

## Expresión de la proteína de choque calórico hsp90 en pacientes con enfermedad periodontal

### *Protein expression of caloric shock hsp90 in patients with periodontal disease*

María Guadalupe Salinas Enríquez  
Silverio Frausto Esparza  
Luis Alejandro Aguilera Galaviz

Docentes investigadores de la Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

Cuerpo Académico Salud Bucal Infantil

Este proyecto fue financiado por el Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica. Clave Zac-2004-C01-0052. Área de Ciencias de la Salud (UAZ), responsable administrativa 2007-2008

#### RESUMEN

Existen diversos factores que predisponen al desarrollo de la Enfermedad Periodontal (EP) como los hereditarios, tabaquismo, placa dentobacteriana, cambios hormonales, nivel de estrés y otros inherentes a la resistencia del huésped. Investigaciones epidemiológicas y de laboratorio sugieren que la enfermedad periodontal constituye un posible factor riesgo para desarrollar padecimientos en el sistema cardiovascular, alterar el curso de la diabetes, generar osteoporosis en las mujeres y provocar nacimientos prematuros. Se han identificado asociaciones entre la virulencia microbiana de dichos agentes y la expresión de genes de estrés (Hsp). La presente investigación aborda la expresión de la Hsp90 y su relación con EP y algunos padecimientos sistémicos. Mediante la identificación de ARNm en el tejido periodontal de pacientes se determinó la concentración de ADN, RNA y proteínas. Se realizó electroforesis de ARN total y se realizó RT-PCR; los productos de ampli-

ficación se observaron en geles de agarosa al 1%. Las imágenes de las bandas ADNc se sometieron a análisis densitométrico semicuantitativo. Los pacientes que presentan EP asociada a algún compromiso sistémico expresaron significativamente Hsp90. Existe un incremento en el nivel de expresión de Hsp90 en pacientes con EP inicial, un pico máximo en EP establecida y un descenso en EP avanzada. La presencia de EP asociada a enfermedades sistémicas tiene un efecto sinérgico en la expresión de las Hsp90 relacionado con la activación de la respuesta inmune y el inicio del proceso inflamatorio crónico, pudiendo alterar en algunos casos el estado general de salud de los pacientes con compromiso sistémico.

**Palabras clave:** enfermedad periodontal, proteínas de choque calórico, enfermedades sistémicas.

#### ABSTRACT

There are several factors that predispose towards the development of Periodontal Disease (PD) as heredity, smoking, plaque, hormonal change, stress level and other inherent resistance of the person. Epidemiological and laboratory research suggest that periodontal disease constitute a potential risk for cardiovascular conditions in the system, altering the course of diabetes, leading to osteoporosis in women and causing premature birth of babies during pregnancy. Associations of microbial virulence of such agents and expression of gene stress have been identified (Hsp). This research addresses the expression of Hsp90 and its relation to PD and some systemic sufferings. Through identifying ARNm periodontal tissue in patients with indicated extraction, it was determined the concentration of DNA, RNA and proteins. An electrophoresis of ARN total was performed and RT-PCR, the

amplification products were observed in agarose gels in 1%. The images of the bands DNA were yield to a semi-quantitative densitometer analysis. Patients presenting PD associated a systemic commitment expressed significantly Hsp90. There is an increase in the level of expression of Hsp90 in patients with initial PD. A high peak in PD established and a decrease in advanced PD. The presence of PD associated to systemic diseases have a synergistic effect on the expression of Hsp90 related to the activation of the immune response and the onset of chronic inflammatory process, in some cases may alter the overall health of patients with systemic involvement .

**Key words:** Periodontal Disease, Caloric Shock of Protein, Systemic Diseases.

#### INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Periodontal (EP) es una de las enfermedades bucales que más afectan a la población mundial, sólo superada por la caries, y una de las principales causas de pérdida de dientes en todos los estratos sociales en la población adulta. La EP se representa como un conjunto de entidades patológicas que afectan los tejidos de soporte del diente (encía, hueso alveolar y ligamento periodontal) cuya naturaleza es inflamatoria e infecciosa. Entre los principales agentes causales de la EP se encuentra *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia* y *Campylobacter rectus* (Mealey, Perry & Klokoy, 2007). Algunos factores que predisponen al desarrollo de la EP son los factores hereditarios, tabaquismo, mala higiene bucal, cambios hormonales, nivel de estrés y otros factores inherentes a la resistencia del huésped. Reportes epidemiológicos e investigaciones de laboratorio sugieren que la enfermedad periodontal

constituye un posible factor de riesgo para desarrollar padecimientos del sistema cardiovascular (ateroesclerosis, endocarditis infecciosa, infarto del miocardio), puede alterar el curso de la diabetes, y en el caso de las mujeres, puede dar lugar a osteoporosis y al nacimiento de bebés prematuros cuando se padece la enfermedad durante la gestación. Se ha demostrado que la exposición crónica a patógenos periodontales incrementa el riesgo de aterosclerosis o trombosis y riesgo de tener un accidente vascular cerebral (Castro Lara, Ibero & Bascones-Martínez, 2001; Pussinen, Alfthan, Rissanen, Reunanen, Asikainen & Knekt, 2004).

La presión del medio ambiente y el estrés celular induce la expresión de moléculas que protegen al genoma y a los eventos fisiológicos de la célula mediante moléculas de origen proteico denominadas Proteínas de Choque Calórico (Hsp), las cuales se agrupan de acuerdo a su estructura en cuatro familias, de acuerdo a la secuencia de aminoácidos, peso molecular y su grado de homología (Hsp90, Hsp70, Hsp60 y HSPs). Estas proteínas están asociadas a la virulencia microbiana y a la expresión de genes de estrés de Hsp (Lopatin, Shelburne, Van Poperin, Kowalski & Bagramian, 1999; Zhang, Pelech & Uitto, 2004). La inflamación crónica en la enfermedad periodontal es un problema de salud de gran significancia, y *Porphyromonas gingivalis* representa uno de los principales agentes causales de la periodontitis; esta asociación entre el microorganismo y las características fisiopatológicas de la enfermedad también se vincula con la presencia de algunos padecimientos cardiovasculares, principalmente la aterosclerosis, y con la activación de la respuesta inmunológica; algunos componentes bacterianos, como Hsp60 de *Porphyromonas*, son un determinante antigénico de relevancia en el proceso infeccioso (Ford, Gemmell, Walker, West, Cullinan & Seymour, 2005).

Otro componente importante en la respuesta inmune contra *P. gingivalis* son las chaperonas GroEL, pues se considera que la presencia de anticuerpos contra esta proteína, al igual que los producidos contra Hsp90, se relaciona con un efecto protector en EP (Shelburne, Shelburne, Dhople, Sweier, Giannobile, Kinney, Coulter, Mullally & Lopatin, 2008). La presencia de anticuerpos contra Hsp60 humana en enfermedad periodontal y anticuerpos de reacción cruzada anti GroEL de *P. gingivalis* se relacionan con el proceso inflamatorio crónico, ya que existe un estímulo de células T para sintetizar citocinas de respuesta Th2/3 (IL-10, TGF) (Yamazaki, Ueki-Maruyama, Honda, Nakajima & Seymour GJ, 2004). La presencia de un epitopo de reacción cruzada de Hsp induce una expresión inmunoregulada que inhibe la respuesta autoinmune en el proceso inflamatorio crónico de la enfermedad (Park, Lee, Kim & Choi, 2010).

La importancia de establecer los mecanismos de daño mediados por la respuesta inmune en enfermedad periodontal se concentra en el papel de las Hsp de peridontopatógenos y en su reacción cruzada con las presentes en humanos; para el caso de la Hsp60/65 existen anticuerpos que reaccionan contra las Hsp derivadas de tejido mucoso de humano, y solamente los linfocitos CD4 responden al estímulo producido por la Hsp60 microbiana y Hsp65 de humano (Hassan, Sadoh, Palmer, Foo, Marber & Lehner, 2005).

La inflamación crónica en EP es uno de los componentes más sobresalientes, y no se conocen en su totalidad los mecanismos que intervienen en ella. La activación de los polimorfonucleares (PMN) es un evento relevante en el que pudiera estar involucrada la ceruloplasmina (CP), una proteína de 132 kDa con múltiples dominios de cobre abundante en el suero que se produce durante la inflamación, siendo el hígado la fuente

te principal (Goldstein, Kaplan, Edelson & Weissmann, 1982). El papel de la CP en la inflamación no se conoce en su totalidad, sin embargo puede estar involucrada al limitar el estrés oxidativo por su capacidad para capturar los radicales aniónicos superóxido (Conforti, Franco, Milanino & Velo, 1982; Dutra, Ciriolo, Calabrese & Bechara, 2005; Broadley & Hoover, 1989). Una sugerencia es que al incrementarse los niveles basales de iones superoxidoin en periodontitis aguda, los PMN son activados por la CP como consecuencia de la producción de daño tisular en el tejido inflamado del periodonto (Iwata, Kantarci, Yagi, Jackson, Hasturk, Kurihara & Van Dyke, 2009).

Es importante considerar que la forma más severa de enfermedad periodontal se presenta en el 10-15% de la población adulta (Papanos, 1996) y el 35% presenta signos moderados o importantes de la enfermedad (Hugoson, Norderyd & Slotte, 1998). Muchos estudios epidemiológicos en los últimos 15 años reportan una asociación entre la enfermedad periodontal y enfermedades cardiovasculares (Mattila, Nieminen & Valtonen, 1989; Buhlin, Gustafsson & Hakansson, 2002); en el caso de la aterosclerosis, comienza en la vida temprana y su evolución es lenta, pero los signos y síntomas clínicos se presentan a la edad de 40 o más (National Board of Health, 2000).

El objetivo de este trabajo es detectar los niveles de expresión de la proteína de choque calórico 90 (Hsp90) en pacientes con enfermedad periodontal asociada a algunos padecimientos crónicos no transmisibles.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, transversal y cuantitativo sobre la expresión de la Hsp90 así como la presencia de enfermedad periodontal y de algunos padecimientos sistémicos en pacientes de las comuni-

dades de Tacoaleche y El Bordo, Guadalupe, Zacatecas. Como criterio de inclusión se consideraron a todos aquellos pacientes mayores de 18 años que voluntariamente accedieron a participar, con enfermedad periodontal en cualquiera de sus estadios, con o sin compromiso sistémico. El registro de enfermedad periodontal se realizó conforme a los códigos y criterios del Índice Periodontal de Russell (1974), con sonda periodontal graduada, previa calibración de los examinadores.

### *Extracción de ARN total*

Se utilizaron 50 miligramos de tejido periodontal de los pacientes, con la extracción indicada, y se procesaron con 1 ml de Trizol™ (Invitrogen Life Technologies). Posteriormente se realizaron las extracciones de ARN con 200 ml de cloroformo (Sigma) frío, centrifugado a 13,000 x g por 15 minutos, se recuperó la fase acuosa y después se adicionaron 500 ml de alcohol isopropílico (Sigma) frío, dejándose reposar por 20 minutos a 4 °C, para posteriormente centrifugar a 13,000 x g por 10 minutos. Se decantó el sobrenadante y se lavó el precipitado de ARN con 1 ml de etanol al 75% en agua-DEPC; el precipitado se resuspendió en 50 ml de agua tratada con DEPC. Se cuantificó por espectrofotometría a 260 nm y se almacenó a -20 °C.

### *Concentración de ARN total y ADN*

Se determinó la concentración de ADN, ARN y proteínas; se leyó la absorbancia a 260 nm en la región ultravioleta.

### *Electroforesis de ARN total en geles de agarosa y formaldehído*

Se prepararon geles de agarosa al 1.5 % en buffer MOPS 10 X con 2.7 ml de formaldehído al 37 % y 5 ml de bromuro de etidio 10 mg/ml; se colocaron 2 µg de muestra, equivalentes a 5 ml de ARN total en 15 ml de buffer

de muestra para ARN. Para el corrimiento se utilizó buffer MOPS 1 X, 100 volts por 30 minutos. Las observaciones se realizaron en transiluminador (Davis, et al., 1986).

#### *Transcripción Inversa - Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR)*

Con el ARN obtenido se realizó RT-PCR de acuerdo con lo descrito en SuperScript™ One-Step RT-PCR with PlatinumR Taq (Invitrogen) con oligonucleótidos específicos para el ARNm de Hsp90. F: 5'-ACGTGGACTGTTTCCTCTCTC-3' Y R: 5'-TTGCTCACTTGCTTGCTTGTG-3'. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 30 ciclos de desnaturalización (1 min a 95°C), temperatura de annealing (1 min a 58°C), y extensión final (1 min a 72°C), generándose un producto de 341 pb (Ebrahimi, Mohammadi, Daryadel & Baharvand, 2010).

Los productos de amplificación se observaron en geles de agarosa al 1% en buffer TAE 1 X, y se le adicionó 5 ml de bromuro de etidio 10 mg/ml. Para la electroforesis se utilizaron 10 ml de ADNc en 1-2 ml de buffer de muestra para ácidos nucleicos, con buffer TAE 1 X a 100 volts por 30 minutos (Davis, et al., 1986). Para la identificación de los productos de amplificación se utilizaron 2 ml de marcadores (0.7 mg/ml) de peso molecular para ADN 1 Kb plus de 100 pb a 12 Kb (Invitrogen Life Technologies), transiluminación y fotodocumentador modelo Chemi-Doc marca Bio-Rad.

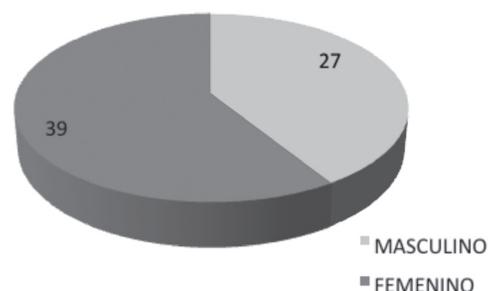
#### *Densitometría*

Las imágenes de las bandas ADNc fueron capturadas con un fotodocumentador ChemiDoc marca Bio-Rad. Después se sometieron a un análisis densitométrico semi-cuantitativo con el software Quantity One de marca Bio-Rad, con el fin de calcular el tamaño en base a estándares de peso, así como también cuantificar la cantidad de ARN.

## RESULTADOS

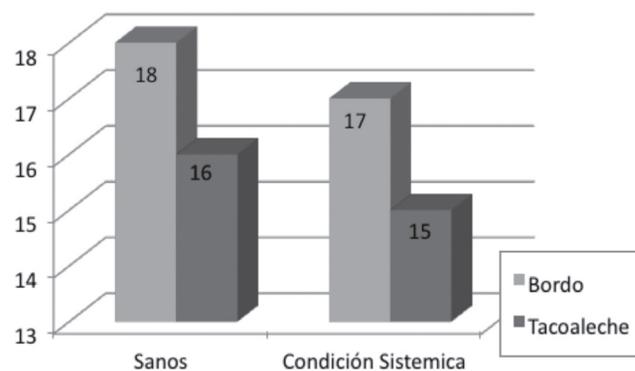
Se estudiaron a 66 pacientes, 35 de ellos procedentes de la comunidad de El Bordo, y 31 de Tacoaleche, Zacatecas. De todos ellos, 39 pacientes fueron mujeres y 27 varones, que corresponden a 59% y 41% respectivamente, como se puede observar en la gráfica 1.

*Gráfica 1. Clasificación de los pacientes por sexo*



De acuerdo con nuestro estudio una condición importante a evaluar fue la condición de salud bucodental del paciente, así como también el estado de salud general. En El Bordo, 18 pacientes no presentaron un compromiso sistémico, y 16 presentan al menos una enfermedad de origen sistémico; en Tacoaleche, son 15 los pacientes que presentaron un compromiso sistémico (gráfica 2).

*Gráfica 2. Clasificación de acuerdo al estado general de salud.*



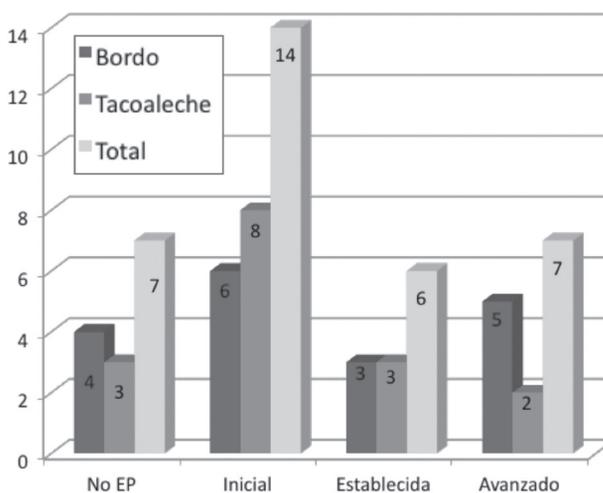
En la tabla 1 se observa la distribución por género de pacientes que presentan, además de alguna enfermedad sistémica, enfermedad periodontal. Como podemos apreciar, la prevalencia general en el grupo de estudio es de 89.3%, y para el caso de aquellos que presentan una condición sistémica es de 100%, en comparación con los sanos que tienen una prevalencia de 79.4%.

En cuanto al grado de afección y la distribución de la enfermedad periodontal en el grupo de pacientes sistémicamente sanos, se puede observar que la mayoría padece la enfermedad periodontal en estadios iniciales, y sólo 13 en etapas establecida y avanzada, mientras que 7 pacientes no tienen ningún referente de enfermedad periodontal (gráfica 3).

En el caso de los pacientes que presentan enfermedad periodontal, las proteínas de choque térmico tienen una expresión mayor en aquellos pacientes con EP inicial que en los que la presentan establecida o avanzada (gráfica 4).

La contribución de la salud bucodental a la salud general es de suma importancia, y evaluar las expresiones bucodentales es tarea del odontólogo. La gráfica 5 muestra que 32 de los 66 pacientes estudiados presentan EP establecida o avanzada y algún padecimiento sistémico.

Gráfica 3. Distintos grados de afección de enfermedad periodontal en pacientes que no presentan padecimiento sistémico.



Gráfica 4. Expresión de proteínas de choque calórico (Hsp90) y enfermedad periodontal en sujetos que no presentan padecimiento sistémico.

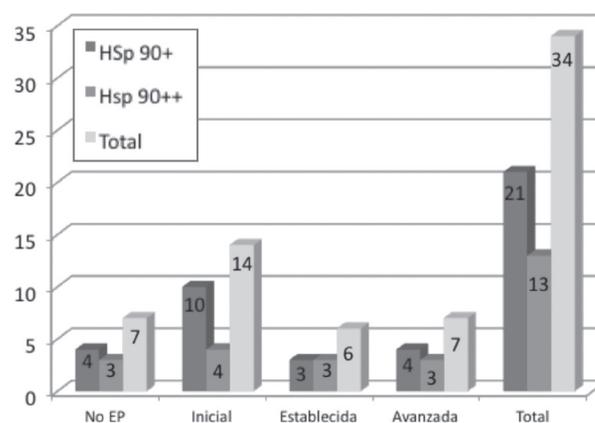


Tabla 1. Estado de salud de la población de estudio

	Pacientes sistémicamente sanos	Enfermedad periodontal en pacientes sin enfermedad sistémica	Pacientes con enfermedad sistémica	Enfermedad periodontal en pacientes con enfermedad sistémica
Mujeres	20	16	19	19
Hombres	14	11	13	13
Total	34	27	32	32

En la tabla 2 se observa que los pacientes que presentan enfermedad periodontal y enfermedades sistémicas tienen niveles de expresión de Hsp90 importantes, ya que 10 pacientes expresan altos niveles, 17 una expresión media, y 5 expresión baja. Cabe señalar que los controles negativos no expresan en forma importante esta proteína.

Los niveles de expresión de Hsp90 en la población general de estudio y su relación con el nivel de expresión de EP describen un incremento de Hsp90 en los estados iniciales de la enfermedad periodontal, un pico máximo cuando se establece la enfermedad, y posteriormente desciende en el proceso avanzado de la enfermedad, como puede observarse en la gráfica 6.

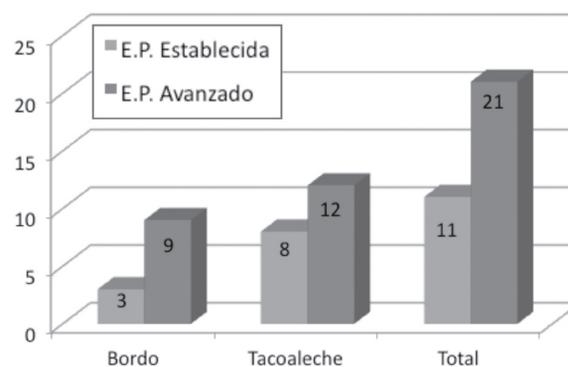
Tabla 2. Expresión de Hsp90 en pacientes que presentan alguna enfermedad sistémica y enfermedad periodontal.

EXPRESIÓN DE HSP90	ENFERMEDAD PERIODONTAL (MÁS) PADECIMIENTO SISTÉMICO
Hsp90 +	5
Hsp90 ++	17
Hsp90 +++	10
Total	32

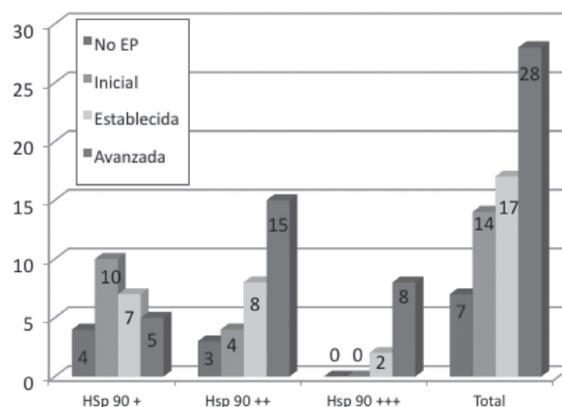
## DISCUSIÓN

La prevalencia de enfermedad periodontal se ha incrementado en los últimos años debido a los malos hábitos de higiene y a los cambios en el estilo de vida. Es por eso que el cuidado de la salud bucodental, la presencia de enfermedades crónicas no transmisibles y su expresión en los tejidos de la boca es un tema de relevancia en biomedicina.

Gráfica 5. Distribución de pacientes con padecimiento sistémico en las comunidades del El Bordo y Tacoaleche con distintos grados de afección de enfermedad periodontal (EP).



Gráfica 6. Niveles de expresión de Hsp90 en enfermedad periodontal en la población total.



Se estima que en países desarrollados 60% de los adultos de 65 años y más presentan enfermedad periodontal con bolsas periodontales de 4mm o de mayor profundidad (Krustup & Petersen, 2006). La presencia de EP en adultos se relaciona con otras enfermedades como la diabetes, enfermedades respiratorias y con la implantación de pató-

genos oportunistas en la placa, permitiendo la colonización de la biopelícula; de igual forma, la EP se asocia a la presencia de aterosclerosis, osteoporosis en el caso de los pacientes que no tienen terapia de reemplazamiento hormonal, artritis reumatoide y afecciones óseas, pérdida de hueso alveolar y posiblemente con complicaciones en los pacientes que sufren de Alzheimer (Tobias & Scannapieco, 2007).

En el presente estudio encontramos que los pacientes que presentan alguna enfermedad crónica no trasmisible presentan EP; esto no significa que sea una afección secundaria al padecimiento sistémico, pero es evidente que la presencia de EP contribuye a la condición general de salud o enfermedad del paciente. Dentro de las enfermedades registradas se incluyen enfermedades cardiovasculares, autoinmunes y diabetes, entre otras, lo cual coincide con lo reportado en la literatura, al referir que un gran número de estas enfermedades están relacionadas con la presencia de EP y que en muchos de los casos la presencia de EP es un factor que tiene influencia en los episodios agudos del padecimiento sistémico. La presencia de Síndrome de Sjögren y artritis reumatoide y su correlación con EP se pone de manifiesto cuando se presenta pérdida de la inserción debido al daño microvascular en el tejido periodontal, por disminución en el calibre de la microcirculación y alteraciones en la dirección e interconexión vascular asociada al proceso inflamatorio (Scardina, Ruggieri & Messina, 2010).

Una de las observaciones importantes de este estudio es que en la mayoría de los pacientes que tienen EP pero que no padecen alguna enfermedad de involucro sistémico los estadios de EP son iniciales, y solamente una proporción menor presenta EP establecida o avanzada. Es necesario señalar que existen diversos criterios para identificar la presencia de EP, y para este estudio se defi-

nieron desde el punto de vista fisiopatológico, analizando la presencia de inflamación gingival, pérdida de adhesión de las fibras de colágena del cemento, análisis de los sitios en donde el epitelio de unión migró en forma apical, pérdida de adhesión del tejido conectivo y de hueso alveolar (Armitage, 1995). Algunos otros criterios son en función de la observación de signos y síntomas clínicos como inflamación gingival, sangrado, profundidad de la bolsa, pérdida de inserción y radiográficos para observar la pérdida de hueso. Sin embargo, no existe un parámetro cuantificable o criterio uniforme para su clasificación, y en el examen no siempre se toman las mismas áreas en la boca como unidad de análisis (Savage, Eaton, Moles & Needleman, 2009).

Como se puede observar en la tabla 1, todos los pacientes con algún compromiso sistémico presentaron además enfermedad periodontal; esto no significa necesariamente que la enfermedad periodontal este directamente implicada con la presencia de las otras enfermedades sistémicas, pero sí puede tener un efecto sobre la salud general. En la misma tabla podemos observar que existen 27 pacientes con enfermedad periodontal y sin compromiso sistémico. Si esto lo relacionamos con la edad (la mayoría de los pacientes tienen más de 20 años), la EP se suma a los factores de riesgo que disminuyen la calidad de vida.

La gravedad de la EP se manifiesta en el grupo de estudio, ya que una proporción considerable presenta el estado avanzado y establecido, y en consecuencia el estímulo de la placa dentobacteriana subgingival continúa; esto representa un estímulo antigénico, y el proceso inflamatorio favorece la activación de la respuesta inmune específica local. Al respecto, Rajapakse y Dolby (2004) sugieren que los niveles de anticuerpos contra colágena tipo I son significativamente más altos en comparación con los pacientes

que no presentan enfermedad periodontal y que la producción de anticuerpos puede ser mediante el estímulo local, ya que las clonas estimuladas producen anticuerpos contra antígenos derivados de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y colágena tipo I como producto de una activación policlonal. Sin embargo, el nivel de anticuerpos contra colágena tipo I no disminuye significativamente una vez que se elimina el tejido y el estímulo producido por la placa dental. Una observación importante es que además de la permanencia del estímulo producido por la placa dental, el desarrollo de periodontitis sólo ocurre en áreas en donde la gingivitis permanece por largos periodos de tiempo (Lang, Schätzle & Loe, 2009). La respuesta inflamatoria crónica induce la activación de otros mecanismos de defensa que tienen que ver con el estrés celular, en este caso particular la presencia de los microorganismos de la placa y sus productos metabólicos favorecen el proceso inflamatorio crónico y, como consecuencia, se induce la expresión de las proteínas de choque calórico.

En el presente estudio se evaluó la expresión de Hsp90 por RT-PCR y pudimos observar que una vez que se establece o avanza la enfermedad se incrementa la expresión de estas proteínas, en comparación con aquellos pacientes que no presentan la EP o alguna enfermedad sistémica. La expresión de las Hsp en los tejidos del huésped es de suma importancia por su participación en la inducción de apoptosis, pero también se conoce que algunas Hsp producidas por bacterias que inducen procesos infecciosos crónicos incrementan la respuesta de anticuerpos y estimulan en forma específica linfocitos Tgd; estas proteínas en el caso de los periodontopatógenos presentan epítopos altamente conservados, ya que existe un alto nivel de reacción cruzada entre Hsp de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivales*, *B. forsythus* y las de humano (Kosugi, Ishi-

hara, Okuda, 2003). De la misma forma se ha comprobado que Hsp60, derivada de los microorganismos antes mencionados, activa a una gran cantidad de células que incluye a macrófagos, queratinocitos y células epiteliales del ligamento periodontal, por lo que puede estar relacionada en forma directa como factor de virulencia en la interacción célula-célula, ya que de acuerdo con la gran homología que presentan estas proteínas con las expresadas en humanos, puede ocurrir que se reconozcan como moléculas propias, como consecuencia del mimetismo molecular y la reacción cruzada, sobre todo a nivel de células endoteliales, con la subsecuente activación de la respuesta inflamatoria.

Finalmente, es notoria la relación que existe entre la expresión de Hsp90 y la presencia de enfermedades sistémicas y periodontitis, ya que todos aquellos pacientes con enfermedad periodontal y que además presentaron algún compromiso sistémico expresaron en una forma significativa Hsp90. Tal efecto ha sido estudiado ampliamente en otras proteínas de choque térmico, por ejemplo, en relación a la presencia de anticuerpos contra Hsp60; esta proteína es un activador de TNF $\alpha$  producido por macrófagos y puede participar en forma activa en el proceso inflamatorio inicial en periodontitis. Sin embargo, una vez iniciado el tratamiento y eliminado el estímulo inflamatorio, la concentración de anticuerpos disminuye (Ucki, Tabeta, Yoshie & Yamazaki, 2002; Yamazaki, Ueki-Maruyama, Honda, Nakajima & Seymour, 2002).

De acuerdo con los resultados, la patogénesis de la periodontitis y la infección por periodontopatógenos puede jugar un papel importante en la condición sistémica, ya que el incremento en la expresión de las Hsp90 y la liberación de Hsp provenientes de los microorganismos pudieran participar en la activación de la respuesta inmune e iniciar el proceso inflamatorio. Además, la

activación de la respuesta de anticuerpos y las reacciones cruzadas, producidas por el mimetismo molecular, pueden exacerbar el proceso infeccioso y la condición sistémica. Existe evidencia de la participación de la enfermedad periodontal en el desarrollo de aterogénesis e incremento del riesgo al desarrollo de enfermedad coronaria, en donde el posible mecanismo de la relación enfermedad periodontal-ateroesclerosis puede ser la respuesta inmune contra Hsp, así como los anticuerpos producidos contra ellas bajo el efecto sinérgico de la respuesta inflamatoria crónica, que daña las células endoteliales y promueve la aparición de aterosclerosis.

En resumen, el presente estudio demuestra que la presencia de enfermedad periodontal asociada a enfermedades sistémicas tiene un efecto sinérgico en la expresión de las Hsp90 y que pudiera estar relacionado con el proceso inflamatorio crónico y, en algunos casos, participar en el estado general de salud de los pacientes con compromiso sistémico.



Proteína Hsp90

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Broadley, C. & Hoover, R. L. (1989). Ceruloplasmin reduces the adhesion and scavenges superoxide during the interaction of activated polymorphonuclear leukocytes with endothelial cells. *Am Journal Pathology*, 135, pp.647-655.
- Buhlin, K., Gustafsson, A. & Hakansson, J. (2002). Oral health and cardiovascular disease in Sweden. Results from a national questionnaire survey. 29, pp. 254-259.
- Castro Lara, J., Ibero, S. & Bascones-Martínez, A. (2001). ¿Es la enfermedad periodontal un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares? Modelo biológico. *Avances en periodoncia*, 3 (2), pp. 65-75.
- Conforti, A., Franco, L., Milanino, R. & Velo, V.G. (1982). Copper and ceruloplasmin (Cp) concentrations during the acute inflammatory process in the rat. *Agents Actions*, 12, pp. 303-307.
- Dutra, F., Ciriolo, M. R., Calabrese, L. & Bechara E. J. (2010). Aminoacetone induces oxidative modification to human plasma ceruloplasmin. *Chem Res Toxicol*, 18, pp. 755-760.
- Ebrahimi, M., Mohammadi, P., Daryadel, A. & Baharvand, H. (2010). Assesment of heat shock protein (Hsp60, Hsp72, Hsp90 and Hsp70) expression in cultured limbal stem cells following air lifting. *Mol Vis*, 18 (16), pp. 1680-1688.
- Ford, P., Gemmell, E., Walker, P., West, M., Cullinan, M. & Seymour G. (2005). Characterization of heat shock protein-specific T cells. *Clin Diagn Lab Immunol*, 12 (2), pp. 259-267.
- Goldstein, I.M., Kaplan, H.B., Edelson, H.S., Weissmann, G. (1982). Ceruloplasmin: An acute phase reactant that scavenges oxygen-derived free radicals. *Ann NY Acad Sci*, 389, pp. 368-379.

- Hassan, A., Sadoh, D., Palmer, R., Foo, M., Marber, M. & Lehner, T. (2005). The immune responses to human and microbial heat shock proteins in periodontal disease with or without coronary heart disease. *Clin Exp Immunol*, 142 (3), pp. 585-594.
- Hugoson, A., Norderyd, O. & Slotte, C. (1998). Distribution of periodontal disease in Swedish adult population 1973, 1983, 1993. *J Clin Periodontol*, 25, pp. 542-548.
- Iwata, T., Kantarci, A., Yagi, M., Jackson, T., Has-turk, H., Kurihara, H., Van Dyke T. E. (2009). Ce-ruloplasmin induces polymorphonuclear leukocyte priming in localized aggressive periodontitis. *J Peri-odontol*, 80 (8), pp. 1300-1306.
- Kosugi, M., Ishihara, K. & Okuda K. (2003). Implica-tion of response to bacterial Heat shock proteins, chronic microbial infection, and dental metal allergy in patients with pustulosis palmaris et plantaris. *Bull Tokyo dent Coll.*, 44 (3), pp. 149-158.
- Krustup, U., Petersen, E., (2006). Periodontal condi-tions in 35-44 and 65-74 year old adults in Den-mark. *Acta Odontol Scand*, 64 (2), pp. 65-73.
- Lang, N.P., Schätzle M.A. & Löe, H. (2009). Gingivi-tis as a risk factor in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 36 (10), pp. 3-8.
- Lopatin, D.E, Shelburne, C.E., Van Poperin, N., Kow-alski C.J., Bagramian, R.A. (1999) Humoral immu-nity to stress proteins and periodontal disease. *J Periodontol*, 70, pp. 1185-1193.
- Mattila, K.J., Nieminen, M.S., Valtonen, V.V. (1989). Association between dental health and acute myo-cardial infarction. *Br Med J.*, 298, pp. 779-781.
- Mealey, L., Perry, R. & Klokoy, K. (2007) *Medicina periodontal*. En: Newman, Takei, Carranza (2007). *Periodontología Clínica*, 9ª ed. McGraw-Hill Inter-american, pp. 140.
- National Board of Health and Welfare Eds. (2000). *Statistics-health and medical care, yearbook of health and medical care 2000*. Norstedts Stock-holm: Engholm G.
- Papanos, P. (1996). Periodontal disease: Epidemiol-ogy. *Ann Periodontol.*, 1, pp. 1-36.
- Park, C.S., Lee J.Y., Kim S.J. & Choi J.I. (2010) Iden-tification of immunological parameters associated with the alveolar bone level in periodontal patients. *J Periodontal Implant Sci.*, 40, pp. 61-68.
- Pussinen, P.J., Alftan, G., Rissanen, H., Reunanen, A., Asikainen, S. & Knekt, P. (2004). Antibodies to periodontal pathogens and stroke risk. *Stroke*, 35, pp. 2020-2023.
- Rajakpase, P.S. & Dolby A.E. (2004). Evidence for lo-cal production of antibodies to auto and non-self antigens in periodontal disease. *Oral Disease*, 10, pp. 99-105.
- Savage, A., Eaton, K.A., Moles, D.R. & Needleman I. (2009). A systematic review of definition of peri-odontal and methods that have used to identify this disease. *J Clin Periodontol.*, 36, pp. 458-467.
- Scardina, G.A., Ruggieri, A. & Messina P. (2010). Peri-odontal disease an Sjögren Syndrome: a possible correlation? *Angiology*, 6 (3), pp. 289-293.
- Shelburne, C.E., Shelburne, S., Dhople, V.M., Sweier, D.G., Giannobile W.V., Kinney, J.S., Coulter, W.A., Mullally, B.H. & Lopatin D.E. (2008) Serum an-tibodies to Porphyromonas gingivalis chaperone HtpG predict health in peridontitis susceptible pa-tient. *Plos One.*, 3 (4), pp. 1-10.
- Tobias, K. & Scannapieco, F. (2007). The epidemiol-ogy, consequences and management of periodontal disease in older adults. *The Journal of The Ameri-can Dental Association*, 138, pp. 26-33.
- Ueki, K., Tabeta, K., Yoshie, H. & Yamazaki, K. (2002). Self Heat shock protein 60 induces tumor necrosis factor a in monocyte derived macrophage: possible role in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immunol.*, 127, pp. 72-77.
- Yamazaki, K., Ueki-Maruyama, K., Honda, T., Naka-jima, T., Seymour G.J. (2002). Effect of periodon-tal treatment on the serum antibody levels to heat shock proteins. *Clin Exp Immunol*, 135, pp. 478-482.
- Zhang, L., Pelech, S., Uitto, V. (2004) Long- term effect of heat shock protein 60 from Actinobacillus Actinomycetemcomitans on epithelial cell viability and mitogen activated protein kinases. *Infect and Immun.* 72 (1), pp. 38-45.