducir la síntesis de citocina ha sido ampliamente reportado. Los LPS más ampliamente estudiados corresponden a los de *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia*. (Tabla 4)

Tabla 4. Inducción de citocinas por bacterias periodontopatogénicas.			
LPS	Célula blanco	Citocina producida	Referencia.
P. gingivalis	Monocito	IL-1, TNF	230,231
P. gingivalis	Macrófagos	IL-1, TNF	
P. intermedia	Monocito	IL-1 β	232,233
P.intermedia	Fibroblastos gingivales humanos	IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8	234.235
A.actinomycetemcomitans	Monocitos	IL-1, TNF	232,236-238
A.actinomycetemcomitans	Macrófagos	IL-1 α , IL-1 β , TNF α	239
A.actinomycetemcomitans	Fibroblastos gingivales humanos	IL-1 β , IL-6	235
Fusobacterium nucleatum	Macrófagos	IL-1	240,241

El mecanismo mediante el cual los LPS inducen la síntesis de citocinas no se conoce claramente pero diversas evidencias indican que se efectúa a través de la asociación de los LPS con receptores de las membranas como la proteína CD14 o el grupo de receptores Toll. La asociación del lipopolisacárido con los receptores activa señales de transducción intracelular que conducen a la síntesis de citocinas.

LPS de *Porphyromonas gingivalis*.

Monocitos y macrófagos.

Hanzawa (230) demostró que los LPS obtenidos de esta bacteria inducían la liberación de IL-1 desde concentraciones de 10 µg/ml. Sin embargo células mononucleares periféricas responden a los LPS desde dosis de 0.1 µg/ml lo que conlleva a la síntesis de IL-1 (242)

Posteriormente Mc Farlane (236) demostró que las células monocíticas de sangre periférica humana provenientes de pacientes con periodontitis liberan más IL-1 α y TNF β que aquellos pacientes libres de periodontitis. Así mismo Garrison (232) mostró que se presentaba un efecto sinérgico cuando se estimulaba también con IFN γ .

Shaphira (231) reportó que los LPS inducían la liberación de TNF α de manera dosis dependiente de 0.1 a 100 ng/ml. La respuesta es similar cuando se trata con LPS obtenidos de *E.coli*.

Otras citocinas producidas por monocitos en respuesta a 0.5 µg/ml de LPS de *P. gingivalis* incluyen al receptor antagonista de IL-1, IL-8, GM-CSF y IFN γ (243) El receptor antagonista de IL-1 bloquea la asociación de IL-1 a su receptor y de esta forma bloquea sus actividades biológicas. En cuanto a la síntesis de IL-1 β y TNF α el LPS de *P. gingivalis* es menos efectivo que de los obtenidos de *E.coli*.

Fibroblastos.

Takada (235) fue el primero en demostrar que IL- α e IL- β se liberan en respuesta a 10 $\mu\text{g/ml}$ del LPS de *Porphyromonas gingivalis* y a dosis de 0.1 $\mu\text{g/ml}$ induce la expresión de IL-1 β y a la concentración de 1 $\mu\text{g/ml}$ induce la expresión de IL-6. e IL-8. Así mismo se liberan otras proteínas como la proteína quemoattractante de monocitos (MCP-1) de manera dosis dependiente y desde dosis de 0.1 $\mu\text{g/ml}$ de tratamiento con LPS.

Otros componentes de bacterias periodontopatógenas que liberan citocinas.

Polisacáridos:

Takahashi (244) reportó que polisacáridos obtenidos de *A. actinomycetemcomitans* inducen la expresión de IL-1 en macrófagos en un rango de 12.5 a 10 $\mu\text{g/ml}$, además polimixina B no presentaba ningún efecto sobre la liberación de IL-1. El polisacárido del serotipo b que contiene L-ramosa y D- fucosa es más potente que el obtenido de los serotipos a y c. Por otra parte la de-acetilación de 6-deoxi-D-talosa y 6-deoxi-L-talosa de los serotipos a y c incrementan las síntesis de IL-1 en macrófagos.

Subsecuentemente Naito (245) reportó que una preparación de polisacáridos estables al calor obtenidos de autoclavar *P. gingivalis* son capaces de estimular la síntesis de IL-1 β en monocitos.

Nishihara (246) reportó que la porción polisacárida del LPS de *A. Actinomycetemcomitans* no tenía efecto en la síntesis de IL-1 en macrófagos

Fibroblastos gingivales humanos.

Hirose (247) fue el primero en demostrar que la fimbria de *P. gingivalis* (1 $\mu\text{g/ml}$) induce la síntesis de una proteína denominada factor activador de timocitos así como de IL-4, IL-6 y TNF α . Por otra parte preparaciones del material asociado a la superficie es un potente inductor de IL-6 en dosis desde 10 ng/ml y la actividad de esto compuesto desaparecía al tratar con tripsina lo que confirmaba la naturaleza proteínica de este compuesto (248).

Inducción de citocinas en monocitos y macrófagos.

La fimbria de *P. gingivalis* estimula la liberación de IL-6 y TNF α en monocitos a dosis de 5 μ g/ml (249). Posteriormente Murakami reportó que la fracción de fimbrias de 42 kDa estimula la acumulación de mRNA de TNF α y esta inducción es inhibida por el pretratamiento con N-acetil-D-galactosamina.

Hanazawa (250) mostró que las fimbrias inducen de manera dosis dependiente IL-1 β en macrófagos y en monocitos de IL-8.

En otros reportes Ogawa (249) reportó la fimbria induce IL-8 en monocitos. Estas fimbrias también presentan actividad en inducir resorción ósea en ratón de manera dosis dependiente (0.5 – 4 μ g/ml) (251). Ensayos de northern-blot muestran que la transcripción de IL-1 β , GM-CSF y la resorción es reducida por la presencia de anticuerpos anti-IL1 β o GM-CSF.

Hanasawa (252) encontró que la fimbria a la cocentración de 1 μ g/ml induce las expresión del factor quemoattractante en macrófagos.

Proteínas de *Prevotella intermedia*.

Matsushita (253) encontró que una proteína de superficie de 55 kDa estimula IL α , IL β , TNF α , IL-6 y IL-8 en monocitos. La potencia y eficacia fue similar a la de los LPS de ese organismo. Los fibroblastos gingivales humanos responden a concentraciones más elevadas (100 μ g/ml) y solamente estimulan la liberación de IL-1 β y IL-6. Reiddi (248) reportó que extractos salinos libres de LPS inducen la liberación de IL-6 en monocitos. La actividad inductora de citocinas fue significativamente disminuida al tratar la muestra con tripsina.

Shenker (254), en extractos sonicados de *P. intermedia* (a 25 μ g/ ml) reduce la producción de IL-2 en monocitos.

Proteínas de *Actinobacillus actinomycescomitans*.

Estudios de microscopia electrónica revelan que *A. actinomycescomitans* liberan material de la superficie sin afectar la integridad de la bacteria a este material se le denomina material asociado a la superficie (SAM).

SAM esta formado en un 70% por proteína, esta molécula induce la síntesis de IL-6 en fibroblastos gingivales y en monocitos induce IL-1, TNF y IL-6 (238). La síntesis de IL-6 requiere de la transcripción previa de IL-1 y TNF.

***Actinobacillus actinomycescomitans*.**

Woolverton (255) encontró que un polímero de la pared celular libre de LPS es capaz de estimular la síntesis de IL-1 en esplenocitos a dosis de 30 mg/ml. Una fracción libre de proteínas estimula también la síntesis de IL-1 e IL-4 en estas células, por otra parte una fracción de 50 kDA presenta actividad en la síntesis de IL-4. La preparación de pared celular libre de LPS consiste básicamente de peptidoglucanos, carbohidratos y proteínas.

Linderman y Economou (256) reportaron que células íntegras son capaces de inducir la síntesis de IL-1 y TNF en monocitos.

Kiruta-Ochiai (257) inyectaron ratones con extractos sonicados de *A. Actinomycescomitans* y obtuvieron linfocitos provenientes del bazo. Cuando estas células fueron estimuladas con concanavalina A, la liberación de IL-2 disminuyó en un 70% en comparación a los controles (al control se le inyectó buffer de fosfatos salino) y la máxima inhibición se presentó después de 2 días de la inyectar el extracto. En lo que se refiere a la liberación de IL-6 disminuyó en un 65% y la máxima disminución se presentó a los 8 días de inyectar a los ratones. Es importante mencionar que estas citocinas actúan sobre los linfocitos B, estas células participan en la secreción de anticuerpos y posiblemente la disminución en la concentración de estas citocinas repercute en la inmunosupresión de los ratones.

Fusobacterium nucleatum.

La estimulación con *F. Nucleatum* conduce a la síntesis y liberación de IL-1 en monocitos de 10 sujetos periodontalmente sanos (258). Sin embargo la actividad de IL-1 se detectó en los sobrenadantes de 6 individuos, mientras que los otros cuatro individuos mostraron una actividad inhibitoria de IL-1.

Las fracciones soluble y no soluble de *F. nucleatum* estimulan la liberación de IL-1 α , IL-6, TNF α en monocitos y fibroblastos gingivales humanos (259), pero esta detección se observó al tratar con 10 μ g/ml de la muestra.

EFFECTO DE LAS CITOCINAS EN EL PARODONTO.

De todas las citocinas que liberan en respuesta al tratamiento con diversos componentes de microorganismos periodontopatógenos solo la IL-1 ha sido más ampliamente caracterizada.

Con el propósito de localizar una molécula que sirva como un marcador en el desarrollo de la enfermedad periodontal se han realizado diversas determinaciones mediante ensayos de ELISA en fluido cervical en sitios no inflamados y con inflamación. Kabashima (202) encontró un factor, en el fluido cervical de pacientes con periodontitis, parecido a IL-1 capaz de inducir la proliferación celular de timocitos. El factor fue neutralizado con anticuerpos anti-IL1. Por otra parte se ha determinado que el muestreo repetido en los sitios inflamados ocasiona un aumento en la síntesis de IL-1 posiblemente por la gran permeabilidad vascular y sensibilidad en los tejidos dañados. (203,204).y la secreción de interleucina varía de acuerdo al tipo de periodontitis (Tabla 5).

Tabla 5 Concentración de IL-1 en el fluido cervical de pacientes con periodontitis.			
Estatus periodontal	Interleucina	Concentración (ng /ml)	Referencia
Periodontitis de severa a moderada Control sano	IL-1 β IL-1 β	131 – 843 35 – 141	205
Periodontitis del adulto Control sano	IL-1 β IL-1 β	11- 288 4.5 – 66	206
Periodontitis del adulto.	IL-1 β	0.001 – 0.097	207
Periodontitis del adulto	IL-1 β	0.012 – 0.42	208
Periodontitis avanzada	IL-1 β IL-1 α	0.4 – 5.28 0.23 – 13.9	209

Expresión de IL-1 en relación con el estatus de la enfermedad periodontal.

Se han realizado un sin número de estudios con el propósito de correlacionar la síntesis de IL-1 con la enfermedad periodontal. Las células que expresan IL-1 β se encuentran concentradas en la lámina propia (210). Se han identificado solubles y asociadas a membranas (211). Los macrófagos expresan IL-1 α y IL-1 β y en el fluido cervical se ha detectado únicamente IL-1 α . Sin embargo Feldner (212) encontró una correlación positiva entre la concentración de IL-1 β y el número de células positivas a IL-1 β en pacientes no tratados con periodontitis.

IL-1 β se ha relacionado con la pérdida de la adherencia e inversamente relacionada con el enrojecimiento y la presencia de placa supragingival, pero no encuentra relación en el sangrado y supuración. Por otra parte se ha caracterizado que IL-1 se expresa en tejidos inflamados pero su expresión no se correlaciona con el estatus de la enfermedad periodontal.

Efecto de IL-1 sobre la expresión de colágena:

Las fibras del ligamento periodontal y de la encía están compuestas principalmente de colágena tipo I. La disolución gradual de estas fibras en respuesta a la enfermedad periodontal es un indicativo del progreso de la enfermedad. Diversos estudios señalan que IL-1 induce la síntesis de colágena en fibroblastos (213). Se ha demostrado que IL-1 β estimula la síntesis de colágena tipo de manera transcripcional y traduccional. Aunque otros estudios señalan que los efectos de la IL-1 β actúan predominantemente sobre la síntesis de metaloproteinasa (endopeptidasas que actúan sobre la matriz extracelular). (214)

En estudios *in vitro* se ha mostrado que IL-1 es un potente inductor de la síntesis de colagenasa presentando una mayor sensibilidad las células del ligamento parodontal que los fibroblastos de la encía(213).

Por otra parte se encontró que IL-1 induce a los fibroblastos a que sinteticen plaminógeno que a su vez induce la activación de las metaproteinasas que a su vez promueven la degradación de la colágena.

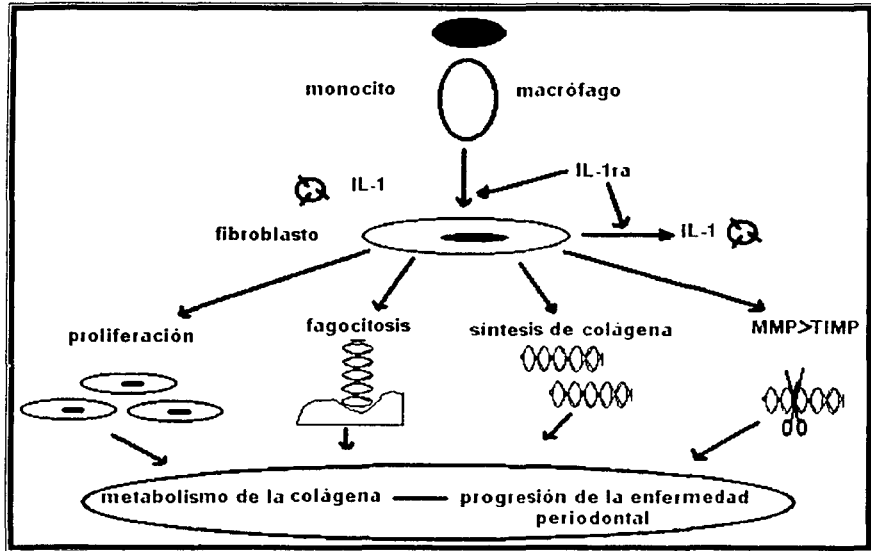


Fig. # Factores que afectan a IL-1, mediadora del metabolismo de la colágena de los fibroblastos en la patogénesis de la enfermedad periodontal inducida por bacterias. Los monocitos y macrófagos pueden ser estimulados por bacterias periodontopáticas o sus productos para lograr la síntesis de interleucina 1 (IL-1). IL-1 puede potenciar su propia expresión, y sus efectos biológicos pueden ser inhibidos por IL-1 receptor antagonista (IL-1ra). La producción sistémica o local de IL-1, puede mediar un cambio en las propiedades celulares de las células del huésped, como el fibroblasto. Las propiedades celulares del fibroblasto pueden ser alteradas en respuesta a estimulación con citocinas y estas pueden ser: proliferación celular, fagocitosis, síntesis de colágena, y la síntesis de enzimas proteolíticas como la matriz metaloproteinasas (MMPs) y sus inhibidores tisulares de metaloproteinasas correspondientes (TIMPs).

CONCLUSIONES.

La respuesta inmune se compone de una serie de eventos de múltiple interacción celular mediada por factores que le dan un cierto grado de especificidad a esta respuesta, dichos factores encargados de esta función son las citocinas.

Cuando se comenzó a investigar sobre las citocinas, se pensaba que estas actuaban de manera específica, actualmente, se conocen un gran número de funciones atribuidas a cada citocina, por lo que se les denomina como "factores pleiotrópicos".

En base a esta revisión podemos concluir que:

- a) las citocinas pueden interactuar con más de un tipo celular,
- b) poseen múltiples actividades biológicas,
- c) las células pueden interactuar con más de una citocina,
- d) las citocinas pueden ser producidas por más de un tipo celular,
- e) las citocinas pueden actuar positiva o negativamente en la transducción de una señal, esto depende del tipo celular sobre el que actúe,
- f) actúan a través de complejos receptores que regularmente se componen de una subunidad específica y otra(s) comunes o compartidas,
- g) las citocinas utilizan sistemas o vías de señalización variadas.

Los fibroblastos son las células responsables de sintetizar la colágena que es el principal conformante de la matriz extracelular, de acuerdo a esta revisión, los mismos fibroblastos son capaces de responder a los estímulos de las bacterias periodontopatógenas y alterar la composición de la matriz extracelular a través de la inducción de mediadores inflamatorios (principalmente IL-1) y de la síntesis de enzimas proteolíticas (MMP).

BIBLIOGRAFÍA.

1. Gershon, R.K., and Kondo, K. (1977). *Immunology* 21, 903-914.
2. Gery, I. (1971). Potentiation of cultured mouse thymocyte responses by factors released by peripheral leucocytes. *J. Immunol.* 107, 1778-1780.
3. Cohen, S. (1974). *Cell. Immunol.* 12, 150-159.
4. Atkins, E. (1960). *Physiol. Rev.* 40:580-646.
5. Falkoff, R.J. (1984). Direct effects of monoclonal B cell differentiation factor and of purified interleukin 1 on B cell differentiation. *J. Immunol.* 133:692-96.
6. Dejana, E. (1987). Modulation of endothelial cell functions by different molecular species of interleukin-1. *Blood.* 69:695-99.
7. Van Damme, J. (1987). *J. Exp. Med.* 165:914-19.
8. Rennick, D. (1987). *Blood* 69:682-91.
9. Gauldie, J. (1987). *Immunology.* 60:203-7.
10. Bayne EK. Immunocytochemical detection of IL-1 within stimulated human monocytes. *J. Exp. Med.* 1986; 163:1267-1273.
11. Bakouche O. Subcellular localization of human monocyte IL-1: evidence for an inactive precursor molecule and possible mechanism for IL-1 release. *J. Immunol.* 1987; 138:4249-4255.
12. Singer II. IL-1 β is localized in the cytoplasmic ground substance but is largely absent from the golgi apparatus and plasma membranes of stimulated human monocytes. *J. Exp. Med.* 1988; 167:389-399.
13. Stevenson FT. IL-1: the patterns of translation and intracellular distribution support alternative secretory mechanisms. *J. Cel. Physiol* 1992; 152:223-229.
14. Morgan, D.A. (1976). Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* 193:1007-8.
15. Paetkau, V. (1976). Proliferation of murine thymic lymphocytes in vitro is mediated by the concavalin A induced release of a lymphokine (costimulator). *J. Immunol.* 117:1320-24.
16. DiSabato, G. (1975). *Cell. Immunol.* 17:495-504.
17. Gillis, S. (1978). T cell growth factor parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J. Immunol.* 120:2027-32.
18. Seigel, L.J. (1984). Gene for T cell growth factor location on human chromosome 4q and feline chromosome B1. *Science* 223:175-78.
19. Brandhuber, B.J. (1987). Crystals and a low resolution structure for IL-2. *J. Biol. Chem.* 262:12306-8.
20. Brandhuber, B.J. (1987). Three-dimensional structure of interleukin-2. *Science* 238:1707-9.
21. Schrader, J.W. (1981). The persisting cell: histamine content, regulation by a T cell-derived factor, origin from a bone marrow precursor, and a relationship to mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:323-27.

22. Yung, Y.P. (1981). Long term in vitro culture of murine mast cells II. Purification of a mast cell growth factor and its dissociation from TCGF. *J. Immunol.* 127:794-99.
23. Razin, E. (1981). Selective growth of a population of human basophil cells in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2559-61.
24. Nabel, G. (1981). Inducer T lymphocytes synthesize a factor that stimulates proliferation of cloned mast cells. *Nature* 291:332-34.
25. Dy, M., Lebel, B. (1981). Histamine production during the anti-allograft response. Demonstration of a new lymphokine enhancing histamine synthesis. *J. Exp. Med.* 153:293-309.
26. Schrader, J.W. (1982). The acquisition of receptors for peanut agglutinin by peanut agglutinin-negative thymocytes and peripheral T cells. *J. Immunol.* 129:30-35.
27. Ihle, J.N. (1981). Regulation of T cell differentiation: in vitro induction of 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase in splenic lymphocytes from a thymic mice by a unique lymphokine. *J. Immunol.* 126:1284-89.
28. Lee, J.C. (1982). *J. Immunol.* 128:2393-98.
29. Yokota, T. (1984). Isolation and characterization of a mouse cDNA clone that expresses mast-cell growth-factor activity in monkey cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:1070-74.
30. Sonoda, Y. (1988). Analysis in serum-free culture of the targets of recombinant human hemopoietic growth factor: IL-3 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating-factor are specific for early developmental stages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4360-64.
31. Roehm, N. (1984). The major histocompatibility complex restricted antigen receptor on T cells: distribution on thymus and peripheral T cells. *Cell* 38:577-84.
32. Coffman, R.L. (1986). B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *J. Immunol.* 136:949-54.
33. Lee, F. (1986). Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B cell stimulatory factor 1 that expresses B-cell and T-cell stimulating activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:2061-65.
34. Le Beau, M. (1989). *Blood* 73:647-50.
35. Leberman, D.A. (1988). Interleukin 4 causes isotype switching to IgE in T cell-stimulated clonal B cell cultures. *J. Exp. Med.* 168:853-62.
36. Pene, J. (1988). IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons gamma and alpha and prostaglandin E2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6880-84.
37. Rousset, F. (1988). J Regulation of Fc receptor for IgE (CD23) and class II MHC antigen expression on Burkitt's lymphoma cell lines by

- human IL-4 and IFN-gamma.
J. Immunol. 140:2625-32.
38. Rabin, E. (1986). Interferon-gamma inhibits the action of B cell stimulatory factor (BSF)-1 on resting B cells.
J. Immunol. 137:1573-76.
 39. Mond, J.J.(1986). Interferon-gamma suppresses B cell stimulation factor (BSF-1) induction of class II MHC determinants on B cells.
J. Immunol. 137:3534-37.
 40. Mond, J.J. (1985). Recombinant interferon-gamma inhibits the B cell proliferative response stimulated by soluble but not by Sepharose-bound anti-immunoglobulin antibody.
J. Immunol. 135:2513-17.
 41. Galizzi, J-P. (1988). J. Immunol. 141:1982-88.
 42. Tigges, M.A. (1989). Sc Mechanism of interleukin-2 signaling: mediation of different outcomes by a single receptor and transduction pathway. Science 243:781-86.
 43. Kupper, T. (1987). J. Immunol. 138:4280-87.
 44. Rennick, D. (1987). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6889-93.
 45. Zlotnik, A. (1987). J. Immunol. 138:4275-79.
 46. McInnes, A. (1988) J. Exp. Med. 167:598-611.
 47. Dutton, R. W. (1971). Prog. Immunol. 1:355-68.
 48. Schimpl, A. (1972). Nature. 237:15-17.
 49. Yokota, T. (1987). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84:7388-92.
 50. Kinashi, T. (1986). Nature 324:70-73.
 51. Rothman P. Cytokines and growth factor signal through tyrosine phosphorylation of a family of related transcription factors. Immunity 1994;1:457-468.
 52. Silvennoinen O. Structure of the JAK2 protein kinase and its role in IL-3 signal transduction. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993;90:8429-8433.
 53. Darnell JE. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 1994;264:1415-1421.
 54. Pazdrak K. The activation of the Jak-Stat 1 signaling pathway by IL-5 in eosinophils. J. Immunol 1995;155:397-402.
 55. vanderBruggen T. Interleukin-5 signaling in human eosinophils involves JAK2 tyrosine kinase and STAT1 α . Blood 1995;85:1442-1448.
 56. Pazdrak Z. The intracellular signal transduction mechanism of interleukin 5 in eosinophils: the involvement of lyn tyrosine kinase and the ras-raf-1-MEK-microtubule-associated protein kinase pathway. J. Exp. Med 1995;181:1827-1834.
 57. Denburg JA. Interleukin-5 is a human basophilopoietin: induction of histamine content and basophilic differentiation of HL-60 cells and of peripheral blood basophil-eosinophil progenitors. Blood 1991;77:1462-1468.

58. Van Damme J. (1987). *Eur. J. Biochem.* 168:543-50.
59. Nordan R.P. (1987). *J. Immunol.* 139:813-17.
60. Hirano, T. (1986). *Nature* 324:73-76.
61. Wong, G.G. (1988). *J. Immunol.* 140:3040-44.
62. Hodgkin, P.D. (1988). *J. Immunol.* 141:151-57.
63. Garman R.D. (1987). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:7629-33.
64. Namen A.E.(1988). *J. Exp. Med.* 167:988-1002.
65. Murray R. (1989). *Int. Immunol.* 1:526-31.
66. Gurdwin RG. Cloning of the human and murine IL-7 receptors: demonstration of a soluble form and homology to a new receptor superfamily, *Cell* 1990;74:1368-1373.
67. Lynch M, Park LS. The IL-7 receptor gene is at 5p13. *Hum. Genet.* 1992;89:566-568.
68. Darnel JE Jr. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and another extracellular proteins. *Science* 1994;264:1415-1420.
69. Lin J-X, Migone T-S. The role of shared receptor motifs and common stat proteins in the generation of cytokine pleiotropy and redundancy by IL-2, IL-4, IL-7, IL-13 and IL-15. *Immunity* 1995;2:331-339.
70. Venkitaraman AR. IL-7 receptor functions by recruiting the tyrosine-kinase p59fyn through a segment of its cytoplasmic tail. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992;89:12083-12087.
71. Zeng Yx, Takahashi H. JAK3 Janus kinase is involved in IL-7 pathway. *FEBS Lett* 1994;353:289-293.
72. Modi WS, Pollock DD. Regional localization of the human glutaminase (GLS) and IL-9 genes by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1991;57:114-116.
73. Renauld J-C, Goethals A. Human p40/IL-9: expression inactivated CD4+T gene cells, genomic organization and comparison with the mouse gene. *J. Immunol* 1990;144:4235-4241.
74. Paul S:R(1990). Molecular cloning of a cDNA encoding IL-11, a stromal cell-derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87,7512-7516.
75. Kawashima I.(1991). Molecular cloning of cDNA encoding adipogenesis inhibitory factor and identity with IL-11. *FEBS lett* 283,199-202.
76. Yang L.(1995). Heparin inhibits the expression of IL-11 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor in primate bone marrow stromal fibroblast through mRNA destabilization. *Blood* 86,2526-2533.
77. Suen Y.(1994). Regulation of IL-11 protein and mRNA expression in neonatal and adult fibroblasts and endothelial cells. *Blood* 84,4125-4134.

78. Maier R.(1993). IL-11, and inducible cytokine in human articular chondrocytes and synoviocytes, stimulates the production of the tissue inhibitor of metalloproteinases. *J.Biol.Chem*:226,21527-21532.
79. Romas E.(1996). The role of gp130 mediated signals in osteoclast development: regulation of IL-11 production by osteoblasts and distribution of its receptor in bone marrow cultures. *J.Exp.Med.* 183,2581-2591.
80. Yang L.(1996). IL-11 mRNA stabilization in phorbol ester-stimulated primate bone marrow stromal cells. *Mol.Ceel.Biol.* 16, 3300-3307.
81. Hilton D.J.(1994). Cloning of a murine IL-11 α chain; requirement for gp130 for high affinity binding and signal transduction. *EMBO J.* 13,4765-4775.
82. Turner K.J.(1996). The role of IL-11 in megakaryocitopoiesis. *Stem cells* 14 (supplement 1), 53-61.
83. Girasole G.(1994). IL-11: a new cytokine critical for osteoclast developmente. *J.Clin.Invest.* 93, 1516-1524.
84. Dui X.X.(1996). Murine IL-11 is expressed at high levels in the hippocampus and expression is developmentally regulated in the testis. *J.Cell.Physiol.* 168,362-372.
85. Baumann H.(1991). IL-11 regulates the hepatic expression of the same plasma protein genes as IL-6. *J.Biol.Chem.* 266,20424-20427.
86. Gately M.(1986). *J.Immunol.* 136,1274-1281.
87. Kobayashi M.(1989). *J.Exp.Med.* 170,827-845.
88. Gubler U.(1991). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88(10), 4143-4147.
89. Wolf S.F.(1991). *J.Immunol.* 146,3074-3081.
90. Podlaski F.J.(1992). *Archiv. Biochem. Biophys.* 294,230-237.
91. Sieburth D.(1992). *Genomics* 14,59-62.
92. Desai B.B.(1992). *J. Immunol.* 148, 3125-3132.
93. Chehimi J.(1992). *J. Exp. Med.* 175,789-796.
94. Robertson M.J.(1992). *J. Exp. Med.* 175, 779-788.
95. Chan S.H.(1992). *J. Immunol.* 148, 92-98.
96. Stern, A.S.(1990). *Cancer Res.* 54, 182-189.
97. Kiniwa, M.(1989). *J. Clin. Invest.* 90, 262-266.
98. Cherwinski HM. (1987). *J. Exp. Med.* 166, 1229-1244.
99. Brown K.D. (1989). *J. Immunol.* 142, 679-687.
100. McKenzie A.N.J. (1993). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 3735-3739.
101. Punnonen J. (1993). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 3730-3734.
102. Defrance T. (1994). *J. Exp. Med.* 179, 135-143.
103. Russell S.M. (1993). *Science* 262, 1880-1883.
104. Minty, A. (1993). *Nature* 362, 248-250.
105. Grabstein, K.H.(1994). Cloning of a T cell growth factor that interacts with with the β chain of the IL-2R. *Science* 264,965-968.

106. Anderson, D.M. (1995). Chromosomal assignment and genomic structure of IL-15. *Genomics* 25, 701-706.
107. Kumaki (1995). Characterization of B-cell lines established from two x-linked severe combined immunodeficiency patients: IL-15 binds to the B-cells but is not internalized efficiently. *Blood* 86, 1428-1436.
108. Giri J.G. (1994). Utilization of the β and γ chains of the IL-2 receptor by the novel cytokine IL-15. *EMBO J.* 13, 2822-2830.
109. Johnston, J.A. (1995). Tyrosine phosphorylation and activation of STAT5, STAT3 and janus kinases by IL-2 and IL-15. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 92, 8705-8709.
110. Mc Innes (1997). IL-15 mediates T cell dependent regulation of tumor necrosis factor- α production in rheumatoid arthritis. *Nature Med.* 3, 189-195.
111. Cruikshank W.W. (1991). Lymphocyte chemoattractant factor induces CD4 dependent intracytoplasmic signaling in lymphocytes. *J. Immunol.* 146, 2928-2934.
112. Laberge S. (1995). Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *J. Immunol.* 155, 2902-2910.
113. Laberge S. (1996). Secretion of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) from serotonin-stimulated CD8+T cells in vitro. *J. Immunol.* 156, 310-315.
114. Cruikshank W.W. (1997). Primary human fibroblasts express IL-16 mRNA and bioactivity in culture. *J. Allergy Clin. Immunol.* 99, 221.
115. Center D.M. (1995). The lymphocyte chemoattractant factor. *J. Lab. Clin. Med.* 125, 167-172.
116. Fossiez F. (1996). T cell IL-17 induces stromal cells to produce pro-inflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.* 183, 2593-2603.
117. Yao Z. (1995). Herpesvirus saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity* 3, 811-821.
118. Okamura H. (1982). High level induction of gamma interferon with various mitogens in mice pretreated with propionibacterium acnes. *Infect. Immun.* 38, 440-443.
119. Okamura H. (1995). Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* 378, 88-91.
120. Bazan J.F. (1996). A newly defined interleukin-1?. *Nature* 379, 591.
121. Conti B. (1997). Induction of IFN-gamma inducing factor in the adrenal cortex. *J. Biol. Chem.* 272, 2035-2037.

122. Kohno K.(1997). IFN-inducing factor (IGIF) is a costimulatory of IL-12. *J.Immunol.* 155,2902-2910.
123. Isaacs A. Virus interference 1.The interferon. *Proc.R Soc Lond (Biol)* 1957;147:258-267.
124. Taniguchi T. Human leukocyte and fibroblast interferons are structurally related. *Nature* 1980;285:547-549.
125. Weissmann C. The interferon genes. *Prog Nucl Acid Res Mol Biol* 1986;33:251-300.
126. Wetzel R.Assignment of the disulphide bonds of leukocyte interferon. *Nature* 1981;289:606-607.
127. Knight E. Interferon: purification and initial characterization from human diploid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:520-523.
128. Utsumi J. Human interferon β , protein structure and function. Galveston: University of Texas Medical Branch, 1992:107-116.
129. Utsumi J.Characterization of E. coli-derived recombinant human IFN- β as compared with fibroblast human IFN- β . *J. Biochem* 1987;101:1199-1208.
130. Yip Y.K. Molecular weight of human γ interferon is similar to that of other human interferons. *Science* 1982,215:411-413.
131. Darnell Jr. Jak STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and another extracellular signaling proteins. *Science* 1994;264:1415-1421.
132. Pellegrini S. Early events in signaling by interferons. *Trends.Biochem Sci* 1993;18:338-342.
133. Schindler C. Transcriptional responses to polypeptide ligands: the JAK-STAT pathway. *Ann Rev Biochem* 1995;64:621-651.
134. Schindler C. Interferon dependent tyrosine phosphorylation of a latent cytoplasmic transcription factor. *Science* 1992;64:621-651.
135. Shuai K. Polypeptide signaling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of JAK and STAT protein. *Nature* 1993;366:580-583.
136. Bazan J.F. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc.Natl.Acad.Sci:USA* 1990;87:6934-6938.
137. Taniguchi T. Cytokine signaling through non-receptor protein tyrosine kinases. *Science* 1995;268:251-255.
138. Novick D. The human IFN α/β receptor: characterization and molecular cloning. *Cell* 1994;77:391-400.
139. Ihle J.N. Cytokine receptor signaling. *Nature* 1995;377:591-594.
140. Aguet M. Molecular cloning and expression of the human IFN- γ receptor. *Cell* 1988;55:273-280.
141. Gray P.W. Cloning and expression of the cDNA for the murine interferon γ receptor. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1989;86:8479-8501.
142. Lengyel P.Tumor suppressor genes: news about the interferon connection. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1993;90:5893-5895.

143. Knobler R.L. Systemic recombinant human interferon- β treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: pilot study analysis and six year-follow-up. *J.interferon Res.* 1993;13:333-340.
144. Sechler JM. Recombinant human interferon- γ reconstitutes defective phagocyte function in patients with chronic granulomatous disease of childhood. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1988;85:4874-4878.
145. Blanchette(1997). TGFbeta 1 regulates gene expression of its own converting enzyme furin. *J.Clin.Invest.*99,1974-1983.
146. Kingsley-Kallesen,M.(1997). Transcriptional regulation of the TGFbeta2 gene in choriocarcinoma cells and breast carcinoma cells: differential utilization of cis-regulatory elements in vitro cell. *Dev.Biol.Anim.*33,294-301.
147. Derynck,R.(1997).TGFbeta receptor signaling. *Biochim.Biophys.Acta* 1333,F105-F150.
148. Roberts,A.(1990). In "Handbook of experimental pharmacology. Peptide growth factors and their receptors (e.d. M.B.Sporn), the transforming growth factors- β , pp 419-472. Springer-Verlag, New York.
149. Roberts A.(1993).Physiological actions and clinical applications of TGFbeta. *Growth factors* 8, 1-9.
150. Spies T. A new cluster of genes within the human major histocompatibility complex. *Science* 1989;43:214-217.
151. Nedwin GE. Human lymphotoxin and TNF- α genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic acids Res.* 1985;13:6361-6373.
152. Brockhaus M. Identification of two types of tumor necrosis factor receptors on human cell lines by monoclonal antibodies. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 1990;87:3127-3131.
153. Tartaglia LA. A novel domain within the 55 kD TNF receptor signals cell death. *Cell* 1993;74:845-853.
154. Trefzer U. The 55 kD tumor necrosis factor receptor on human keratinocytes is regulated by tumor necrosis factor-alpha and by ultraviolet B radiation. *J. Clin. Invest.* 1993;92:462-470.
155. Adam D. Cross-linking of the p55 tumor necrosis factor receptor cytoplasmic domain by a dimeric ligand induces nuclear factor-kappaB and mediates cell death. *J. Biol. Chem.* 1995;270:17482-17487.
156. Hohmann H-P. Tumor necrosis factor alpha and beta bind to the same two types of tumor necrosis factor receptors and mamimally activate the transcription factor NF-kappaB at low receptor occupancy and within minutes after receptor binding. *J. Biol. Chem.* 1990;265:15183-15188.
157. Ito A. Tumor necrosis factor bifunctionally regulates matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) production by human fibroblasts. *FEBS Lett* 1990;269:93-95.

158. Dayer J.M. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human sinovial cells and dermal fibroblasts. *J. Exp. Med.* 1985;162:2163-2168.
159. Yaron I. Some recombinant human cytokines stimulate glycosaminoglycan synthesis in human synovial fibroblast cultures and inhibit it in human articular cartilage cultures. *Arthritis Reum.* 1989;32:173-180.
160. Paul NL. Lymphotoxin. *Ann. Rev. Immunol.* 1988;6:407-438.
161. Ruddle N. Tumor necrosis factor-beta; lymphotoxin-alpha. In: Thomson A, ed. *Cytokine handbook*. 2nd ed. London: academic press, 1994;305-318.
162. Turetskaya R. Genomic structure, induction, and production of TNF- β . In: Aggarwal BB, eds. *Tumor necrosis factors: structure, function and mechanism of action*. New York: 1992:35-60.
163. Estrov Z. Lymphotoxin is an autocrine growth factor for Epstein-Barr virus-infected B cell lines. *J. Exp. Med.* 1993;177:763-774.
164. Bertolini DR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factor. *Nature* 1986;319:516-518.
165. Stanley ER. Factors regulating macrophage production and growth. Purification and some properties of the colony stimulating factor from medium conditioned by mouse L cells. *J. Biol. Chem.* 1977;252:4305.
166. Ralph P. Molecular and biological properties of human growth factor, CSF-1. *Cold spring harbor symp quant Biol.* 1986;51:679.
167. Hunt P, personal communication, 1990.
168. Metcalf D. Synthesis by mouse peritoneal cells of G-CSF, the differentiation inducer for myeloid leukemia cells: stimulation by endotoxin, M-CSF and multi-CSF. *Leuk. Res.* 1985;9:35.
169. Warren MK. Macrophage growth factor CSF-1 stimulates human monocyte production of interferon, tumor necrosis factor, and colony stimulating activity. *J. Immunol* 1986;137:2281.
170. Das SK. Structure-function studies of a colony stimulating factor (CSF-1). *J. Biol. Chem.* 1982;257:13679.
171. Tushinski RJ. Survival of mononuclear phagocytes depends on a lineage-specific growth factor that the differentiated cells selectively destroy. *Cell.* 1982;28:71.
172. Horiguchi J. Expression of the macrophage-specific colony-stimulating factor in human monocytes treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood.* 1987;69:1259.
173. Oster WA. Tumor necrosis factor (TNF)-alpha but not TNF-beta induces secretion of colony-stimulating factor for macrophages (CSF-1) by human monocytes. *Blood* 1987;70:1700.
174. Guilbert LJ. Specific interaction of murine colony-stimulating factor with mononuclear phagocyte cells. *J. Cell. Biol.* 1980;85:153.

175. Guilbert LJ. The interaction of l-colony-stimulating factor-1 with bone marrow-derived macrophages. *J. Biol. Chem.* 1986;261:4024.
176. Byrne PV. Distribution of cells bearing receptors for a colony stimulating factor (CSF-1) in murine tissues. *J. Cell. Biol.* 1981;91:848.
177. Morgan CJ. Chemical cross-linking of the mononuclear phagocytic specific growth factor CSF-1 to its receptor at the cell surface. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1984;119:35.
178. Sherr CJ. The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor ,CSF-1. *Cell.*1985;41:665.
179. Sacca R. Specific binding of the mononuclear phagocyte colony-stimulating factor CSF-1 to the product of the v-fms oncogene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986;83:3331.
180. Yeung YG. Purification of the colony-stimulating factor 1 receptor and demonstration of its tyrosine kinase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987;84:1268.
181. Wheeler EF. The v-fms oncogene induces factor independence and tumorigenicity in CSF-1 dependent macrophage cell line. *Nature* 1986;324:377.
182. Downing JR. Ligand induced tyrosine kinase activity of the colony stimulating factor-1 receptor in a murine macrophage cell line. *Mol. Cell. Biol.* 1988;8:1795.
183. Burgess AW. Characterization of a serum factor stimulating the differentiation of myelomonocytic leukemic cells. *Int. J. Cancer.* 1980;39:647.
184. Welte K. Purification and biochemical characterization of human pluripotent hematopoietic colony stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985;82:1526.
185. Vadas MA. Regulation of granulocyte function by colony-stimulating factors and monoclonal antibodies. *Lymphokines* 1985;12:179.
186. Rennick D. Control of hemopoiesis by a bone marrow stromal cell clone: Lipopolysaccharide and interleukin-1-inducible production of colony-stimulating factors GM-CSF and G-CSF. *Blood* 1987;69:682.
187. Avalos BR. Molecular characterization of the human G-CSF receptor. *J. Cell. Biochem Suppl* 1989;13C:22.
188. Metcalf D. Hemopoietic colonies. In: *in vitro* cloning of normal and leukemic cells. Berlin: springer-verlag, 1977.
189. Metcalf D. *In vitro* actions on hemopoietic cells of recombinant murine GM-CSF purified after production in *E. coli*: comparison with purified native GM-CSF. *J. Cell. Physiol.* 1986;128:421.
190. Robinson BE. Recombinant murine granulocyte macrophage colony-stimulating factor has megakaryocyte colony-stimulating factor, has megakaryocyte colony-stimulating activity and augments

- megakaryocyte colony stimulation by interleukin 3. *J. Clin. Invest.* 1987;79:1648.
191. Burgess Aw. Purification and properties of bacterially synthesized human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood* 1987;69:43.
192. Williamson DJ. Enhancement of neutrophil-mediated phagocytosis by human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor demonstrated using a novel mathematical mode. *Immunol. Cell. Biol.* 1987;65:329-63.
- Grabstein KH. Induction of macrophage tumorocidal activity by granulocyte macrophage colony stimulating factor. *Science* 1986;232:506.
193. Grabstein KH. Induction of macrophage tumorocidal activity by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Science* 1986;232:506.
194. Handman E. Stimulation by granulocyte-macrophage colony stimulating factor of leishmania tropica killing by macrophages. *J. Immunol.* 1979;122:1134.
195. Kelso A. Expression of nemopoietic growth factor genes in murine T lymphocytes. *The lymphokines. Vol.3.* New York: academic press, 1987:209.
196. Koury MJ. Retroviruses induces granulocyte-macrophage colony-stimulating activity in fibroblasts. *Nature* 1982;299:638.
197. Quesenberry PJ. Vascular endothelium as a regulator of granulopoiesis. Production of colony-stimulating activity by cultured human endothelial cells. *Blood* 1980;56:1060.
198. Broudy VC. Tumor necrosis factor type alpha stimulates human endothelial cells to produce granulocyte macrophage colony stimulating factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986;83:7467.
199. Zsebo KM. Vascular endotelial cells and granulopoiesis interleukin-1 stimulates release of G-CSF and GM-CSF. *Blood* 1988;71:99.
200. Sorenson PH. Interleukin-3, GM-CSF, And TPA induce distinct phosphorylation events in an interleukin 3-dependent multipotential cell line. *Blood* 1989;73:406.
201. Page RC.(1976). Patogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.* 33:235-249.
202. Kabashima H.(1990). Partial characterization of an interleukin-1 like factor in human gingival crevicular fluid from patients with chronic inflammatory periodontal disease. *Infect Immun* 58:2621-2627.
203. Curtis MA.(1988). The total protein concentration of gingival crevicular fluid. Variation with sampling time and gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 15:628-632.
204. Adonogianaki E.(1994). Acute-phase proteins in gingival crevicular fluid during experimentally induced gingivitis. *J Periodont Res* 29:196-202.

205. Preiss DS. (1994). Interleukin-1 β concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 65:423-428.
206. Tsai C-C. (1995). Levels of interleukin 1 β and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol Res* 13:207-214.
207. Wilton JMA. (1992). Interleukin-1 β levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study. *J. Clin Periodontol* 19:53-57.
208. Wilton JMA. (1993). Interleukin-1 β and IgG subclass concentrations in gingival crevicular fluid from patients with adult periodontitis. *Arch Oral Biol* 38:55-60.
209. Masada MP. (1990). Measurement of interleukin-1 α and -1 β in gingival crevicular fluid implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 25:156-163.
210. Stashenko P. (1991). Levels of interleukin-1 β in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 18:548-554.
211. Jandinski JJ. (1991). Localization of interleukin-1 β in human periodontal tissue. *J Periodontol* 62:36-43.
212. Feldner BD. (1994). Histological evaluation of interleukin-1 β and collagen in gingival tissue from untreated adult periodontitis. *J Periodont Res* 29:54-61.
213. Kahari V-M. (1987). Interleukin-1 increases collagen production and mRNA levels in cultured skin fibroblasts. *Biochem Biophys Acta* 929:142-147.
214. Birkedal H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 28:500-510.
215. Riesenfeld-Om I. Production of tumor necrosis factor by human monocytes stimulated with pneumococcal cell surface components. *Infect Immun* 1989;57:1890-1893.
216. Timmerman CP. Induction of release of tumor necrosis factor from human monocytes by staphylococci and staphylococcal peptidoglycans. *Infect Immun* 161:4167-4172.
217. Keller R. The macrophage response to bacteria. Modulation of macrophage functional activity by peptidoglycan from *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. *Clin Exp Immunol* 1992;89:384-389.
218. Onto T. Acute arthritis in mice by peptidoglycan derived from gram-positive bacteria and its possible role in cytokine production. *Microbiol Immunol* 1993;37:573-582.
219. Dokter WHA. A natural bacterial cell wall breakdown product. Induces interleukin-1 β and interleukin-6 expression in human monocytes. *J. Biol. Chem* 1994;269:4201-4206.
220. Dokter WHA. A naturally occurring 1,6-anhydro muramyl dipeptide, induces granulocyte colony-stimulating factor expression in human monocytes: a molecular analysis. *Infect Immun* 1994;62:2953-2957.
221. Takada H. Induction of inflammatory cytokines by a soluble moiety prepared from an enzyme lysate of *actinomyces viscosus* cell walls. *J Med Microbiol* 1993;38:395-400.

- 222.Linder H. Adhesion-dependent activation of mucosal interleukin-6 production. *Infect Immun* 1991;59:4357-4362.
- 223.Hedges S. Interleukin 6 response of epithelial cell lines to bacterial stimulation *in vitro*. *Infect Immun* 1992;60:1295-1301.
- 224.Mai UEH. Soluble surface proteins from helicobacter pylori activate monocytes/macrophages by lipopolisaccharide-independent mechanism. *J Clin Invest* 1991;87:894-900.
- 225.Soell M. Binding of *streptococcus mutans* SR protein to human monocytes: production of tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6. *Infect Immun* 1994;62:1805-1812.
- 226.Bhakdi S. Effects of *escherichia coli* hemolysin in human monocytes:cytotoxic action and stimulation of interleukin-1 release. *J Clin Invest* 1990;85:1746-1753.
- 227.Bhakdi S. Release of interleukin-1 β associated with potent cytotoxic action of staphylococcal alpha-toxin on human monocytes. *Infect Immun* 1989;57:3512-3519.
- 228.Houldsworth S. Pneumolysin stimulates production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 β by human mononuclear phagocytes. *Infect Immun* 1994;62:1501-1503.
- 229.Flegel WA. Cytokine response by human monocytes to *Clostridium difficile* toxin A and toxin B. *Infect Immun* 1991;59:3659-3666.
- 230.Hanazawa 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 Immun* 1985;50:262-270.
- 231.Shapira L. *Phopyromonas gingivalis* lipopolysaccharide stimulation of human monocytes: dependence on serum and CD14 receptor. *Oral Microbiol Immunol* 1994;9:112-117.
- 232.Garrison SW. LPS-elicited secretory responses in monocytes: altered release of PGE2 but not IL-1 β in patients with adult periodontitis. *J Periodont Res* 1989;24:88-95.
- 233.Payne JB. Longitudinal evaluation of peripheral blood monocyte secretory function in periodontitis-resistant and periodontitis-susceptible patients. *Arch Oral Biol* 1993;38:309-317.
- 234.Tamura M. Lipopolysaccharides of *bacteroides intermedius* (*prevotella intermedia*) and *bacteroides (porphyromonas) gingivalis* induced interleukin-8 gene expression in human gingival fibroblast cultures. *Infect Immun* 1992;60:4932-4937.
- 235.Takada H. Production of cytokines by human gingival fibroblasts. Periodontal disease; pathogens and host immune responses. Quintessence publishing Co. Tokyo, 1991;265-276.
- 236.McFarlane CG. The release of interleukin-1 β , tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis. *J Periodont Res* 1990;25:207-214.

- 237.Lindemann RA. Induction of activated lymphocyte killing by bacteria associated with periodontal disease. J Dent Res 1988;67:846-850.
- 238.Reddi K. Relative cytokine-stimulating activities of surface components of the periodontopathogenic bacterium *actinobacillus actinomycetemcomitans*. Cytokine 1996;7:534-541.
- 239.Saglie FR. Lipopolysaccharide from *actinobacillus actinomycetemcomitans* stimulates macrophage to produce interleukin-1 and tumor necrosis factor mRNA and protein. Oral Microbiol Immunol 1991;66:378-380.
- 240.Hamada S. Characterization and immunobiologic activities of lipopolysaccharides from periodontal bacteria. Adv Dent Res 1988;2:284-291.
- 241.Okahashi N. Immunobiological properties of lipopolysaccharides isolated from *fusobacterium nucleatum* and *F. necrophorum*. J Gen Microbiol 1988;134:1707-1715.
- 242.Yamazaki K. Direct and indirect effects of *porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. Oral Microbiol Immunol 1992;7:218-224.
- 243.Ogawa T. Immunobiological activities of chemically defined lipid A from lipopolysaccharides of *porphyromonas gingivalis*. Microbiology 1994;140:1209-1216.
- 244.Takahashi T. Murine macrophage interleukin-1 release by capsularlike serotype-specific polysaccharide antigens of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect Immun 1991;59:18-23.
- 245.Naito Y. The relationship between polysaccharide antigen and interleukin-1 beta producing activity in *porphyromonas gingivalis*. Bull Tokyo Dent Coll 1992;33:187-195.
- 246.Nishihara T. Suppression of murine macrophage interleukin-1 release by the polysaccharide portion of *haemophilus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide. Infect Immun 1988;56:619-625.
- 247.Hirose K. Stimulatory effects of *bacteroides gingivalis* fimbriae on production of fibroblast derived thymocyte activating factor(FTAF) by human gingival fibroblasts. J Meikai Univ School Dent 1990;19:127-136.
- 248.Reddi K. Comparison of the pro-inflammatory cytokine-stimulating activity of the surface-associated material of periodontopathogenic bacteria. J Periodont Res 1996;31:120-130.
- 249.Ogawa T. Immunobiological activities of synthetic peptide segments of fimbrial protein from *porphyromonas gingivalis*. Biochem Biophys Res Comm 1991;180:1335-1341.
- 250.Hanazawa S. *Bacteroides (porphyromonas) gingivalis* fimbriae activate mouse peritoneal macrophages and induce gene expression and production of interleukin-1. Infect Immun 1991;59:1972-1977.
- 251.Kawata Y. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae stimulate bone resorption *in vitro*. Infect Immun 1994;62:3012-3016.
- 252.Hanazawa S. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae induce expression of the neutrophil chemotactic factor KC gene of mouse peritoneal macrophages; role of protein kinase C. Infect Immun 1992;60:1544-1549.

253. Matsushita K. Immunobiological activities of a 55-kilodalton cell surface protein of *prevotella intermedia* ATCC 25611. *Infect Immun* 1994;62:2459-2469.
254. Shenker BJ. Immunosuppressive effects of *prevotella intermedia* on *in vitro* human lymphocyte activation. *Infect Immun* 1991;59:4583-4589.
255. Woolverton CJ. Immunomodulating activities of sodium-dodecylsulphate-extracted antigens from *actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype B. *Microb Ecol Hlth Dis* 1994;7:338-343.
256. Lindenman RA. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *bacteroides gingivalis* activate human peripheral monocytes to produce interleukin-1 and tumor necrosis factor. *J Periodontol* 1988;59:728-730.
257. Kurita-Ochiachi T. Immunosuppressive effect induced by *actinobacillus actinomycetemcomitans*: effect on immunoglobulin production and lymphokine synthesis. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:338-343.
258. Walsh LJ. Interleukin-1 and interleukin-1 inhibitor production by human adherent cells stimulated with periodontopathic bacteria. *Arch Oral Biol* 1989;34:679-683.
259. Rossano F. Human monocytes and gingival fibroblasts release tumor necrosis-alpha, interleukin-1alpha and interleukin-6 in response to particulate and soluble fractions of *prevonella melaninogenica* and *fusobacterium nucleatum*. *Int J Clin Lab Res* 1993;23:165-168.