

PRESENCIA DE INMUNOGLOBULINA G, M Y FRACCION
C₃ DEL COMPLEMENTO EN PERIODONTITIS JUVENIL.

POR

C.D. MA. GUADALUPE MARIN GONZALEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRIA EN ODONTOLOGIA (PARODONCIA)

**MARIN
GONZALEZ
MARIA
GUADALUPE**

1984



**Facultad de Odontología
Div. de Est. de Posgrado e Investigación
Biblioteca "Barnet M. Levy"**

TESIS



K(1) UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

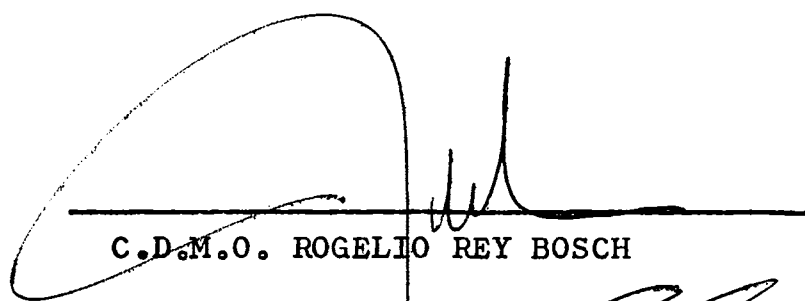
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

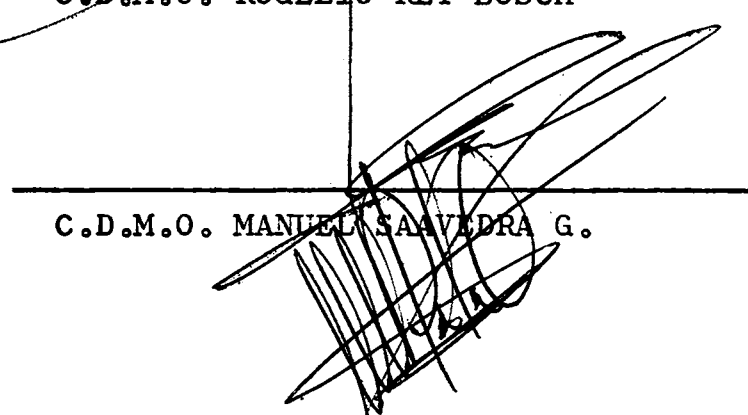
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

PRESENCIA DE INMUNOGLOBULINA G₃ M Y FRACCION
C₃ DEL COMPLEMENTO EN PERIODONTITIS JUVENIL.

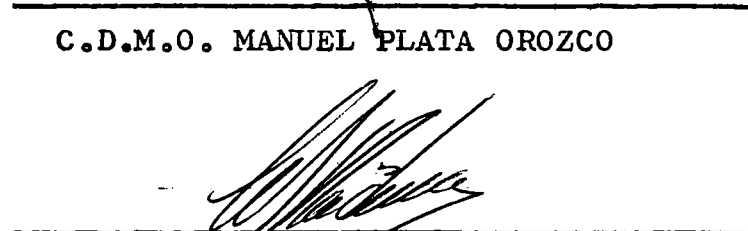
APROBADA POR:



C.D.M.O. ROGELIO REY BOSCH



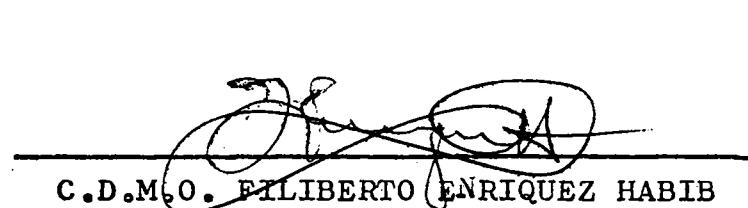
C.D.M.O. MANUEL SAAVEDRA G.



C.D.M.O. MANUEL PLATA OROZCO



C.D.M.O. CARLOS MARTINEZ REDING



C.D.M.O. FILIBERTO ENRIQUEZ HABIB
Director de la Tesis

Reconocimientos:

CON AGRADECIMIENTO A MIS PADRES

Al DR. FILIBERTO ENRIQUEZ HABIB

En agradecimiento al apoyo que me ha brindado en mi desarrollo profesional y en el asesoramiento de este trabajo.

Al DR. ROGELIO REY BOSCH

Jefe de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Odontología de la U.N.A.M.

Al DR. ROGELIO HERRERA ECHAURI

Por su ayuda en la elaboración de este trabajo.

Al Departamento de Parodontia, División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Odontología de la U.N.A.M.

I N D I C E

Pág. i

Introducción	1
Revisión de la Literatura	5
Materiales y Métodos	18

FOTOGRAFIAS:

Vista general de un paciente con Periodontitis ju- venil. Existe poca cantidad de depósitos sobre - los dientes	21
---	----

Vista radiográfica del paciente No. II del sexo - femenino. Obsérvese la gran destrucción osea ge- neralizada y las lesiones características en for- ma de espejo en la zona mesial de los primeros mo- lares inferiores	22
--	----

Sondeo en la región del primer molar inferior. El instrumento penetra 8 mm.	23.
---	-----

Hemiseptum en la cara mesial del primer molar in- ferior	24
---	----

Defecto angular en la parte mesial del primer molar inferior izquierdo. Lesión característica de estos pacientes	25
Acercamiento de la lesión en la que se observa la presencia de sarro subgingival en relación al defecto oseo	26
Obtención de la muestra en bloque con hoja de bisturí Bard-Parker No. 15	27
Diente extraído junto con el tejido gingival	28
Muestra gingival con depósitos de IgG	29
Muestra gingival de paciente con Periodontitis juvenil. Donde podemos observar (flechas) depósitos de IgG, la inmunoglobulina encontrada con mayor frecuencia	30
Obsérvense los microdepósitos de C ₃ nítidamente delimitados.....	31

Muestra gingival de Periodontitis juvenil en la que se observan microdepósitos de C_3	32
Microfotografía donde se aprecia una muestra del fondo de la bolsa de un paciente con Periodontitis juvenil, se aprecian depósitos de IgG	33
Aspecto general de la muestra gingival con microscopio de luz ultravioleta, en donde se observa la presencia de inmunoglobulinas.....	34
Resultados	35
Tabla I	36
Discusión	37
Conclusiones	41
Bibliografía	42
Curriculum Vitae	47

I N T R O D U C C I O N

La periodontitis juvenil (periodontitis, término utilizado anteriormente) es una alteración de las estructuras de soporte del diente que aparece en la adolescencia (13 a 21 años). Se distingue de la periodontitis del adulto -- por su temprano inicio y porque existe poca relación entre la cantidad de placa y el grado de destrucción de los tejidos.

Se reconocen dos formas de la enfermedad, la periodontitis juvenil localizada, donde están afectados los incisivos centrales y los primeros molares inferiores, y la forma generalizada la cual afecta varios dientes dando como resultado la pérdida temprana de los mismos.

Recientemente las investigaciones en el campo de la inmunología, microbiología e histopatología han abierto un panorama más amplio de esta enfermedad.

Los componentes bacterianos asociados con las lesiones de periodontitis juvenil localizada han sido establecidos -- por varios investigadores (4,12) quiénes han encontrado que el número total de bacterias es más bajo que en la mayoría de las formas de enfermedad periodontal destructiva.

Las poblaciones bacterianas más importantes asociadas con la periodontitis juvenil comprenden los géneros Capnocytophaga y Actinobacillus actinomycetemcomitans. Este último produce pérdida de hueso alveolar después de su inoculación en ratas gnotobióticas, además se ha mostrado que este micro-organismo posee una potente leucotoxina capaz de destruir rápidamente leucocitos polimorfonucleares y monocitos humanos.

Chi-Cheng (3) ha demostrado que aproximadamente un 90 % de los pacientes con periodontitis juvenil contienen en el suero anticuerpos que neutralizan la leucotoxina del Actinobacillus actinomycetemcomitans.

Lavine y col. (9) demostraron que un 86 % del grupo de pacientes que ellos estudiaron tenían defectos en la quimiotaxis de los neutrófilos, lo cual indica que esta forma de periodontitis está asociada a una falla en los mecanismos protectores del huésped, lo que puede aumentar la susceptibilidad a la enfermedad periodontal.

Lehner (10) ha mostrado también que en este tipo de pacientes existe un daño selectivo del antígeno que induce la síntesis de DNA de los linfocitos (en un 65 % de los pacientes) a la placa y algunos organismos gram negativos,

lo cual está asociado con la liberación de un factor inhibidor de la migración del macrófago. Un hallazgo frecuente también es que el infiltrado inflamatorio contiene más de un 70 % de células plasmáticas y linfocitos a IgG^+ , IgA^+ e IgM^+ , así como la presencia de complejos inmunes. Esto nos hace ver que en la enfermedad existe una reacción inmunológica que participa en la destrucción de los tejidos periodontales. Ha habido una discusión continua acerca del potencial de la respuesta inmunológica del huésped como un fenómeno protector o destructor.

El sistema del complemento humano es el principal mediador de los mecanismos efectores humorales que contribuyen a la respuesta protectora contra sustancias extrañas y al daño en los tejidos del huésped. El sistema del complemento desempeña un papel importante en los fenómenos de fagocitosis quimiotaxis, alteración de la permeabilidad vascular, citólisis, producción de linfocinas, síntesis de anticuerpos, liberación de enzimas lisosomales, resorción ósea, etc. Aún cuando no ha sido bien establecido el papel que desempeña este sistema en la patogénesis de la enfermedad periodontal, su presencia y consumo se ha demostrado postulándose que este puede contribuir al desarrollo del proceso inflamatorio observado en la destrucción del tejido.

El objetivo del presente trabajo es observar la distribución y frecuencia de inmunoglobulinas G y M, así como de la fracción C_3 del complemento por medio de inmunofluorescencia directa en un grupo de pacientes con periodontitis juvenil.

REVISION DE LA LITERATURA

El estudio histológico de los tejidos gingivales difiere grandemente cuando se observa tejido sano o muestras de tejido con diferentes grados de inflamación gingival. Puesto que las muestras de tejido gingival clínicamente sano contienen comunmente un infiltrado celular en el tejido conectivo adyacente al epitelio de unión el término "gingivitis subclínica" parece ser más preciso para referirse al tejido que clínicamente determinamos como normal, en el cual se ha descrito una población celular de un 44 % de linfocitos, 36 % de fibroblastos, 4 % de Blastos T y B, 2 % de monocitos/macrófagos y 1.6 % de leucocitos polimorfonucleares. Esta proporción de células varía cuando se observa tejido gingival con gingivitis establecida en donde la célula predominante es el linfocito T (29.4 %) seguido por las células plasmáticas que numéricamente ocupan un 24.2 % de la población celular total, los fibroblastos el 23 %, se muestra también un aumento en el número total de blastos B y T (7.1 %), 6.4 % de monocitos/macrófagos, 1.1 % de células cebadas y 0.1 % de polimorfonucleares. (12)

En la periodontitis adulta Liljenberg y Lindhe (11) reportan un aumento significativo en el número de células

plasmáticas (56.8 %) seguido por una disminución en el número de linfocitos (14.3 %), un 12.2 % de blastos, 11.1 % de fibroblastos y 6.1 % de monocitos/macrófagos, estos autores no reportan polimorfonucleares ni mastocitos en la encía de periodontitis adulta. En la periodontitis juvenil (14-21 años) encontraron un incremento notable en la cantidad de células plasmáticas (71.1 %) comparado con un 56.8 % reportado para la periodontitis adulta, se observó también un 13.9 % de blastos, 9.7 % de fibroblastos, 4.3% de linfocitos, 0.6 % de polimorfonucleares, 0.3 % de mastocitos y un 0.2 % de monocitos/macrófagos. En las muestras de periodontitis post-juvenil (22-29 años) el predominio celular también correspondió a las células plasmáticas (84.5 %), el cual fue el valor más alto, un 8.1 % de fibroblastos, 4.1 % de blastos, 2.6 % de linfocitos comparado con un 14.3 % en la periodontitis adulta y no fueron reportados monocitos/macrófagos, polimorfonucleares ni mastocitos.

Lo anterior nos muestra que existe una modificación en la población celular que conforma el infiltrado durante el progreso de la enfermedad, por lo cual resulta sumamente importante el comprender el papel que desempeña cada célula y las interacciones que ocurren entre ellas.

Se ha establecido que la enfermedad es el resultado de la respuesta del huésped a los productos bacterianos. Esto es soportado por diversos estudios experimentales en animales y en humanos (13) en donde al permitir la acumulación de placa dentobacteriana durante un lapso preestablecido invariablemente se observa el desarrollo de la inflamación en forma paralela a la maduración de la placa.

La identificación de los componentes bacterianos que participan en el desarrollo de la enfermedad presenta un alto grado de dificultad, sin embargo, han sido identificados componentes bacterianos que causan una reacción importante en el huésped.

Ranney en 1978 (17) realizó un estudio con el objeto de determinar si los antígenos solubles de la placa se encuentran en el tejido gingival durante la enfermedad periodontal en 16 pacientes con periodontitis. El autor obtuvo un extracto de placa autóloga y un antisuero específico inducido en conejos, el cual fué conjugado con ---- fluoresceína. Sus resultados mostraron que todas las --- muestras eran positivas, lo cual indica el paso de componentes solubles de la placa a los tejidos gingivales. La localización de la fluoresceína se vió comunmente dentro de las células mononucleares, así como en una localiza---

ción subyacente al epitelio del surco y la parte más profunda del tejido conectivo o cerca del epitelio oral.

Existen evidencias substanciales de que los linfocitos humanos B y T son sensibles a varios productos de los micro-organismos orales, lo que sugiere que éstos productos tiene acceso a las células inmunocompetentes. Las reacciones inmunes subsecuentes pueden entonces contribuir a la patogénesis de la enfermedad periodontal. (7)

Asaro y col. en 1983 (1) reportan un modelo experimental en monos macaca mulatta en los que indujeron hipersensibilidad inmediata utilizando un antígeno denominado Novo-Alcalase derivado de una cepa de *Bacillus subtilis* - el cual fué aplicado repetidamente en las papilas gingivales y en algunos sitios de la piel en los días 1, 3, 5 y 7 anteriores al sacrificio.

Los 4 monos inmunizados desarrollaron hipersensibilidad inmediata, la cual fué corroborada mediante pruebas intradérmicas y pruebas tipo P-X así como mediante la localización de células mononucleares en piel conteniendo IgE. La discusión de este modelo experimental propone -- que la estimulación antigénica repetida que tiene lugar en la enfermedad periodontal del humano puede dar lugar a

un fenómeno inmunopatológico con estas características.

Lovelace, Thompson y Yukna en 1982 (14) correlacionaron los niveles de inmunoglobulinas gingivales y séricas para reflejar la producción in vivo de la inmuglobulina. La técnica empleada fue el electroinmunoensayo para determinar simultáneamente las concentraciones de IgG en relación a la albúmina en 16 pacientes con periodontitis. Los resultados indican que un 74.56 % de la IgG encontrada -- tiene un origen local, lo cual es inferido por los autores en base a la correlación existente de inmunoglobulina en suero y tejido gingival tomando como parámetro las concentraciones de albúmina.

Toto y col. en 1978 (21) determinaron mediante inmunofluorescencia directa la presencia y distribución consistente de IgG, IgM y fragmento C₃ del complemento, por lo cual proponen que el daño observado en los tejidos periodontales enfermos puede ser en parte mediado a través de un mecanismo de hipersensibilidad tipo III o de Complejos inmunes.

Por otro lado, la distribución irregular de fluorescencia en la membrana basal los hace sugerir la unión de complejos antígeno-anticuerpo.

Byers y col. en 1975 (2) determinaron cuantitativa--
mente los niveles de inmunoglobulinas A, G y M en pacien--
tes con enfermedad periodontal crónica utilizando la téc--
nica de inmunodifusión en platos de agar. Ellos encontra--
ron un marcado aumento en los niveles de IgG e IgA en la
encía inflamada cuando los comparaban con los resultados
obtenidos en encía sana, sin embargo, el radio de una a --
otra no varió. La IgM sólo fué detectada en 6 de las 16
muestras de encía inflamada, lo cual muestra que esta in--
munoglobulina no es una característica consistente de la
encía crónicamente inflamada. Ellos concluyeron que exis--
te una respuesta inmune local en la enfermedad periodon--
tal crónica en humanos y que existe un mecanismo homeostá--
tico desconocido que regula los niveles de inmunoglobuli--
na en estado de salud e inflamación.

Mackler y col. en 1977 (15) realizaron una investiga--
ción para definir la distribución relativa de linfocitos,
células plasmáticas y la naturaleza de los antígenos aso--
ciados con las células en la encía con diversos grados de
enfermedad periodontal inflamatoria. Ellos utilizaron --
inmunofluorescencia directa con antisuero para inmunoglo--
bulina G, A y M humana conjugados con fluoresceína y mi--
croscopio de contraste de fases para el conteo. Sus re--
sultados mostraron que la gingivitis leve estaba caracte--

rizada por linfocitos que no se encontraban asociados con inmunoglobulinas ni receptores de la Fc en su membrana, - lo cual es compatible con células T (15, 16), observaron pocas células plasmáticas y el infiltrado estaba localizado en áreas adyacentes al epitelio del surco.

Los tejidos asociados con periodontitis mostraban un 78 % de linfocitos con IgG^+ , 9 % con IgM^+ y 4 % con IgA^+ y un 67 % de las células plasmáticas con IgG^+ , 24 % con IgM^+ y un 8 % con IgA^+ , las cuales se encontraban en el epitelio del surco, lámina propia y epitelio oral. Con estas observaciones los autores sugieren que el progreso clínico de la gingivitis a la periodontitis está acompañado por un cambio en el infiltrado celular y en la relación de las inmunoglobulinas con los linfocitos y células plasmáticas.

Mackler, Waldrop y col en 1978 (16) determinaron la naturaleza de las subclases de IgG asociadas a las células con el objeto de definir el infiltrado celular inflamatorio y correlacionarlo con los diferentes estados de la enfermedad periodontal humana. Ellos utilizaron antisuero para inmunoglobulina humana conjugada con fluoresceína. Sus resultados en la gingivitis leve fueron similares al estudio anterior (15), pero en la gingivitis se

vera ellos mostraron un cambio en el infiltrado celular - con números aumentados de linfocitos marcados con IgG1 -- (22 %), IgG3 (17 %) con un número menor de IgG4 (7 %) e - IgG2 (1 %). Una incidencia similar se observó en rela--- ción a las células plasmáticas. En la periodontitis des- tructiva existía un 57 % de células plasmáticas distribuí das a través de la encía. La incidencia de células plas- máticas asociadas a las subclases de IgG era de 25 % para IgG1, 19 % de IgG4, 18 % de IgG3 y 1 % de IgG2. La dis-- tribución de estas subclases de inmunoglobulinas de aso-- ciación celular en la periodontitis no reflejan las con-- centraciones normales del suero. Estos encuentros presen tan evidencias más amplias de que el infiltrado celular - en el estado más destructivo de la enfermedad periodontal, periodontitis, está principalmente compuesto de células - (B) derivadas de la médula ósea.

Gross en 1979 (5) determinó las concentraciones de - inmunoglobulinas en tejido seco en pacientes sanos y con enfermedad periodontal moderada mediante el método de in- monudifusión radial.

El tejido gingival normal (Indice Gingival = I.G.) - mostró concentraciones medias de 0.18 g para IgA y 1.47 g de IgG por mg. de tejido seco. Por otro lado las con

centraciones medias para la encía moderadamente inflamada (I.G. = 1) fueron de 0.36 g/mg. para IgA y 2.45 g/mg. para la IgG. En el tejido gingival inflamado (I.G. = 2) los resultados mostraron 0.48 g/gm. para IgA y 2.30 g/gm. para IgG. Los resultados confirman un aumento estadísticamente significativo para IgG e IgA cuando son comparados sitios sanos y enfermos.

En la segunda parte de este trabajo Van Slow, Gross y col. (22) determinaron y compararon las concentraciones de IgG, IgA e IgM en el tejido de granulación removido de bolsas periodontales (de más de 8 mm.) en pacientes con periodontitis juvenil y periodontitis avanzada.

Utilizando también inmunodifusión radial y expresando sus resultados de inmunoglobulina g/gm. de tejido seco. Ellos encontraron un rango muy amplio de resultados que son como siguen: de 0.09 a 1.48 para IgA, de 1.44 a 14.10 para IgG y de 0.00 a 0.76 para IgM. La variabilidad de las concentraciones fue vista incluso de un sitio a otro en el mismo paciente. Los autores tratan de proporcionar otras evidencias de que la periodontitis juvenil (periodontosis) es una enfermedad inflamatoria con niveles aumentados de inmunoglobulinas en el tejido de granulación en concentraciones semejantes a lo observado en

la periodontitis avanzada.

Waldrop y col. en 1981 (23) cuantificaron y definieron la distribución relativa de linfocitos, células plasmáticas y la naturaleza de la inmunoglobulina asociada a la célula, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM e IgA mediante inmunofluorescencia directa. Sus resultados son consistentes con otros trabajos (5, 15, 16). Un hallazgo que llama considerablemente la atención fue la ausencia de cadenas pesadas en las inmunoglobulinas de células plasmáticas en los pacientes con periodontitis juvenil, este hallazgo es considerado por los autores como una anomalía más de la respuesta inmunológica en pacientes con periodontitis juvenil. En la discusión sobre la posible explicación del porqué de este defecto los autores proponen:

- 1).- Un posible defecto celular asociado a células plasmáticas.
- 2).- La posibilidad de un efecto de supresión sobre la célula plasmática, posiblemente a través de linfocinas.
- 3).- Una hidrólisis extracelular de la cadena pesada.

4).- Manifestación localizada propia de la enfermedad inflamatoria.

Holmberg en 1971 (6) determinó cuantitativamente la inmunoglobulina presente en el fluido crevicular por el método de inmunodifusión radial simple, así como el tipo de IgA mediante experimentos de doble difusión en gel mediante antisueros específicos. Los resultados mostraron un aumento en la cantidad de fluido gingival paralelo a la severidad de la inflamación. El contenido de los diferentes tipos de inmunoglobulina concuerdan con lo encontrado en el suero (8, 24, 10). Un hallazgo importante -- fué el no encontrar componentes secretores en ninguna de las muestras de fluido probadas en varias diluciones, lo cual indica que la IgA presente es de tipo sérico.

Lehner y col. en 1974 (10) cuantificaron las inmunoglobulinas séricas y la IgA salival con el objeto de comparar los resultados en periodontitis juvenil con los encuentros inmunológicos en la periodontitis adulta. El estudio fué llevado a cabo en 34 pacientes, de los cuales 23 tenían periodontitis juvenil. Se tomaron muestras de sangre y saliva. Sus resultados mostraron que las concentraciones de IgA e IgG en suero no mostraron diferencias significativas entre ellas, la IgM se encontraba más ele-

vada, lo que puede reflejar una respuesta a las bacterias gram-. Las inmunoglobulinas séricas mostraban un ligero aumento en el grupo de pacientes con periodontitis juvenil (P.J.). En el caso de la IgA salival se mostró un aumento en el grupo experimental (P.J.), pero los resultados no fueron estadísticamente significativos ($P > 0.05$).

La cuantificación de inmunoglobulina en suero de un grupo de pacientes con periodontosis* fué evaluada por Kaslick y col. en 1980 (8) ellos observaron que un porcentaje elevado de estos pacientes (59 %) mostraban elevación en suero de IgM e IgG, a su vez hacen hincapié en la presencia o ausencia de niveles aumentados de inmunoglobulina en el suero no puede ser utilizada como una condición diagnóstica. Esta observación se basa en sus resultados, ya que ellos encontraron que un 76.5 % de los pacientes con periodontosis presentaban niveles normales de IgG, 70.6 % no mostraron cambios significativos de IgA y 58.8 % presentaban niveles normales de IgM. Además, el 41 % de todos los pacientes no mostraron elevación de ninguna clase de anticuerpos.

* Se respeta el término Periodontosis que es utilizado por el autor y que actualmente corresponde al de Periodontitis juvenil.

Waldrop y col. en 1981 (24) reexaminaron las concentraciones en suero de las inmunoglobulinas en pacientes con periodontitis juvenil en relación a pacientes sanos. Los resultados se compararon con los niveles cuantitativos del tipo de inmunoglobulina asociada a las células en los tejidos periodontales, con el objeto de determinar si la ausencia de cadenas pesadas que ha sido reportada en las células plasmáticas locales de los pacientes con periodontitis juvenil se reflejaba en los niveles de inmunoglobulina en el suero. Los resultados mostraron que a pesar de reencontrarse un aumento significativo de IgG, IgM e IgA en suero no se reporta ningún cambio que pudiera reflejar la ausencia de cadenas pesadas de las células plasmáticas locales en los niveles encontrados en suero.

MATERIALES Y METODO

- 1).- Instrumental quirúrgico Hu-Fredy.
- 2).- Solución salina, amortiguadora de fosfatos pH 7.2

Cloruro de Sodio	1.68 g
Na_2HPO_4	0.53 g.
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.069 g.
Agua destilada	Aforada a 1 000 ml
- 3).- Antisueros para gamaglobulina IgG, IgM y Fracción C_3 del complemento (Becton-Dickinson).
- 4).- Solución de azul de Evans, 1:200 en solución salina amortiguadora de fosfatos.
- 5).- Solución de glicerina, 1:2 en solución salina amortiguadora de fosfatos.
- 6).- Cortes de tejido gingival cortados seriamente a 6 u 8 micras de espesor.

El estudio fué realizado en 5 pacientes con un rango de edades de 17-20 años con un promedio de 18.5 años, de los cuales tres eran del sexo femenino y dos masculino. Los pacientes fueron vistos en el Departamento de Periodoncia de la Facultad de Odontología, U.N.A.M. En base al examen clínico y radiográfico se diagnosticó Periodontitis Juvenil. Las muestras gingivales se seleccionaron de sitios que presentaban bolsa a más de 8 mm. de profundidad. La obtención de las mismas fue mediante una incisión de bisel interno subcrestal. En dos de los pacientes se llevó a cabo la extracción del diente afectado junto con el tejido gingival. En el momento de la toma de la muestra, se colocaron en un recipiente con nitrógeno líquido para su congelación inmediata y transporte para el procesamiento. Las muestras de tejido gingival fueron cortadas en un criostato en secciones seriadas de 6 a 8 micras de espesor. Estas aún congeladas se fijaron inmediatamente con acetona durante 10 minutos y fueron secadas con aire. Las preparaciones ya fijadas se colocaron en cajas de Petri poniéndoles papel filtro humedecido con agua para establecer un ambiente húmedo.

Los cortes se cubrieron con los antisueros para gama globulina humana IgG, IgM y fracción C₃ del complemento (Becton-Dickinson). Con agitación mecánica se incubaron

las preparaciones a 37°C durante 30 minutos; posteriormente estas fueron lavadas tres veces con solución salina -- amortiguadora de fosfatos pH 7.2. Cada lavado duró un mínimo de cinco minutos. Después del último lavado, se escurrieron las preparaciones y sin que estuvieran secas se cubrían con una solución de azul de Evans, 1:200 en solución salina amortiguadora de fosfatos. Se dejaron teñir a la temperatura ambiente por tres minutos y se secaron con aire. Exactamente sobre el corte se colocó una gota de solución de glicerina 1:2 en solución salina amortiguadora de fosfatos. Se colocó un portaobjetos y las preparaciones fueron observadas en un microscopio de luz ultravioleta.

VISTA GENERAL DE UN PACIENTE CON

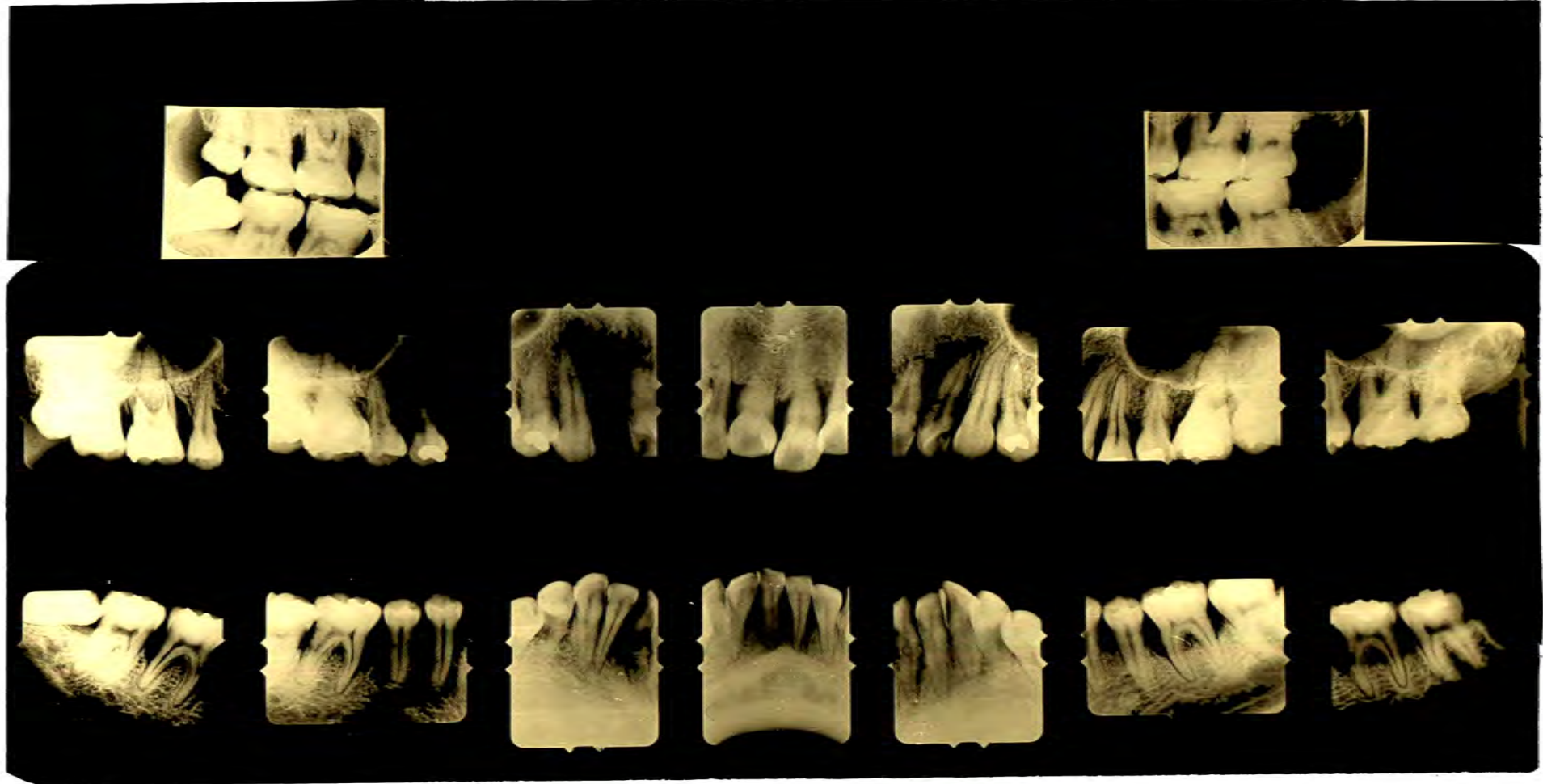
PERIODONTITIS JUVENIL

EXISTE POCA CANTIDAD DE DEPOSITOS SOBRE LOS DIENTES



VISTA RADIOGRAFICA DEL PACIENTE NO. II DEL SEXO FEMENINO.

OBSERVESE LA GRAN DESTRUCCION OSEA GENERALIZADA Y LAS LESIONES CARACTERISTICAS
EN FORMA DE ESPEJO EN LA ZONA MESIAL DE LOS PRIMEROS MOLARES INFERIORES

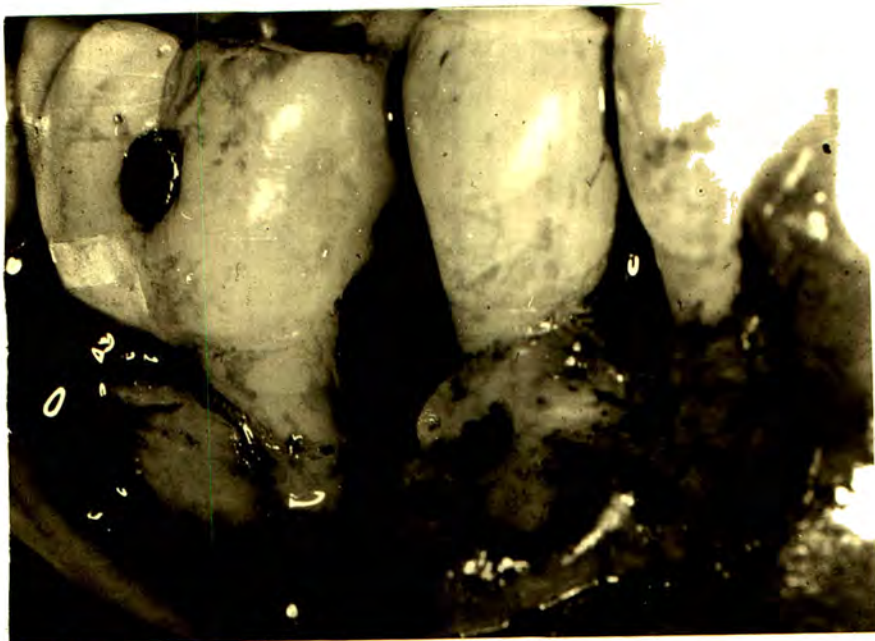


SONDEO EN LA REGION DEL
PRIMER MOLAR INFERIOR.
EL INSTRUMENTO PENETRA 8 mm.

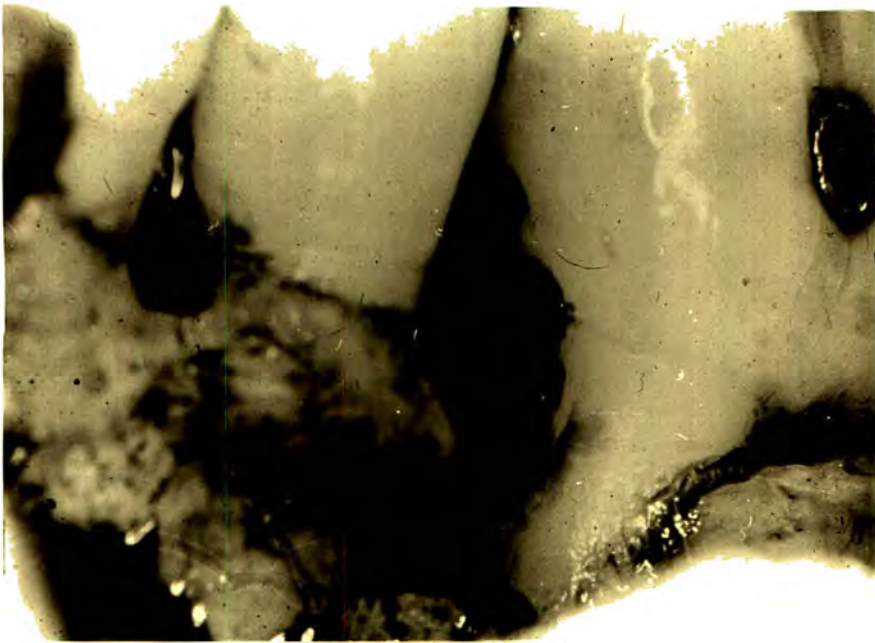


HEMISEPTUM EN LA CARA MESIAL

DEL PRIMER MOLAR INFERIOR



DEFECTO ANGULAR EN LA PARTE MESIAL
DEL PRIMER MOLAR INFERIOR IZQUIERDO.
LESION CARACTERISTICA DE ESTOS PACIENTES



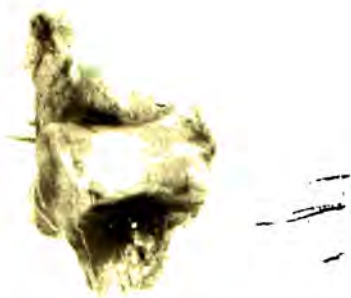
ACERCAMIENTO DE LA LESION EN LA QUE SE
OBSERVA LA PRESENCIA DE SARRO SUBGINGIVAL
EN RELACION AL DEFECTO OSEO



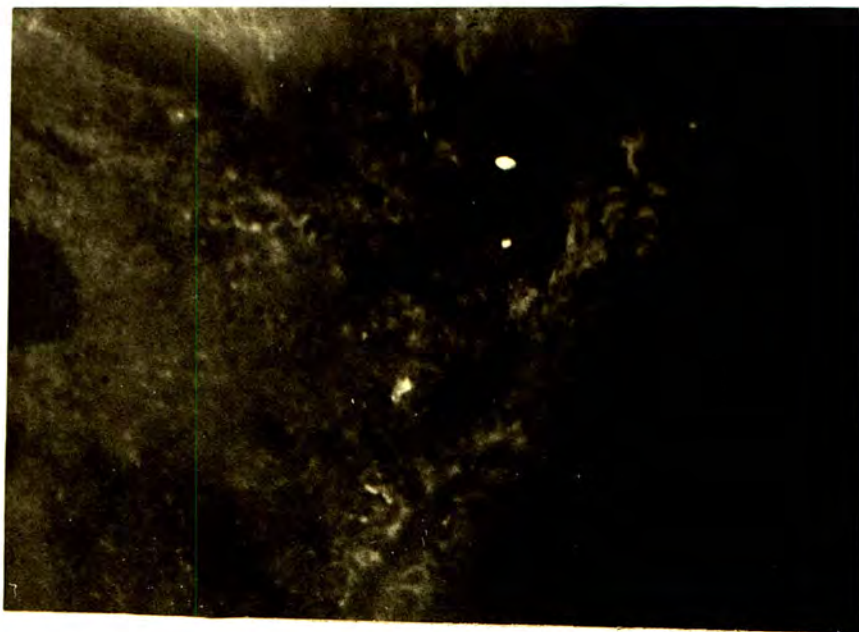
OBTENCION DE LA MUESTRA EN BLOQUE CON
HOJA DE BISTURI BARD-PARKER No. 15



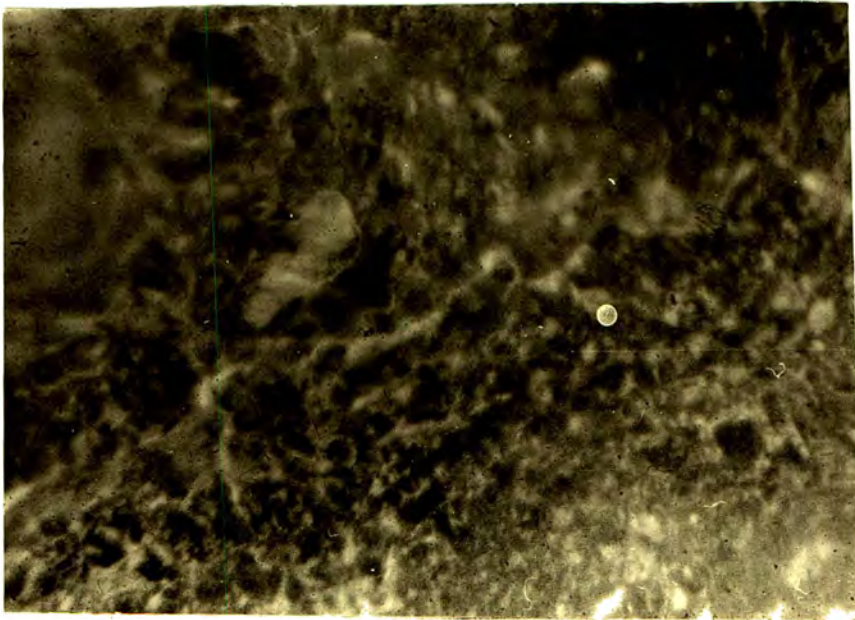
DIENTE EXTRAIDO JUNTO CON
EL TEJIDO GINGIVAL



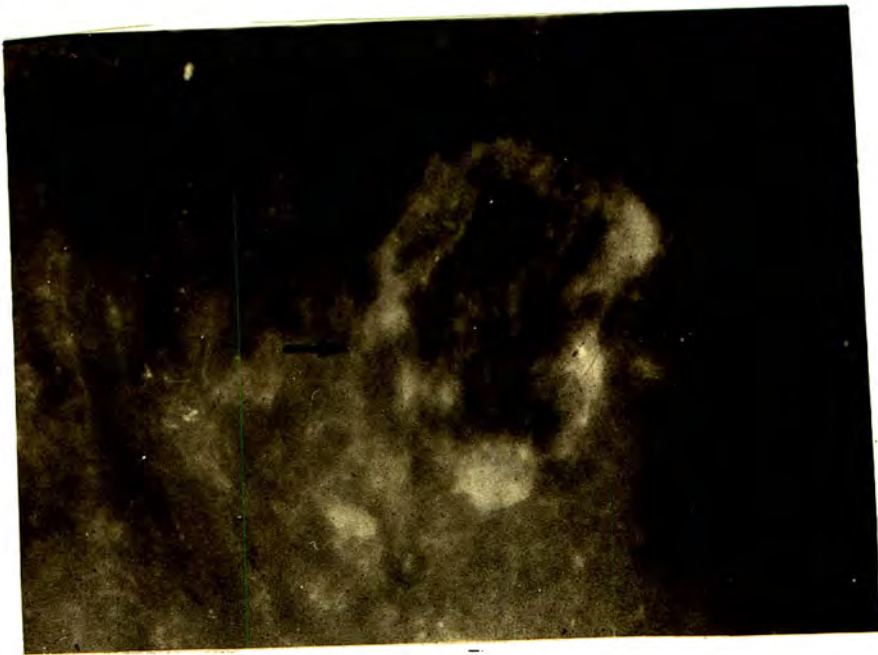
MUESTRA GINGIVAL CON DEPOSITOS DE IgG



MUESTRA GINGIVAL DE PACIENTE CON PERIODONTITIS JUVENIL,
DONDE PODEMOS OBSERVAR (FLECHAS) DEPOSITOS DE IgG, LA
INMUNOGLOBULINA ENCONTRADA CON MAYOR FRECUENCIA

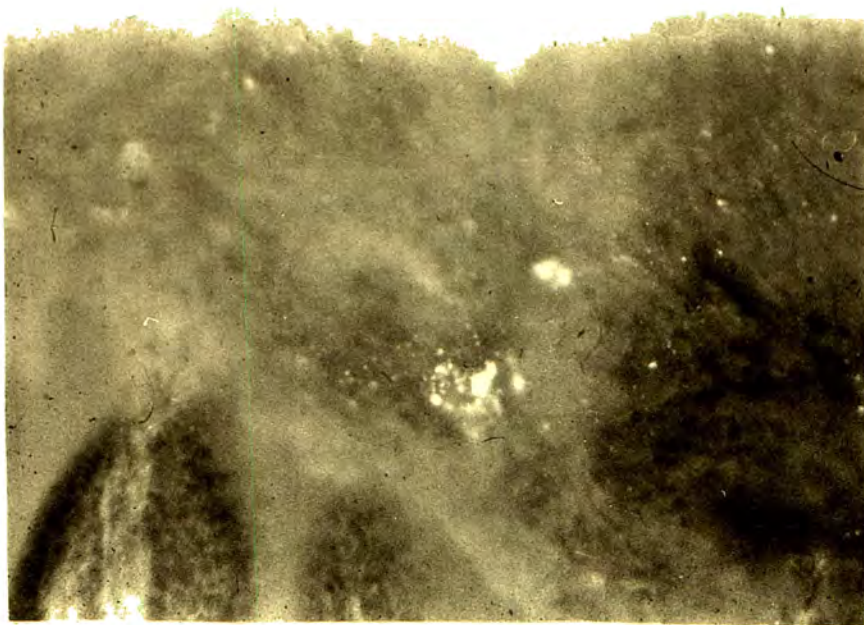


OBSERVENSE LOS MICRODEPOSITOS DE C₃
NITIDAMENTE DELIMITADOS

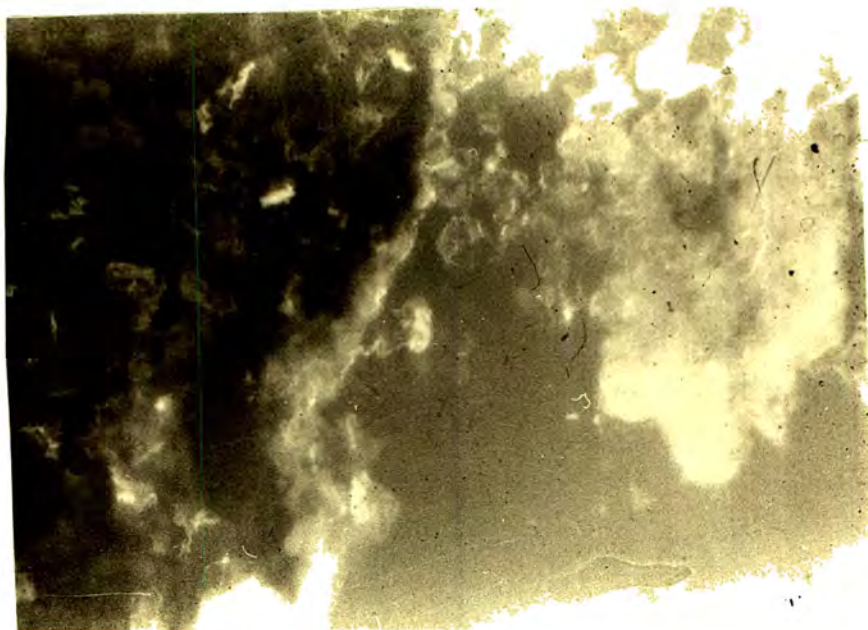


MUESTRA GINGIVAL DE PERIODONTITIS JUVENIL EN

LA QUE SE OBSERVAN MICRODEPOSITOS DE C₃



MICROFOTOGRAFIA DONDE SE APRECIA UNA MUESTRA DEL
FONDO DE LA BOLSA DE UN PACIENTE CON PERIODONTITIS
JUVENIL, SE APRECIAN DEPOSITOS DE IgG



ASPECTO GENERAL DE LA MUESTRA GINGIVAL CON
MICROSCOPIO DE LUZ ULTRAVIOLETA, EN DONDE
SE OBSERVA LA PRESENCIA DE IMMUNOGLOBULINAS



RESULTADOS

El examen de las muestras de tejido gingival estudiado mediante inmunofluorescencia directa con antisueros para gamaglobulina IgG, IgM y fracción C₃ del complemento humano demuestran que estos productos del sistema inmunológico están presentes en los sitios periodontales con inflamación crónica (Tabla 1).

La inmunoglobulina G fué consistentemente observada en todas las biopsias estudiadas, mientras que la IgM reveló una distribución difusa y se observó solamente en un 60 % de las muestras y el componente C₃ del complemento se encontró en un 40 % de las muestras y presentaban una forma delimitada.

En cuanto a la precipitación de anticuerpos en la membrana basal, la IgG fué vista en 3 de las 5 muestras observadas. La IgM sólo fue vista en una de las muestras y la fracción C₃ del complemento nunca fue observada en la zona de la membrana basal.

La distribución de la fluorescencia IgG⁺, se encontró en forma amplia con la amplitud del infiltrado inflamatorio visto en tinción convencional de hematoxilina y eosina.

TABLA I

PACIENTE	EDAD	SEXO	I g G	I g M	FRAGMENTO C ₃
I	19	F	++	-	+
II	17	F	++	++	-
III	20	M	++	+	+
IV	17	M	++	-	-
V	20	F	++	+	-

+ = Positivo débil
++ = Positivo fuerte
- = Negativo

DISCUSION

El presente trabajo tuvo como objeto analizar la frecuencia y distribución de Ia IgG, IgM y fracción C₃ del complemento humano en biopsias de pacientes con periodontitis juvenil.

La presencia en el tejido periodontal enfermo de elementos efectores de la respuesta inmunológica (R.I.) hace posible el sugerir su participación dentro de los mecanismos de daño mediados por este sistema.

Los anticuerpos G y M han sido bien definidos por su capacidad de activar el sistema del complemento (4). Las consecuencias de esta activación humoral resultarán en la amplificación de los procesos inflamatorios que tienen lugar en el sitio enfermo, así como en un aumento en la consecuente pérdida de tejido.

En concordancia con otros trabajos (5,20) nosotros encontramos que estos anticuerpos, así como el componente C₃ están comunmente presentes en el tejido gingival enfermo. Sin embargo, la técnica de inmunofluorescencia directa permite únicamente la visualización del elemento sin que sea posible dar resultados cuantitativos de la inmuno

globulina G característica de la respuesta secundaria. La concentración de inmunoglobulina en el área de destrucción de tejido parece correlacionar mejor la contribución de las inmunoglobulinas (protectora o dañina) a las lesiones observadas en la periodontitis juvenil.

El incremento reportado por la IgG tanto en suero -- (8,24) como en tejido (4,15) es congruente con una R.I. -- crónica de este tipo. El análisis de las células productoras de anticuerpos locales en la enfermedad periodontal demuestra que la mayoría de ellas aparecen como IgG⁺ cuando son vistos mediante inmunofluorescencia (20,21) y los reportes cuantitativos de la cantidad de anticuerpos presentes nos reportan también un incremento en la IgG.

El marcado aumento de anticuerpos que se encuentran en el tejido gingival parece ocurrir como respuesta a los componentes bacterianos que logran atravesar el epitelio de unión (4, 19).

Varios autores (4, 10, 14) han demostrado que existe localmente una síntesis importante de anticuerpos. El -- punto crítico del problema parece residir en la identificación de si éstas inmunoglobulinas poseen una especificidad para los determinantes antigénicos de los microorga--

nismos de la placa o si bien, son el resultado de una activación policlonal inducida por mitógenos bacterianos.

Actualmente no ha sido problema identificar consistentemente complejos antígeno-anticuerpo en el tejido --- afectado, sin embargo, sabemos de la existencia de anticuerpos circulantes que son capaces de neutralizar específicamente determinantes antigénicos de algunas cepas bacterianas involucradas en la enfermedad periodontal (3).

La discusión de si estos anticuerpos son resultado de una activación mono o policlonal parece ser un requisito para entender su verdadera participación. Sin embargo, su presencia y evidencia de síntesis local (14) hace posible sugerir que estos componentes inmunológicos pueden desempeñar un papel importante en la patogenia de la enfermedad periodontal.

Algunos autores (4, 20, 21) han reportado la presencia de fragmentos C_3 en membrana basal sugiriendo que ocurre una activación local de este sistema por la vía clásica, lo cual sugeriría que la formación de complejos antígeno-anticuerpo fijadas a la membrana basal y uniéndose complemento. Las muestras de tejido que nosotros observamos no presentaron este hallazgo, por el contrario, los depó

sitos de C_3 se encontraron con poca frecuencia y localizados en la lámina propia, nunca en la membrana basal.

CONCLUSIONES

La presencia de inmunoglobulina y fracción C_3 del -- complemento en los tejidos gingivales de pacientes con periodontitis juvenil confirma el importante papel que de--sempeña la respuesta inmunológica en la patogénesis de esta enfermedad.

La inmunoglobulina G que se observó en todas las --- muestras estudiadas es congruente con una respuesta inmu--nológica crónica, lo cual es un encuentro común en este - tipo de pacientes.

La IgM sólo fue observada en un 60% de las muestras gingivales.

Los microdepósitos de C_3 sólo se observaron en un -- 40 % de los casos y siempre en forma bien delimitada, pe--ro nunca fueron encontrados en la membrana basal.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Asaro, J.P., Nisegard, R., Beutner, E.H. and Neiders, M.: Experimental Periodontal Disease Hypersensitivity. J. Periodontol 54:23, 1983.
- 2.- Byers, C.W., Toto, P.D. and Gargiulo, A.W.: Levels - of Immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the Human Inflamed Gingiva. J. Periodontol 46:387, 1975.
- 3.- Chi-Cheng, T., Mc.Arthur, P., Baehni, P.C., Envian, C., Genco, R.J. and Taichman, N.S.: Serum Neutralizing activity Against Actinobacillus Actinomycetemcomitans Leukotoxin in Juvenile Periodontitis. J. Clinical Periodontal 8:338, 1981.
- 4.- Genco, R.J., and Mergenhagen, S.E.: Host-Parasite -- Interactions in Periodontal Disease. American Society for Microbiology. Washington, D.C., 1982.
- 5.- Gross, A., Setterstrom, J.A., D'Alessandro, A.D., -- and Van Slow, R.L.: Immunoglobulins in Periodontal - Tissues. I. Concentrations of Immunoglobulins in -- Normal and Inflamed Gingiva. J. Periodontol 50:581, 1979.

- 6.- Holmberg, K. and Killander, J.: Quantitative Determination of Immunoglobulins (IgG, IgA and IgM) and Identification of IgA-Type in the Gingival Fluid. J. Periodont Res 6:1, 1971.
- 7.- Horton, J.E., Oppenheim, J.J. and Mergenhagen, S.E.: A Role for Cell-Mediated in the Pathogenesis of Periodontal Disease. J. Periodontol 45:352, 1974.
- 8.- Kaslick, R.S., West, T.L., Singh, S.M. and Chasens, A.I.: Serum Immunoglobulins in Periodontosis Patients. J. Periodontol 51:343, 1980.
- 9.- Lavine, W.S., Maderazo, E.G., Stolman, J., Ward, P.A., Cogen, R.B., Greenblatt, I., and Robertson, P.B.: Impaired Neutrophil Chemotaxis in Patients with Juvenile and Rapidly Progressing Periodontitis. J. Periodontal Res. 14:10, 1979.
- 10.- Lehner, T., Wilton, J.M.A., Ivanyi, L. and Manson, J.D.: Immunological Aspects of Juvenile Periodontitis (Periodontosis). J. Periodont Res 9:261, 1974.
- 11.- Liljenberg, B. and Lindhe, J.: Juvenile Periodontitis. Some Microbiological, Histopathological and --

- Clinical Characteristics. J. Clinical Periodontol -
7:48, 1980.
- 12.- Lindhe, J., Liljenberg, B. and Listgarten. M.: Some Microbiological and Histopathological Features of -- Periodontal Disease in Man. J. Periodontol 51:264, 1980.
- 13.- L oe, A., Theilade, E. and Jensen, B.: Experimental - Gingivitis en Man. J. Periodontol 36:177, 1965.
- 14.- Lovelace III, B.M., Thompson, J.J. and Yukna, R.A.: Evidence for Local Immunoglobulin Synthesis in Periodontitis. J. Periodontol 53:626, 1982.
- 15.- Mackler, B.F., Frostad, K.B., Robertson, P.B. and -- Levy, B.M.: Immunoglobulin Bearing Lymphocytes and - Plasma Cells in Human Periodontal Disease. J. Periodont Res 12:37, 1977.
- 16.- Mackler, B.F., Waldrop, T.C., Schur, P., Robertson, P.B. and Levy, B.M.: IgG Subclasses in Human Periodontal Disease. I. Distribution and Incidence of -- IgG Subclass Bearing Lymphocytes and Plasma Cells. J. Periodont Res 13:109, 1978.

- 17.- Ranney, R.R.: Immunofluorescent Localization of Soluble Dental Plaque Components in Human Gingiva Affected by Periodontitis. J. Periodont Res 13:99, 1978.
- 18.- Saxen, L.: Juvenile Periodontitis. Clinical Periodontol 7:1, 1980.
- 19.- Slots, J.: The Predominant Cultivable Organism in Juvenile Periodontitis Scand. J. Dent. Res 84:1, 1976.
- 20.- Susuki, J.B., Gargiulo, A. and Toto, P.D.: Immunoglobulins and Complement in Gingiva from Human Periodontal Disease. Loyola University of Chicago School of Dentistry, 2160 South First Avenue Maywood, Illinois 60153.
- 21.- Toto, P.D., Lin, L.M. and Gargiullo, A.W.: Immunoglobulins and Complement in Human Periodontitis. J. Periodontol 49:631, 1978.
- 22.- Van Swol, R.L., Gross, A., Settestrom, J.A. and Alessandro, S.M.: Immunoglobulins in Periodontal Tissues. II. Concentrations of Immunoglobulins in

Granulation Tissue from Pockets of Periodontosis and Periodontal Patients. J. Periodontol 51:20, 1980.

- 23.- Waldrop, T.C., Mackler, B.F., Schur, P. and Killoy, W.: Immunologic Study of Human Periodontosis (Juvenile Periodontitis). J. Periodontol 52:8, 1981.
- 24.- Waldrop, T.C., Mackler, B.F., and Schur, P.: IgG and IgG Subclasses in Human Periodontosis (Juvenile Periodontitis). Serum Concentrations. J. Periodontol 52:96, 1981.