



Relación entre la expresión del receptor a IFN- γ y la angiogénesis en muestras de tejido gingival de pacientes con periodontitis crónica y agresiva

Segundo lugar en el concurso de Investigación, Asociación Mexicana de Periodontología 2013. Morelia, Mich. México

María de la Cruz Herrera Mora,* Vianeth Martínez Rodríguez,** Ana Lourdes Zamora Pérez,*** Pedro Ernesto Sánchez Hernández,+ Ramón Franco Topete,++ Celia Guerrero Velázquez+++

RESUMEN

Introducción: La periodontitis crónica y agresiva se caracteriza por pérdida de inserción gingival y destrucción ósea alveolar. Sin embargo, la pérdida de inserción es más rápida en los pacientes con periodontitis agresiva. La respuesta inmunoinflamatoria y la angiogénesis en la periodontitis se inicia por una gran variedad de moléculas, que incluyen el IFN- γ , IL-12 e IL-18, así como sus receptores. El IFN- γ , al unirse a su receptor (IFN- γ R) sobre monocitos-macrófagos estimula la liberación de IL-12 e IL-18, que se sinergizan y actúan sobre las células T y NK. Se ha descrito que los niveles de IL-12 e IL-18 varían entre los pacientes con periodontitis agresiva y crónica. Sin embargo, el IFN- γ R no se ha estudiado en esta patología. **Material y métodos:** La expresión del IFN- γ R se detectó por inmunohistoquímica en muestras de tejido gingival de pacientes con periodontitis agresiva, periodontitis crónica y controles sanos. **Resultados:** No se encontraron diferencias significativas de la expresión del IFN- γ R1 (Mann-Whitney U) entre los grupos, pero se observó una expresión elevada del IFN- γ R2 en las células endoteliales de todos ellos. Así mismo, se advirtió un aumento en la vascularidad y el diámetro de los vasos en los pacientes con periodontitis agresiva y crónica en comparación con los controles sanos. **Conclusiones:** Se puso de manifiesto un aumento en la vascularidad en los pacientes con periodontitis agresiva y crónica, así como una fuerte expresión del IFN- γ R2 en células endoteliales de todos los grupos estudiados.

Palabras clave: IFN- γ R1, IFN- γ R2, IFN- γ IL-12, IL-18, angiogénesis, periodontitis.

ABSTRACT

Introduction: Chronic and aggressive periodontitis are characterized by gingival insertion loss and alveolar bone destruction. However, insertion loss is faster in aggressive periodontitis than in the chronic variety. The immune-inflammatory response and the angiogenesis in periodontitis is initiated by the release of a wide variety of molecules, including IL-12, IL-18, IFN- γ and their receptors on T and NK cells. It has been reported that levels of IL-12 and IL-18 in patients with aggressive periodontitis are different to those in individuals with the chronic one. Nevertheless, these cytokine receptors have not been studied regarding this pathology. **Material and methods:** IFN- γ R expression was detected by immunohistochemistry in gingival tissue samples of people with chronic periodontitis, aggressive periodontitis and healthy subjects. **Results:** We found no significant differences in the IFN- γ R1 expression (Mann-Whitney U) of the three groups, but we did observe an increased IFN- γ R2 expression in the endothelial cells of all groups. We could also notice a significant increase in the vascularity and vessel diameter of the patients with aggressive and chronic periodontitis when compared to healthy subjects. **Conclusions:** We detected an increased vascularity in patients with aggressive and chronic periodontitis, as well as an increase in the expression of IFN- γ R2 in all the study groups.

Key words: IFN- γ R1, IFN- γ R2, IFN- γ IL-12, IL-18, angiogenesis, periodontitis.

* Residente de la Especialidad en Periodoncia.

** Periodoncista. Coordinadora de la Especialidad en Periodoncia.

*** Doctorada en Genética Humana del Programa Nacional de Postgrado de Calidad de la Universidad de Guadalajara. Profesora Investigadora del Instituto de Investigación en Odontología.

+ Doctorado en Ciencias Biomédicas. Profesor Investigador del Laboratorio de Inmunología.

++ Doctorado en Inmunología. Especialista en Patología. Servicio de Patología, Hospital Civil de Guadalajara «Juan I. Menchaca», Guadalajara, Jal. Departamento de Microbiología y Patología.

+++ Doctorada en Inmunología del Programa Nacional de Postgrado de Calidad de la Universidad de Guadalajara. Profesora Investigadora del Instituto de Investigación en Odontología. Laboratorio de Inmunología.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es una de las dos principales que afectan a la población en el mundo.^{1,2} Esta patología implica desórdenes inflamatorios que incluyen a la gingivitis y estados irreversibles como la periodontitis, donde patógenos específicos, como *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), están asociados con la forma progresiva de la enfermedad.³

La periodontitis crónica (PC) y agresiva (PA) se encuentran en el grupo de las enfermedades periodontales, y cada una presenta características que la distinguen. En la PA el paciente puede tener una historia clínica sin particularidades, existe agregación familiar de casos, hay rápida pérdida ósea y de inserción, la cantidad de depósitos microbianos es incompatible con la cantidad de destrucción, y se encuentra una proporción elevada de Aa y Pg. En cambio la PC puede estar asociada a factores sistémicos, es de avance lento –aunque puede exacerbarse en cualquier estadio–, y el cálculo subgingival está invariablemente presente en los sitios enfermos donde la magnitud de destrucción de los tejidos guarda relación con la higiene y los niveles de la placa, donde a su vez la biopelícula subgingival alberga una gran variedad de especies bacterianas que puede cambiar entre individuos y sitios.^{4,5}

Sin embargo, en ambos tipos de periodontitis se ha observado aumento de la angiogénesis y una fuerte respuesta inflamatoria a nivel inmunológico, ya que se ha demostrado una gran discrepancia en los niveles de citocinas proinflamatorias (como el IFN- γ , IL-12 e IL-18) y sus receptores específicos entre los pacientes con PC y PA, en comparación con controles sanos (CS).^{6,7}

IFN- γ (PROTEÍNA)

El IFN- γ es un homodímero formado por dos cadenas polipeptídicas idénticas de 17 KDa. Estas cadenas se asocian de una forma antiparalela y producen una molécula que exhibe un eje doble de simetría de 50 kDa. Esto sugiere que un solo homodímero de IFN- γ puede unirse a dos moléculas del receptor (subunidades α).^{8,9} El IFN- γ es sintetizado exclusivamente por linfocitos T y células *natural killer* (NK). Entre las principales funciones pleiotrópicas que realiza se encuentran efectos para promover mecanismos

específicos y no específicos contra agentes infecciosos y tumores. Además el IFN- γ es el responsable de la sobrerregulación de las moléculas clase I y II del complejo principal de histocompatibilidad (CPH) y es el máximo activador de fagocitos mononucleares. También regula la respuesta inmune humoral induciendo el cambio del isotipo (*switch*) de las cadenas pesadas de IgG en células B.

RECEPTOR A IFN- γ

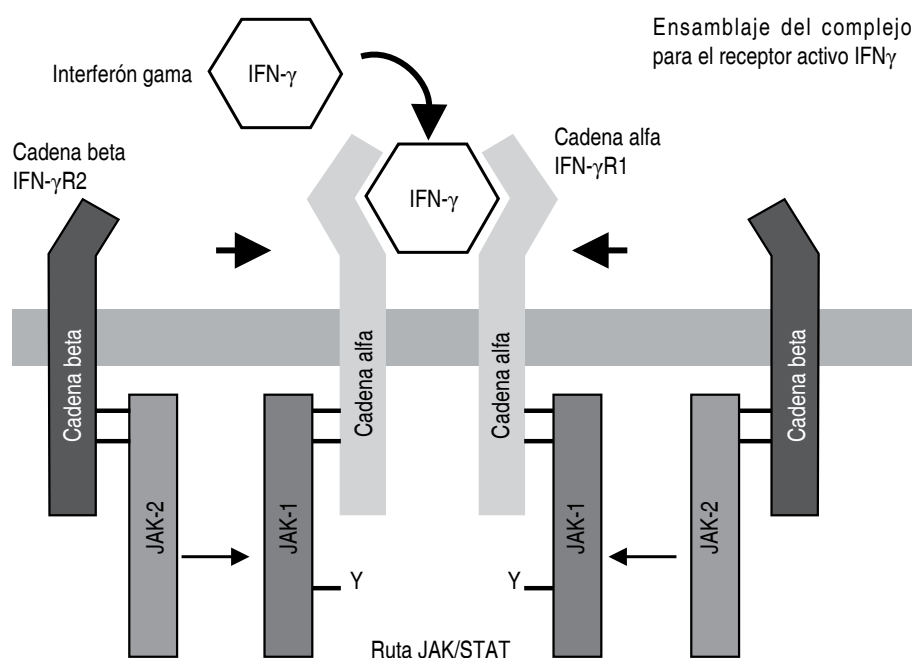
Aguet y colaboradores definieron la composición de los receptores a IFN- γ . El receptor funcionalmente activo está formado por dos tipos de cadenas: alfa (IFN- γ R1), de 90 KDa, que sirven para la unión del ligando; y beta (IFN- γ R2), de 62-67 KDa, que son las responsables del señalamiento (*Figura 1*).^{8,10} Este receptor se expresa en casi todas las células (250-25,000 sitios/célula); además, es un receptor de alta afinidad ($k_a=109\text{-}1010\text{ M}^{-1}$) y es especie-específico.⁹

El IFN- γ R1 (CDw119) se encuentra constitutivamente en altos niveles de células de ratones y humanos, y su expresión no está regulada por estímulos externos.¹¹ Está codificado por un gen de 30 Kb localizado en el brazo largo del cromosoma 6. El gen está formado por siete exones. El exón 1-5 codifica para el dominio extracelular, el exón 6 codifica para una pequeña porción de la región proximal a la membrana del dominio extracelular y el dominio transmembranal.¹⁰

Por su parte, el gen para IFN- γ R2 está localizado en el cromosoma 21q22.1.¹² La forma madura de la proteína está constituida por 226 aminoácidos para el dominio extracelular, 24 aminoácidos para el dominio transmembranal y 66 aminoácidos para el dominio intracelular.⁸

Poco se ha conocido acerca del tráfico intracelular del IFN- γ R2. Sin embargo, el mismo IFN- γ parece regular la expresión de IFN- γ R2 sobre ciertos tipos celulares y determinar la capacidad de estas células para responder a una subsecuente exposición al IFN- γ . Recientemente se ha demostrado que el tratamiento de células T con ésteres de forbol o anticuerpos CD3 afecta la inducción de la expresión del RNAm del IFN- γ R2. Juntos, estos resultados demuestran que la expresión del IFN- γ R2 puede ser regulada negativamente o positivamente de una manera estímulo-específica.¹²

En una célula no estimulada las dos subunidades del receptor no están altamente preasociadas

**Figura 1.**

Estructura del receptor a IFN- γ . La cadena alfa (IFN- γ R1) es una glicoproteína de 90kDa y es la responsable de la unión de manera específica con el IFN- γ . La cadena beta (IFN- γ R2) es una glicoproteína de 62kDa que se requiere para la señalización a través de la ruta JAK/STAT. Una vez que el IFN- γ se une a las cadenas IFN- γ R1, se induce el ensamblaje del complejo para el receptor activo y la fosforilación de las JAK/STAT-1. Las STAT-1 fosforiladas se translocan al núcleo para iniciar la transcripción de varios genes, entre ellos los de la IL-12 e IL-18. (Modificado de: Bach et al, 1997.)⁸

unas con otras. La asociación se induce después del estímulo, lo que inicia el proceso de transducción.¹³ La unión del ligando resulta en la fosforilación de las JAK-1 y JAK-2 y la subsecuente fosforilación de STAT-1. La fosforilación de las STAT provoca la dimerización y translocación directamente al núcleo e induce la transcripción de los genes específicos.¹²⁻¹⁴

Varios tipos de células expresan el receptor a IFN- γ , pero éste es de particular importancia en los monocitos/macrófagos, ya que lo requieren para el control de infecciones bacterianas.^{15,16} El IFN- γ , a través de su receptor específico sobre monocitos/macrófagos, promueve la transcripción de numerosos genes, incluyendo los que codifican para IL-12 e IL-18. A su vez, las IL-12 e IL-18 liberadas por monocitos/macrófagos en respuesta al estímulo antigénico actúan sinérgicamente para inducir la producción de IFN- γ por parte de células T y NK.¹⁷ Se ha descrito que el IFN- γ , la IL-12 e IL-18, así como sus receptores específicos, juegan un papel importante en la defensa contra enfermedades crónico-inflamatorias como la lepra, la tuberculosis y, por supuesto, la periodontitis (Figura 2).^{15,16,18-21}

Varios autores han reportado que los pacientes con PA y PC presentan una desregulación en los niveles de IL-12 e IL-18 en muestras de tejido gingival y suero, en comparación con controles sanos.¹⁹⁻²¹ A su vez, se ha descrito que la IL-12 está altamente

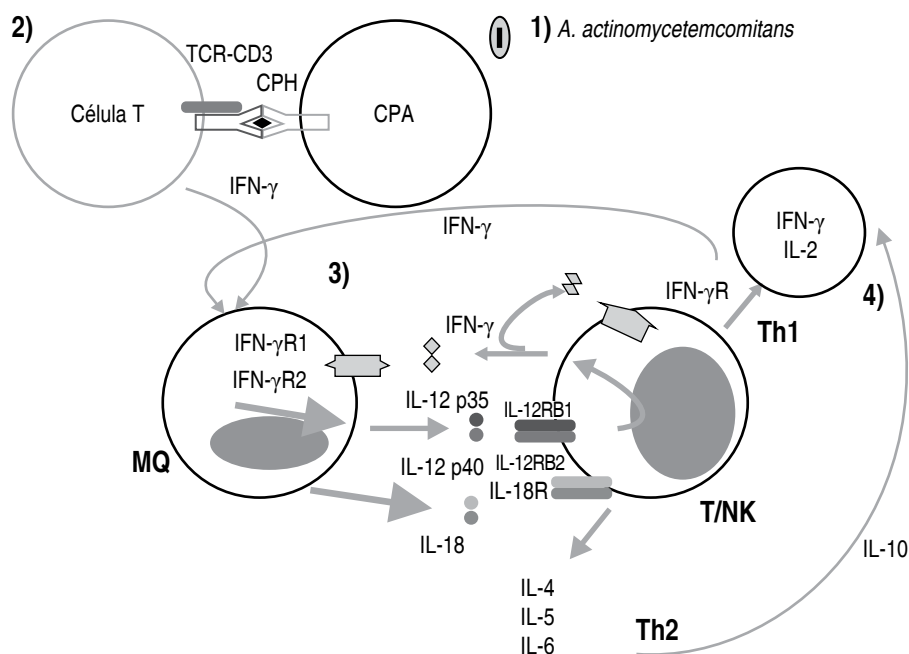
relacionada con el proceso de angiogenesis.²² Debido a que la liberación de estas interleucinas depende de la unión del IFN- γ a su receptor, nos planteamos como objetivo de estudio evaluar la expresión del IFN- γ y la angiogenesis en muestras de tejido gingival de pacientes con PC y PA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio. En el estudio se incluyó a 22 pacientes que acudieron a la Clínica de Periodoncia del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guadalajara. Los que aceptaron participar en el estudio firmaron el consentimiento informado basado en la Norma General de Salud de México (NOM-008-SSA2-1993), aprobado por los Comités de Ética de la Universidad de Guadalajara y de acuerdo en general con la Declaración de Helsinki.

Dentro de los criterios de inclusión se tomó en cuenta que los pacientes fueran sistémicamente sanos y que no estuvieran bajo tratamiento médico (inmunosupresores, antiinflamatorios, antibióticos, etcétera) ni lo hubieran estado en los seis meses previos al estudio. Se excluyeron pacientes embarazadas, fumadores o con algún otro hábito pernicioso que pudiera afectar la expresión de la periodontitis.

Examinación clínica. Ésta fue realizada por un solo investigador calibrado en seis sitios sobre los

**Figura 2.**

Papel del IFN- γ , IL-12 e IL-18 y sus receptores en la enfermedad periodontal. 1) La célula presentadora de antígeno profesional (CPA) fagocita al antígeno (*A. actinomycetemcomitans*) y lo expresa en el contexto del complejo principal de histocompatibilidad (CPH). 2) La célula T reconoce al antígeno a través del TCR-CD. 3) Se activa y produce IFN- γ . Este IFN- γ es captado por el macrófago (MQ) a través de su receptor específico, activándose y liberando IL-12 e IL-18. 4) La IL-12 e IL-18 se sinergizan, activan a las células T y natural killer (NK) vía receptor específico e inducen la expansión clonal de Th1 o Th2. (Modificado de: Altare et al, 1998.)¹⁵

dientes existentes, con sonda periodontal (*American Eagle*). Las condiciones periodontales se establecieron basándose en los siguientes parámetros: índice de placa (IP), sangrado al sondeo (SS), profundidad al sondeo (PS) y pérdida de inserción clínica (PIC).²³

Grupo de estudio. Se obtuvieron las historias clínicas, periodontogramas y estudios radiográficos de todos los participantes y se diagnosticaron de acuerdo a la clasificación de 1999 de la Academia Americana de Periodontología.²⁴

Grupo de controles sanos (CS). Se formó un grupo con seis pacientes (tres mujeres y tres hombres), con un promedio de edad de 30.0 años, que acudieron a la Clínica de Periodoncia para realizarse la extracción de un órgano dentario por indicaciones del Departamento de Ortodoncia o Prostodoncia, y en quienes el sitio no presentó evidencia clínica de PIC o pérdida ósea. El tejido gingival clínicamente sano se estableció con una PS ≤ 3 mm.

Grupo de periodontitis crónica. Se incluyó a 10 pacientes (seis mujeres y cuatro hombres), con un promedio de edad de 35.5 años, que presentaron PS ≥ 6 mm y PIC ≥ 5 mm en varios sitios de la cavidad oral.

Grupo de periodontitis agresiva. En este grupo se incluyó a seis pacientes (cuatro mujeres y dos hombres), con un promedio de edad de 30.0 años, que presentaron un patrón de daño severo con PIC ≥ 5 mm en ocho dientes o más, donde por lo menos

tres de ellos fueran dientes permanentes distintos a los primeros molares o incisivos.

Recolección de las muestras del tejido gingival. El tejido fue recolectado durante la fase quirúrgica periodontal. En los CS esto se realizó antes de las extracciones de los dientes, por indicaciones del Departamento de Ortodoncia o Prostodoncia. Las muestras de los tejidos se colocaron en un *buffer* con paraformaldehído y se enviaron con un histotecnólogo para ser incluidas en bloques de parafina.

Inmunohistoquímica. Para los cortes de tejido se utilizaron portaobjetos silanizados, que para este efecto se colocaron en silano al 2% (p/v, en agua bidestilada) durante 2 min; posteriormente se lavaron dos veces en agua destilada por 5 min; se dejaron en el horno de secado a 60 °C de 12 a 24 horas, y finalmente se guardaron a temperatura ambiente.

Las secciones de tejido de 5 mm fueron montadas sobre los portaobjetos silanizados y secadas al aire. Las laminillas fueron desparafinadas por 30 min a 56 °C, y posteriormente sumergidas dos veces en xilol por 5 min. Se rehidrataron por 5 min en cada uno de los siguientes: alcohol al 100% (dos veces), 96, 70 y 30%, y con agua destilada. Para el desenmascaramiento antigénico, las laminillas se colocaron en *buffer* de citrato 10mM pH 6.0 (2.1 g de ácido cítrico aforado a un litro con agua desti-

lada, pH 6.0 con NaOH) durante 30 min en una vaporera. Se lavaron con PBS (*buffer* de fosfatos) por 5 min. Se utilizó el kit de inmunohistoquímica Histostain® Plus 3rd Gen IHC Detection, de Invitrogen/Novex® by Life Technologies. Se bloqueó la peroxidasa endógena con el reactivo bloqueador de peroxidasa por 5 min a temperatura ambiente y las laminillas se lavaron con TBS (*buffer* salino) por 5 min. Se incubaron las laminillas con anticuerpos policlonales de conejo para detectar el IFN- γ R1 (1:50) y el IFN- γ R2 (1:200) de humano. Ambas sustancias fueron provistas por Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, EUA. Enseguida, se incubaron con el anticuerpo secundario 30 min, el cual está conjugado con HRP (*horseradish peroxidase*). Se lavaron por 5 min con TBS y se incubaron con el cromógeno 3-amino-etilcarbazon por 10 min. Se lavaron con agua corriente y luego se contratiñeron con hematoxilina QS (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA); se montaron los cubreobjetos con Glicergel (Dako Corp, Carpintería, EUA). Como control negativo, el proceso se siguió de la misma manera, omitiendo el anticuerpo primario.

Evaluación de la reactividad inmunohistoquímica. Ésta fue analizada por dos patólogos de manera independiente. Para ello, se tomó en cuenta la intensidad de tinción y el porcentaje de células positivas de acuerdo a Remmele y Stegner, reportado por Ikeda,²⁴ con ciertas modificaciones:

IRS = IT x PP

IRS = cálculo de inmunorreactividad (del inglés *immunoreactive score*)

IT = intensidad de tinción

PP = porcentaje de células positivas

La IT se determinó como negativo, 0; ligero, 1; moderado, 2; y fuerte, 3. El PP se definió como negativo, 0; del 1 al 10% de células positivas, 1; del 11 al 50% de células positivas, 2; del 51 al 75% de células positivas, 3; y del 76 al 100% de células positivas, 4.²⁵

El número de vasos se cuantificó con el objetivo de 10X contabilizando los vasos de cinco campos, y se calculó un valor promedio. El diámetro de los vasos se definió como: 1 (pequeño), 2 (mediano) y 3 (aumentado).

Se tomaron fotomicrografías de cortes representativos con un microscopio Olympus CX31 y una cámara Olympus C5060 con 5.1 megapíxeles de resolución.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados con una prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney, debido a que la población de estudio fue pequeña y los datos no mostraron una distribución normal cuando previamente se sometieron a la prueba estadística Kolmogorov Smirnov. El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 10.0.

RESULTADOS

Los resultados de la expresión del IFN- γ R1 e IFN- γ R2 se presentaron como promedios $\pm$ DE del ISR = (% de células positivas) (la intensidad de tinción) de los grupos estudiados.

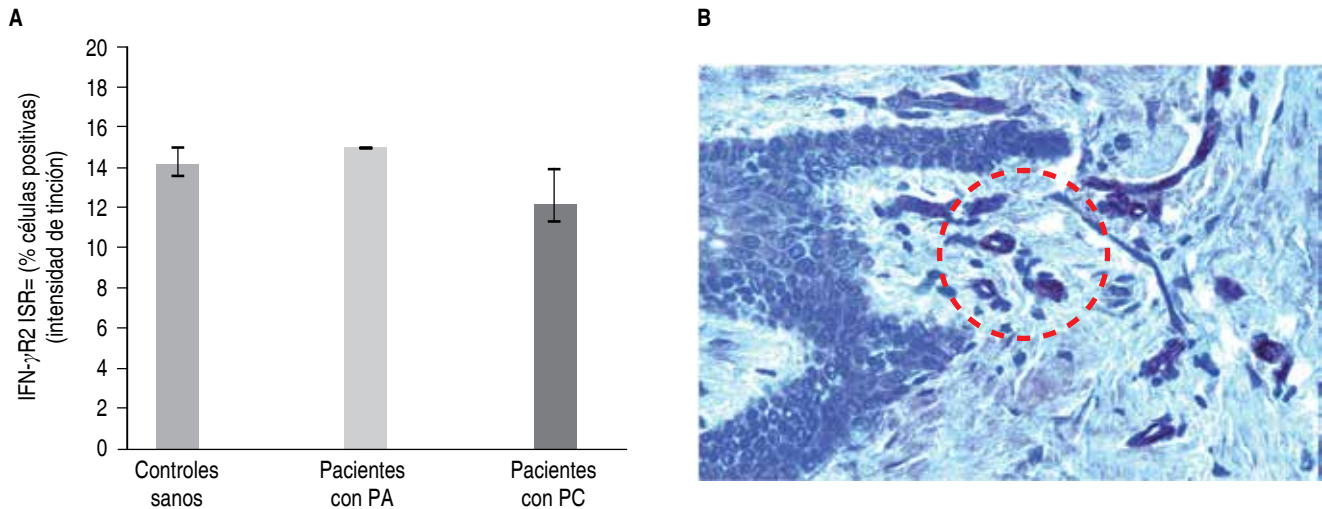
Al realizar la prueba *U* de Mann-Whitney no se encontraron diferencias estadísticamente significativas del IFN- γ R1 entre los diferentes tipos celulares del tejido gingival de los grupos estudiados. Respecto a la expresión del IFN- γ R2, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los diferentes estratos del tejido gingival de los pacientes con PA y PC, en comparación con los CS. Sin embargo, cabe señalar que el IFN- γ R2 se expresa fuertemente tanto en las células endoteliales de los CS como en los individuos con PA y PC (*Figura 3*).

Por otra parte, se observó que los sujetos con PA y PC mostraron un aumento en la vascularidad en comparación con los CS. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas, por lo que se decidió contabilizar el número de vasos sanguíneos y se puso de manifiesto un aumento significativo en las personas con PA y PC en comparación con los CS. Finalmente, se evaluó el diámetro de los vasos y se advirtió un aumento significativo en los pacientes con PA y PC en comparación con los CS (*Figura 4*).

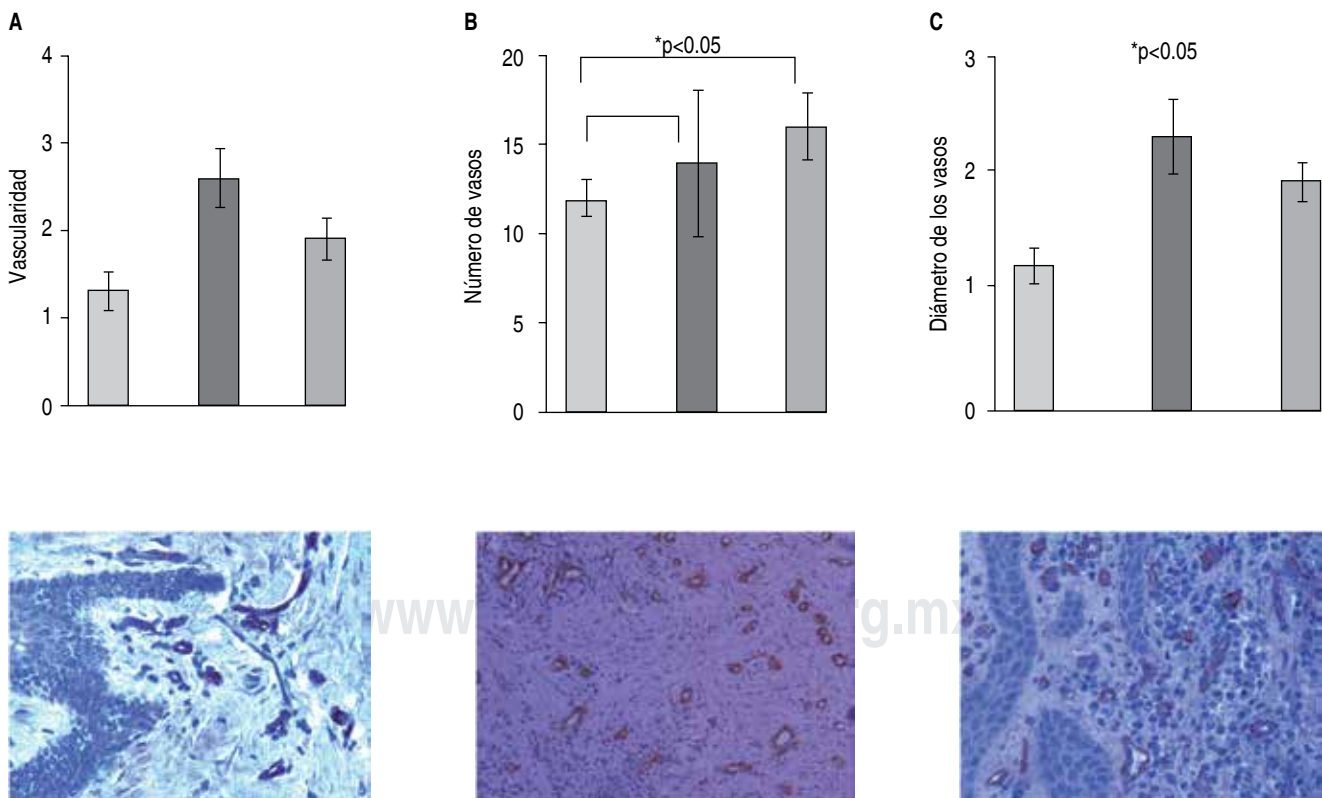
DISCUSIÓN

En el presente estudio no se observaron entre los grupos diferencias estadísticamente significativas de la expresión del IFN- γ R1, lo cual es congruente con la literatura, debido a que esta cadena del receptor a IFN- γ se encuentra de manera constitutiva en una gran variedad de células, incluso en algunas que no tienen una función inmunológica primaria.⁸

De forma interesante, en este trabajo el IFN- γ R2 se expresó fuertemente en las células endoteliales de los grupos estudiados, lo que concuerda con una



Figuras 3. Expresión del IFN- γ R2. **A.** Los resultados se presentan como promedios $\pm$ DE de la expresión del IFN- γ R2 en las células endoteliales de las muestras de tejido gingival de los grupos estudiados. Aunque observamos una expresión elevada de este receptor en todos los grupos estudiados no se encontraron diferencias estadísticas significativas. **B.** Fotografía representativa que demuestra la alta expresión del IFN- γ R2 en las células endoteliales (60X), contratinción con hematoxilina.



Figuras 4. Vascularidad en la periodontitis. Los resultados se presentan como promedio $\pm$ DE de los grupos estudiados. **A.** Número de vasos. **B.** Diámetro de los vasos. **C.** Cortes histológicos que demuestran el aumento del número y diámetro de los vasos marcados con el IFN- γ R2 en los pacientes con PA. **D.** Niveles de significancia $*p<0.05$. **E.** PC. **F.** En comparación con los controles sanos.

investigación realizada por Methe y su grupo en donde describe una expresión elevada en células endoteliales aórticas.²⁶ Aunque el IFN- γ R2 es una cadena inducible, pareciera que en las células endoteliales se expresa de manera constante; sin embargo, no existen estudios que clarifiquen el papel que juega la expresión elevada del IFN- γ R2 en las células endoteliales. El hecho de que quedaran marcadas las células endoteliales con el IFN- γ R2 en el tejido gingival tanto de los CS como de los pacientes con PA y PC nos permitió analizar la angiogénesis entre los grupos de estudio de una manera contundente.

Con respecto a la angiogénesis, se encontró un aumento significativo en el número, diámetro y prominencia del endotelio de los vasos sanguíneos en las muestras de tejido gingival de los pacientes con PC y PA, en comparación con los CS. Dichos resultados concuerdan con lo reportado por Artese y Bonakdar.^{7,27} En este sentido, se conoce que los tejidos de la cavidad oral representan una de las áreas más vascularizadas del cuerpo humano. En la actualidad, se ha hipotetizado que una inflamación crónica en el periodonto puede desencadenar un efecto proinflamatorio generalizado, con influencia a su vez en la respuesta tisular a nivel sistémico, lo que subraya la necesidad de más información sobre el proceso patológico de la enfermedad periodontal, incluyendo el rol de la angiogénesis.²⁸

La angiogénesis está regulada a través de moléculas señalizadoras (citocinas, moléculas de adhesión, factores de crecimiento, etcétera) involucradas en la remodelación de la matriz extracelular, migración de las células endoteliales, proliferación, diferenciación capilar y anastomosis.²⁷ En la periodontitis, la vascularidad incrementada puede participar en la liberación de leucocitos y mediadores proinflamatorios, promoviendo que los vasos estén altamente permeables y desencadenando a su vez un incremento en el edema tisular y la destrucción de los tejidos de soporte. Sin embargo, la angiogénesis también es un evento temprano en la reparación tisular: provee al sitio de la lesión cantidades adecuadas de nutrientes, oxígeno y células que aseguran la remoción del tejido necrótico.^{27,28}

Existe un número limitado de investigaciones acerca de la influencia de la angiogénesis en el desarrollo, progresión y regeneración de las lesiones periodontales. Incluso se utilizan algunos marcadores de las células endoteliales para la angiogénesis.^{7,27}

Los hallazgos del presente estudio proponen al IFN- γ R2 como un marcador de células endoteliales para contabilizar y analizar la estructura de los vasos, además de tratar de dilucidar el papel que juega el IFN- γ R2 en la angiogénesis de la enfermedad periodontal.

CONCLUSIÓN

Actualmente existe controversia respecto a si el aumento en la angiogénesis es responsable del desarrollo de las patologías en el periodonto. En este trabajo, el encontrar altamente expresado el IFN- γ R2 en las células endoteliales nos hace suponer que esta cadena podría ser utilizada como un marcador de la angiogénesis en la periodontitis. Sin embargo, se requieren pruebas más específicas que nos permitan determinar qué papel juega la expresión del IFN- γ R2 en las células endoteliales.

REFERENCIAS

1. Papapanou PN. Epidemiology of periodontal diseases: an update. *J Int Acad Periodontol*. 1999; 1: 110-116.
2. Petersen PE, Ogawa H. Strengthening the prevention of periodontal disease: The WHO approach. *J Periodontol*. 2005; 76: 2187-2193.
3. Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol*. 1991; 18: 421-426.
4. Lang N, Bartold P, Cullinan M et al. Consensus report: aggressive periodontitis. *Ann Periodontology*. 1999; 4 (1): 53.
5. Lindhe J, Ranney R, Lamster I et al. Consensus report: chronic periodontitis. *Ann Periodontology*. 1999; 4 (1): 38.
6. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2003; 74: 391-401.
7. Artese L, Piatelli A, de Gouveia CLA, Ferrari DS, Onuma T, Piccirilli M et al. Immunoexpression of angiogenesis, nitric oxide synthase, and proliferation markers in gingival samples of patients with aggressive and chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2010; 81: 718-726.
8. Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol*. 1997; 15: 563-591.
9. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Annu Rev Immunol*. 1993; 11: 571-611.
10. Aguet M, Merlin G. Purification of human gamma interferon receptors by sequential affinity chromatography on immobilized monoclonal anti-bodies and human gamma interferon. *J Exp Med*. 1987; 165: 988-999.
11. Soh J, Donnelly RO, Kotenko S, Mariano TM, Cook JR, Wang N et al. Identification and sequence of an accessory factor required for activation of the human interferon γ receptor. *Cell*. 1994; 76: 793-802.
12. Sakatsume M, Finbloom D.S. Modulation of the expression of the IFN- γ receptor β -chain controls responsiveness to IFN- γ

- human peripheral blood T cells. *J Immunol.* 1996; 156: 4160-4166.
13. Greenlund AC, Farrar MA, Viviano BL, Schreiber RD. Ligand-induced IFN gamma receptor tyrosine phosphorylation couples the receptor to its signal transduction system (p91). *EMBO J.* 1994; 13 (7): 1591-1600.
14. Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR. JAK-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science.* 1994; 264: 1415-1421.
15. Altare F, Jouanguy E, Lamhamedi S et al. Mendelian susceptibility to mycobacterial infection in man. *Curr Opin Immunol.* 1998; 10 (4): 413-417.
16. Holland SM, Eisenstein EM, Kuhns DB. Treatment of refractory disseminated nontuberculous mycobacterial infection with interferon gamma: a preliminary report. *N Engl J Med.* 1994; 330: 1348-1355.
17. Nakahira M, Ahn HJ, Park WR et al. Synergy of IL-12 and IL-18 for IFN-gamma gene expression: IL-12-induced STAT4 contributes to IFN-gamma promoter activation by up-regulating the binding activity of IL-18-induced activator protein 1. *J Immunol.* 2002; 168: 1146-1153.
18. Guerrero VC, Lopez RRI, Delgado RV, Guillen VCM, Montoya BM, Fafutis MM. Abnormalities in intracellular processing and expression of interferon-gamma receptor in adherent cells from lepromatous leprosy patients. *J Interferon Cytokine Res.* 2010; 30 (2): 99-105.
19. Yücel OO, Berker E, Gariboğlu S, Otlı H. Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 365-370.
20. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006; 21: 256-260.
21. Sánchez HPE, Zamora PAL, Fuentes LM, Robles G et al. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2011; 17: 522-529.
22. De Vecchio M, Bajjeta E, Canova S et al. IL-12: Biological properties and clinical application. *Clinical Cancer Res.* 2007; 13 (16): 4677-4685.
23. Loe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol.* 1967; 38 (Suppl): 610-616.
24. Armitage GC. Development of a classification system of periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 18: 421-426.
25. Ikeda O, Egami H, Ishiko T, Tshikawa S, Kamohara H, Hidaka H et al. Expression of proteinase-activated receptor 2 in human pancreatic cancer: a possible relation of cancer invasion and induction of fibrosis. *Int J Oncol.* 2003; 22 (2): 295-300.
26. Methe H, Edelman ER. Tissue engineering of endothelial cells and the immune response. *Transplant Proc.* 2006; 38 (10): 3293-3299.
27. Bonakdar MP, Barber PM, Newman HN. The vasculature in chronic adult periodontitis: a qualitative and quantitative study. *J Periodontol.* 1997; 68: 50-58.
28. Figg WD, Folkman J. Angiogenesis an integrated approach from science to medicine. In: DiPietro L. *Angiogenesis and pathology in oral cavity.* New York: Springer; 2008. p. 523-529.

Correspondencia:

María de la Cruz Herrera Mora

Manuel R Alatorre

Núm. 3246-81 Canal R Palmerín,

Residencial San Rafael, 44822,

Guadalajara, Jalisco.

Tel: 3311500866

E-mail: cd_herreramora21@hotmail.com