

379

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO.

---

---



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA.

"MECANISMOS DE ADHERENCIA BACTERIANA"

T E S I N A

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:  
ANGÉLICA VILLA REYES.

DIRECTOR:   
DRA. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS.

México, D.F. 2002



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México.**

Por todo lo que me brindó para crecer como persona y profesionalista.

**A mi tutor: Dra. Gloria Gutiérrez Venegas.**

Que con su acertada dirección hizo posible la elaboración de la presente.

**A la Facultad de Odontología.**

Por haberme abierto las puertas y haber hecho de mi una profesionalista.

**A mis profesores.**

Por su dedicación, tiempo y enseñanzas.

**A la Dra. Eileen Uribe Querol.**

Por su tiempo y consejos.

# DEDICATORIA

## **A Dios**

### **A mis padres: Guillermo y Carmen**

Por su amor, comprensión, entera dedicación, apoyo incondicional, por todos sus consejos para hacer de mi una mejor persona y por permitirme compartir tantos y tantos momentos tan felices.

### **A mis hermanos: Rubén y Raúl**

Por su cariño y amor, por su apoyo en todo momento, por todo lo que hemos aprendido y vivido juntos, y por ser una parte muy especial en mi corazón.

### **A mis abuelitos:**

#### **Rubén y María Luisa**

Por ser siempre ejemplo de esfuerzo, dedicación, amor y unión, por todas las enseñanzas que son ahora parte de mi vida y por haberme permitido tener una familia de ejemplo.

### **Teofila**

Por su cariño y apoyo en todo momento.

### **A mis Primas: Vero, Pati, Ara, Laura, Rebe, Malu y Claudia**

Por su amistad sincera, confianza y cariño y por todos los momentos y consejos que nos hicieron crecer juntas.

**A mis primos: Coco, Juan Pablo, Temujin, Luis Alberto, Rubén, Juan Roberto, Luis H, Ale, Richi, Andrea, Uriel, Griselda, Juan Antonio, Alejandra, Gabriel e Ivón.**

Por todo su cariño y por todos los momentos de los cuales he aprendido y disfrutado.

**A mis Tíos: Rubén y Vicki, Jorge y Silvia, José Luis y Arcelia, Carlos, Ricardo y Pati, Malusa y Enrique, Leticia y Luis, Elo, Angel, Jorge, Elenita, Lupita y Jesús Luis y Toña, Pancho y Flor.**

Por todos sus consejos y ejemplo de vida, y por estar siempre a mi lado.

**A mis amigos:**

**Kenia, Arely, Luis Fernando, Alejandra, Nelda, Sagrario, Ceci, Ricardo, Irlanda, Cinthia, Víctor Hugo, Marco, Carlos, Gregorio, Norma, Rocío, Christian y Roberto.**

Por su cariño y por la hermosa amistad que me han brindado

**A Luis Pablo:**

Por su amor, comprensión, apoyo, y por todos los momentos que hemos podido compartir, y por ser una parte muy importante de ilusión e impulso en mi vida.

## RESUMEN

El presente trabajo aborda los temas relacionados con los mecanismos de adhesión bacteriana a las superficies bucales de algunas bacterias relacionados con enfermedad periodontal. Es imposible hasta este momento concluir que un solo mecanismo sea el responsable de este fenómeno. Por lo que el objetivo de este trabajo es explicar los principales mecanismos de adhesión de algunas bacterias que constituyen la biopelícula dental.

La adhesión bacteriana ocurre en cuatro fases, la primera el transporte a la superficie, la fase siguiente denominada adhesión inicial caracterizada por la interacción entre la bacteria y la superficie por medio de fuerzas de largo y corto alcance, la tercera fase o adhesión específica se presenta entre dos moléculas una bacteriana llamada adhesina y otra denominada receptor perteneciente al hospedero entre las cuales encontramos la adhesión por ácido lipoteicoico que se une al ión calcio, unión lectina polisacárido y adhesión por unión proteína-proteína. La última fase llamada colonización causada por la multiplicación bacteriana y coagregación.

Por último esta revisión describe los mecanismos de adhesión específica de *Streptococcus sanguis*, *S. gordonii*, *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus* y *Porphyromonas gingivalis*.

## INTRODUCCIÓN.

La adhesión es el fenómeno mediante el cual se unen estructuras de diferente tipo. Este fenómeno se observa como parte del comportamiento de las bacterias, permitiendo la adhesión de estas a superficies de diferente índole así como entre ellas mismas.

En el ser humano encontramos una gran diversidad de bacterias, las cuales pueden estar presentes formando parte de la microbiota normal o en diversos estados patológicos.

En la cavidad bucal encontramos más de 500 especies de bacterias que forman parte de la microbiota. Estas bacterias pueden adherirse a diversas superficies de la cavidad bucal como son paladar, carrillos, lengua, encía, tonsilas y órganos dentarios.

La biopelícula es un ejemplo de adhesión y coagregación bacteriana la cual consiste en una densa placa bacteriana embebida en una matriz de polímeros bacterianos extracelulares y macroléculas derivadas de la saliva y del fluido crevicular. Al principio se trata de solamente un agregado celular pero posteriormente adquiere una organización que la hace patógena, lo cual se traduce en algunas alteraciones como la enfermedad periodontal.

## INDICE

Antecedentes .....	1
Objetivo General .....	8
Objetivos Específicos .....	8
Justificación .....	8
Biopelícula .....	9
Biopelícula Supragingival .....	11
Biopelícula Subgingival .....	12
Adhesión Bacteriana .....	17
Primera Fase: Transporte a la superficie .....	17
Segunda Fase: Adhesión inicial .....	17
Fuerzas de largo alcance .....	18
Fuerzas de Van der Waals .....	18
Fuerzas electrostáticas .....	19
Teoría de DLVO .....	20
Tercera Fase: Adhesión específica .....	23
Adhesinas .....	23
Receptores .....	24
Tipos de adhesión específica .....	28
Cuarta Fase: Colonización .....	30
Mecanismos específicos de adhesión de diferentes bacterias .....	32
<i>Streptococcus</i> .....	32
<i>Actinomyces</i> .....	36
<i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	37
Conclusiones .....	50
Bibliografía .....	51

## ANTECEDENTES.

A finales del siglo XIX, ya se comenzaba a estudiar y a desarrollar modelos que trataban de explicar cuales serían los mecanismos moleculares involucrados en la adhesión de las bacterias a la célula eucariota. La adhesión se considera como un fenómeno multifactorial.

Las evidencias experimentales señalan que se requiere de adhesión bacteriana para que se desarrolle la infección, así mismo ensayos *in vitro* han señalado que la capacidad de adhesión es directamente proporcional al potencial de provocar infección.

Dependiendo de las características de cada superficie se pueden encontrar adheridos diferentes bacterias. Por ejemplo diversas especies de *Streptococcus* se encuentran en la cavidad bucal, estas colonizan diferentes tejidos de la cavidad bucal dependiendo de las características inherentes de cada especie y de cada superficie. *S. salivarius* se encuentra principalmente en el dorso de la lengua y en la mucosa bucal, mientras que *S. mutans* y *S. mitis* se encuentran abundantemente en la biopelícula dental pero en baja proporción en las mucosas. Así mismo algunas variantes bacterianas que presentan una reducida capacidad de adhesión *in vitro* presentan una infectividad disminuida *in vivo*.

Una diversidad de factores determinan que tipos de bacterias son capaces de habitar en la boca, estos factores se agrupan en tres categorías principales: factores fisicoquímicos, factores del hospedero y factores bacterianos

### *Factores fisicoquímicos.*

En este grupo encontramos factores como la temperatura, el potencial de oxido-reducción, la concentración de iones hidrógenos, la química de la superficie y la presencia de componentes químicos que sirven como nutrientes. Estos factores pueden variar ampliamente en la boca incluso a pequeñas distancias, estos cambios hacen que la complejidad del ambiente aumente. Sin embargo la topografía y la química de las superficies tienen un gran efecto en la colonización de las bacterias en la cavidad oral y en que ambiente serán capaces de colonizar.

### *Temperatura.*

La temperatura de la cavidad bucal es aproximadamente de 37 °C, aunque puede variar considerable y súbitamente, al estar en contacto directo con algún tipo de alimento frío o caliente, la temperatura puede oscilar de 5 °C a 55°C. Esto supone que las bacterias bucales deben soportar y adaptarse a cambios de temperatura de hasta 50 °C en cuestión de segundos.

### *Tensión del Oxígeno.*

La mayor parte de las bacterias bucales son anaerobias o anaerobias facultativas, hecho que viene condicionado por los potenciales de oxido- reducción en los ecosistemas en los que se desarrollan.

Las condiciones anaerobias vienen determinadas por dos tipos de factores:

- **Anatómicos.** Algunas estructuras bucales limitan la penetración de oxígeno.
- **Microbianos.** Ciertas especies al consumir oxígeno, generan un bajo potencial de óxido-reducción.

En la placa supragingival, la tensión del oxígeno depende considerablemente de la edad de la placa, ya que en la placa inicial es caracterizada por un potencial positivo de oxido reducción. Pero cuando la placa ya ha tenido de 3 a 5 días sin ser desorganizada el potencial de oxido reducción cae a cero, indicando la presencia de un ambiente anaeróbico. Por lo tanto la placa supragingival inicial es dominada por especies facultativas y mientras madura el número de organismos anaeróbicos obligados registra un aumento en su población.

#### *Concentración de Hidrógenos.*

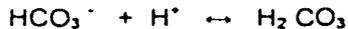
El pH en la cavidad oscila entre 6.5 y 7.5, el cual es óptimo para el desarrollo de la mayor parte de las bacterias. El pH está sometido a numerosas variaciones, por ejemplo el metabolismo bacteriano de carbohidratos puede provocar descensos importantes, mientras que el metabolismo de las proteínas lo elevan.

Un factor que influye en el pH especialmente en la placa es la producción bacteriana de iones hidrógeno, como resultado de la fermentación de carbohidratos. La placa dental especialmente la

asociada a la caries, puede incrementarse con concentraciones locales de iones de hidrógeno, minutos después de la exposición a carbohidratos fermentables, esta caída dramática en el pH es la causa de la caries dental.

Otro factor importante en el pH es la capacidad buffer de la saliva. Una sustancia buffer es la sustancia capaz de estabilizar el pH de un sistema. El buffer absorbe iones hidrógenos cuando se agregan más protones al sistema y libera protones cuando el hidrógeno es removido del sistema.

La saliva contiene iones bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). Cuando el pH baja el bicarbonato busca asociarse con los protones libres, convirtiéndose en ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). Una parte del ácido carbónico se disocia en agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) y bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). Cuando esto sucede el bióxido de carbono se libera de la saliva y entonces la reacción de inversa ya no puede ser llevada a cabo. A la vez el protón de hidrógeno libre que se unió al sistema cuando el pH comenzó a caer, es ahora envuelta por una molécula de agua y se remueve del sistema.



### *Factores del Hospedero*

Los dos componentes que regulan la relación hospedero-bacteria son la saliva y el fluido crevicular.

### Factores bacterianos.

La adhesión es mediada por estructuras de las superficies bacterianas denominadas adhesinas que son reconocidas por receptores específicos ubicados en las diferentes superficies del hospedero. La presencia y distribución de los receptores del hospedero determinan los tropismos de las bacterias hacia los tejidos mediada por adhesinas particulares. (Tabla 1)

BACTERIA	ADHESINA	RECEPTOR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Fibrila LTA- proteína M	Fibronectina
<i>Escherichia coli</i>	Fimbria tipo 1	D-manosa
<i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>K. Pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>E. coli</i>	Fimbria MR	GalNacool- 3GalNacbl-3- Galal-rGalbl- 4GlcCer
<i>E. coli</i>	Fimbria MR	Gal Nacbl-4-Galal- rGlcCer
<i>Actinomyces viscosus</i>	Fimbria tipo 1	Proteínas ricas en prolina
<i>Vibrio cholera</i>	Fimbria	Fucosa o Manosa
<i>Mycoplasma</i>	Proteína membranal	Ácido siálico, glucosamina
<i>Bordetella pertussis</i>	Fimbria	Esterol

Tabla 1. Adhesinas y receptores específicos de algunas bacterias.<sup>(1)</sup>

Las bacterias evolutivamente han desarrollado una serie de apéndices tales como las fimbrias que les permiten adherirse. (Tabla 2)

BACTERIA	VARIANTES BACTERIANAS	ADHERENCIA RELATIVA <i>IN VITRO</i>	INFECTIVIDAD RELATIVA <i>IN VIVO</i>
<i>Actinomyces viscosus</i>	Fimbria No fimbriada	Buena Pobre	Alta Baja
<i>Gonococci</i>	Fimbria T1 No fimbriada T4	Buena Pobre	Alta Baja
<i>Escherichia coli</i> (enterotoxigénica)	CF + CF -	Buena Pobre	Alta Baja.
<i>Streptococci</i>	Dextran + Dextran -	Buena Pobre	Alta Baja
<i>Bordetella pertussis</i>	Fimbriada No fimbriada	Buena Pobre	Alta Baja

Tabla 2. Relación entre la adherencia a células epiteliales *in vitro* y la infectividad bacteriana *in vivo*.<sup>(1)</sup>

Existen mecanismos físicos de defensa que el cuerpo tiene para contrarrestar la adhesión microbiana, entre ellos encontramos el recambio celular, que en la superficie del epitelio se observa como descamación, de tal forma las bacterias adheridas a estas células son eliminadas. El tiempo de recambio de los epitelios relacionado con la biopelícula presentan periodos de recambio muy rápidos, por ejemplo el epitelio de unión es de siete a diez días y en la encía es de 28 días.

Otro mecanismo de defensa es la saliva, ya que el flujo salival determina la remoción de bacterias no adheridas, se estima que una persona tiene un recambio salival de un litro al día. También encontramos que el fluido crevicular actúa de manera

parecida además de contener células de defensa. En ambas se encuentran inmunoglobulinas que también determinan defensa bacteriana.

## **OBJETIVO GENERAL.**

Explicar los principales mecanismos de adherencia de algunas bacterias (*Streptococcus sanguis*, *S. gordonii*, *S. parasanguis*, *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus* y *Porphyromonas gingivalis*) que constituyen la biopelícula de la placa dental.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Explicar los componentes y los procesos de formación de la biopelícula dental.
- Comprender las diferentes fuerzas que actúan en la adhesión bacteriana al hospedero.
- Explicar los mecanismos de adhesión específicos existentes en las bacterias seleccionadas.

## **JUSTIFICACIÓN.**

Se han realizado gran cantidad de trabajos para determinar los mecanismos que conducen a la formación de la biopelícula y así avanzar en el desarrollo de nuevos métodos que permitan, en un futuro, el control de las enfermedades periodontales.

En este trabajo haremos una recopilación bibliográfica para comprender las diferentes interacciones presentes en la adhesión de algunas bacterias que conforman la biopelícula dental, de tal forma que esto nos permita obtener una base teórica para comprender la influencia de esto en relación a la patogenia de algunas enfermedades bucales.

## I. BIOPELÍCULA.

La biopelícula consiste en una densa placa bacteriana embebida en una matriz de polímeros bacterianos extracelulares y macromoléculas derivadas de la saliva y del fluido crevicular.<sup>(2)</sup> La placa se acumula con mayor facilidad en sitios retentivos.<sup>(3)</sup> La cantidad de matriz es variable, es aproximadamente el 30 % de la biopelícula supragingival y en subgingival muy escasa. Tres pueden ser las fuentes que contribuyen a la matriz intermicrobiana:

-Las bacterias de la biopelícula . Las bacterias pueden excretar varios productos metabólicos que contribuyen a la formación de la matriz, así mismo encontramos bacterias en degradación o muertas.

-Saliva

-Fluido crevicular

La flora microbiana asociada con el diente y tejido periodontal en varios estados de salud y enfermedad muestran un alto nivel de organización<sup>(4)</sup> con marcadas diferencias entre biopelículas analizadas en salud y en enfermedad. Las bacterias asociadas con encía sana son predominantemente Gram-positivas, aunque existen, en menor número, Gram-negativas.

La acumulación de bacterias sobre superficies sólidas no es un fenómeno odontológico exclusivo. Las biopelículas se forman en todas las superficies inmersas en medios acuosos naturales. Se forman con particular rapidez en medios líquidos donde las bacterias reciben un aporte nutritivo regular.

En el caso de la cavidad bucal, el proceso de la adherencia reinicia después de la limpieza de los dientes en donde proteínas salivales y glucoproteínas son adsorbidas al esmalte formando la película adquirida. Se ha observado que componentes salivales causan agregación significativa a la biopelícula.<sup>(5)</sup> Se ha encontrado que las glucoproteínas mucinosas proveen un significativo potencial como molécula receptora, las cuales están involucradas en la agregación y adherencia de las bacterias.<sup>(6)</sup> Las bacterias se adhieren de manera variable a estas superficies recubiertas. La masa bacteriana aumenta debido a la proliferación continua de las bacterias adheridas, a la adhesión de nuevas bacterias y a la síntesis de polímeros extracelulares.

Las bacterias representativas que constituyen la biopelícula se muestran en la Tabla 3.

Según la ubicación de la biopelícula en relación con el margen gingival la biopelícula de placa se diferencia en supragingival y subgingival

<b>Grampositivos.</b>	
<i>Streptococcus mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. sobninus</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. parasanguis</i> .	Anaerobios facultativos
<i>Actinomyces viscosus</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>A. israelii</i> , <i>A. odontolyticus</i>	Anaerobios facultativos.
<i>Peptococcus</i> sp <i>Peptostreptococcus</i> sp	Anaerobios estrictos
<b>Gramnegativos.</b>	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Anaerobio estncto.
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Anaerobio estncto
<i>Prevotella loescheii</i> , <i>P. intermedia</i>	Anaerobio estncto.
<i>Treponema denticola</i> , <i>T. Oralis</i>	Anaerobios estrictos.
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	Anaerobio.

Tabla 3. Especies de bacterias representativas en la composición de la biopelícula. Fuente directa.

### Biopelícula supragingival.

La formación de la placa supragingival se inicia sobre la superficie dental cercana al margen gingival.

La formación de esta placa ha sido dividida en dos etapas. La primera involucra la adherencia bacteriana (transporte y adhesión) a la superficie dentana y la segunda implica la proliferación de las bacterias adheridas y la agregación de nuevas bacterias a este hecho se le denomina colonización. Tanto la primera como la segunda etapa involucran bacterias de diferentes especies.

Contiene aproximadamente 30% de matriz intermicrobiana. Se encuentra adherida a la superficie del diente y contiene predominantemente flora Gram-positiva.<sup>(7)</sup> (Tabla 4)

Las primeras bacterias que se adhieren al diente son cocos Grampositivos aerobios facultativos. La biopelícula después de 24 horas se compone sobre todo de *Streptococcus*, siendo *S. sanguis* el más destacado. Posteriormente bacilos Grampositivos, que inicialmente están presentes en números muy bajos y aumentan gradualmente como *Actinomyces*. Las superficies receptoras de los cocos y bacilos Grampositivos ayudan a la adherencia de bacterias Gramnegativas.

Diversos estudios,<sup>(8)</sup> han reportado la presencia *Streptococcus* y *Actinomyces* en cultivos de biopelícula supragingival de 7 a 10 días. En biopelículas maduras aumentan en proporción estas bacterias, con adición de otros como *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Actinobacillus*, *Treponema* y *Porphyromonas*, debido a la relativa dependencia del ambiente local y la demanda nutricional.<sup>(9)</sup>

(Fig. 1)

### **Biopelícula subgingival**

La cavidad bucal presenta diversas superficies de adhesión bacteriana: el epitelio de la encía, el dorso de la lengua, las tonsilas, superficies del esmalte así mismo el surco gingival.<sup>(10)</sup> y en la bolsa periodontal (en caso de destrucción periodontal) presentando estas dos últimas diferentes condiciones de crecimiento.

Las bacterias en el surco gingival y la bolsa periodontal se adhieren al cemento, <sup>(11,12,13)</sup> al epitelio del surco y al epitelio de unión.<sup>(14)</sup>

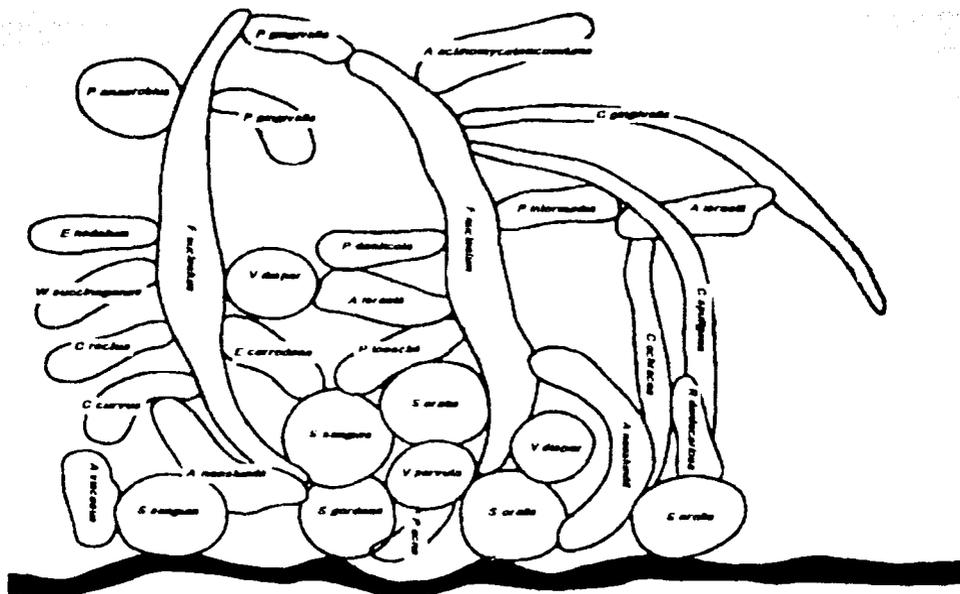
Con la acumulación y la maduración de la placa supragingival se producen cambios inflamatorios que modifican las relaciones anatómicas, entre el margen gingival y la superficie dentaria. El resultado de esto es un nuevo ambiente ecológico protegido por el medio bucal supragingival con acceso al exudado del surco gingival.

Esta área retentiva determina un medio en el cual pueden colonizar las bacterias que no pueden adherirse con facilidad a las superficies duras pero que si pueden adherirse a otras bacterias y al epitelio de la bolsa.

En la formación de la placa subgingival también existe una combinación de reacciones de adhesión, coagregación y unión de bacterias y se pueden distinguir tres zonas de placa subgingival. La relacionada con el diente, la no adherida o libre flotante y la relacionada con el epitelio.

En este caso la biopelícula esta compuesta predominantemente por bacterias Gramnegativas y se encuentra menos adherida que la biopelícula supragingival.<sup>(7)</sup> Contiene muy poca matriz intermicrobiana (Tabla 4)

La placa subgingival relacionada con el diente es similar a la placa supragingival.



## SUPERFICIE DENTAL

Fig. 1. La figura muestra las complejas interacciones entre varias especies de bacterias adheridas al diente. Las bacterias comprendidas en el corchete inferior son encontradas en la primera fase de la formación de la biopelícula. En el corchete superior, bacterias de la segunda fase.<sup>(16)</sup>

La placa no adherida o libre flotante contiene bacilos y cocos Gramnegativos, así como un gran número de espiroquetas. Estas bacterias no se organizan de un modo específico y se mezclan con componentes no bacterianos. Es posible identificar especies de *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Actinobacillus* y *Selenomonas*.

La placa subgingival relacionada con el epitelio se relaciona con la placa subgingival no adherida o libre flotante.

	<b>Supragingival.</b>	<b>Subgingival.</b>
<b>Matriz</b>	30%	Poca matriz o nula
<b>Flora</b>	Mayoría cocos y bacilos Grampositivos	Mayoría bacilos y espiroquetas Gramnegativos.
<b>Anaerobios/Aerobios</b>	Mayoría aerobios	Mayoría anaerobios.

Tabla 4. Composición de la biopelícula supragingival y subgingival.<sup>(16)</sup>

La población de la biopelícula es mantenida en un estado de equilibrio<sup>(17)</sup>, pero la relativa proporción de especies puede ser alterada drásticamente por cambios en las condiciones ambientales<sup>(18)</sup> tales como el potencial redox, el pH<sup>(19)</sup> y la provisión de nutrientes esenciales.<sup>(20,21,22)</sup>

El mecanismo preciso responsable de mantener la homeostasis en la biopelícula no es totalmente comprendido, pero incluye las interacciones sinérgicas y antagonistas. La estabilidad microbiana aumenta a través del desarrollo de las interrelaciones nutricionales. La acumulación de la biopelícula sobre el margen

gingival provocan una respuesta inflamatoria del hospedero, esta respuesta aumenta el flujo del fluido crevicular el cual provee una fuente de nutrientes a la microflora.

## II. ADHESIÓN BACTERIANA.

Diversos estudios<sup>(23)</sup> han descrito dos estados en la adhesión microbiana: una unión reversible, la cual es una atracción instantánea de bacterias a la superficie, seguida de una unión irreversible que implica reacciones biológicas específicas con el fin de proveer una adhesión firme de las bacterias a la superficie. En revisiones recientes<sup>(24,25,26,27,28)</sup> se ha desarrollado una teoría que explica el mecanismo fundamental de la adhesión y consiste en:

- Primera fase: Transporte a la superficie.
- Segunda fase: Adhesión inicial.
- Tercera fase: Adhesión específica.
- Cuarta fase: Colonización.

### **Primera fase: Transporte a la superficie**

El transporte de la bacteria hacia la superficie puede ocurrir de diferentes modos: difusión por movimientos Brownianos, a través de la sedimentación de las bacterias, debido al flujo salival y/o al movimiento bacteriano

### **Segunda fase: Adhesión inicial**

Esta adhesión inicial se da por la interacción entre la bacteria y la superficie. Debe existir una distancia máxima aproximada de 50nm para que intervengan fuerzas de largo y corto alcance.

## **Fuerzas de largo alcance**

Las bacterias pueden ser consideradas como partículas coloidales con vida<sup>(29)</sup> y como tales obedecen leyes físicas y químicas. A pesar de ello las bacterias no forman coloides "ideales" debido a que tienen la capacidad de expresar diversos componentes tanto interna como superficialmente.

Si una partícula coloidal se aproxima a una superficie interactúa con ella por medio de 2 fuerzas: las fuerzas de van der Waals (primera fuerza la cual actúa a una distancia de aproximadamente 50nm) y las fuerzas electrostáticas.

## **Fuerzas de van der Waals**

Tres tipos de fuerzas de van der Waals han sido identificadas 1) cuando dos átomos se aproximan en un intervalo de separación, serán atraídos uno al otro debido a la inducción de dipolos; 2) cuando una molécula (la cual normalmente posee un dipolo) reacciona con un átomo, la situación dipolo inducido-dipolo es creada; 3) cuando dos moléculas se aproximan la interacción dipolo-dipolo aparece (cambio relativo en la posición de electrones en relación con el neutrón: dispersión de London). (Fig. 2)

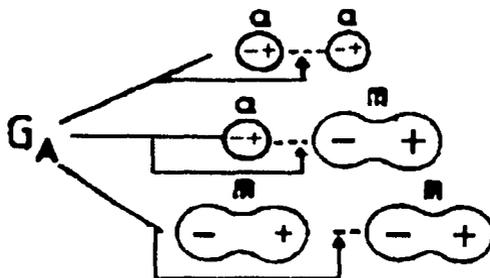


Fig. 2. Fuerzas de van der Waals.

1) cuando dos átomos se aproximan uno al otro a cierta separación, se atraerán debido a la inducción instantánea de dipolos; 2) cuando una molécula (la cual posee normalmente un dipolo) reacciona con un átomo, una situación dipolo dipolo-inducido es creada; 3) cuando dos moléculas se aproximan una a otra se crea una interacción dipolo-dipolo (a: átomo m: molécula) <sup>(30)</sup>

### Fuerzas electrostáticas.

Las moléculas son conjuntos de partículas con carga eléctrica, y de aquí que, con un grado razonable de aproximación, sus interacciones puedan determinarse por las leyes de la electrostática clásica.

Las interacciones electrostáticas tienen un alcance bastante elevado, en comparación con otros tipos de interacciones intermoleculares <sup>(31)</sup>

La distancia a la cual aparece esta carga depende de la carga iónica de la superficie y de la concentración iónica del medio

de suspensión. La energía de las interacciones electrostáticas es determinada por la superficie.<sup>(32)</sup>

### Teoría DLVO.

Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek (DLVO) postularon una teoría, (Fig. 3) donde por arriba de una distancia de separación de 1nm la sumatoria de las dos fuerzas (fuerzas de van der Waals y fuerzas electrostáticas) describen el rango total de largo alcance. La energía total de interacción ( $G_{tot}$ ) es calculada en relación al intervalo de separación ( $D$ ; entre una partícula de carga negativa y una superficie cargada negativamente), y por diferentes fuerzas iónicas en el medio (la suma de las fuerzas de van der Waals ( $G_A$ ) y a las interacciones electrostáticas ( $G_E$ )).

En un medio de suspensión con fuerza iónica baja  $G_{tot}$  consiste en un máximo positivo (barrera de adhesión -B-) y un mínimo (llamado mínimo primario, localizado a <2nm de la superficie) donde la adhesión será irreversible. El máximo positivo decrece con el incremento de la fuerza iónica del medio, debido a la reducción de la fuerza repulsiva de  $G_E$ .

En un medio de suspensión con fuerza iónica media (i.e. la saliva) el máximo positivo decrece a medida que el mínimo secundario es creado. El máximo positivo es frecuentemente bajo. Una fracción de la partícula puede contener suficiente energía térmica y pasar la barrera en orden de alcanzar el mínimo primario (unión irreversible). El mínimo secundario existe a una distancia de

( $\pm 10\text{nm}$ ) de la superficie. Este mínimo es mejor para sistemas que tienen largas atracciones de van der Waals y para partículas más grandes <sup>(25)</sup> En el mínimo secundario la partícula puede adherirse reversiblemente o irreversiblemente.

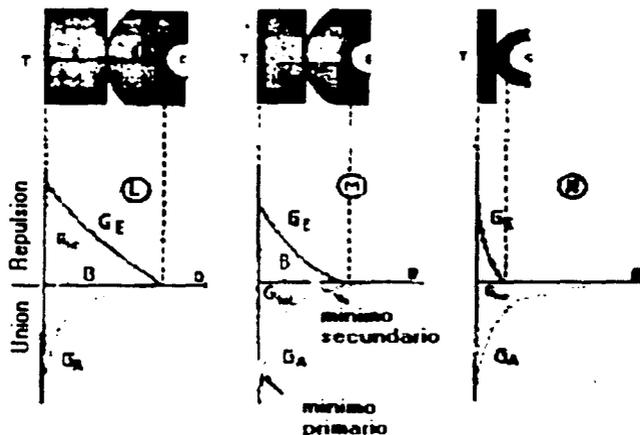


Fig. 3. Interacciones de largo alcance entre bacteria de carga negativa (c) y superficie de carga negativa, de acuerdo con la teoría de DLVO. La energía total de interacción ( $G_{tot}$ ) es calculada en relación al intervalo de separación (D), como la suma de las fuerzas de van der Waals ( $G_A$ ) y las interacciones electrostáticas ( $G_E$ ). Tres diferentes fuerzas iónicas en el medio de suspensión son consideradas (L) baja, (M) media, (H) alta. <sup>(30)</sup>

En un medio de suspensión con fuerza iónica alta  $G_{tot}$  es constantemente negativo, todas las partículas pueden alcanzar el mínimo primario.

Si las dos superficies tienen una carga opuesta,  $G_e$  tendrá más atracción que repulsión y la partícula aprovechará el mínimo primario sin dificultades.

En la naturaleza la bacteria y la superficie son predominantemente cargadas negativamente, por lo tanto es frecuente encontrar una interacción con mínimo primario y secundario.

Para la bacteria el mínimo secundario es localizado entre 5 a 20nm de la superficie<sup>(28)</sup> donde no es frecuente encontrar valores altos negativos donde se implicaría una adhesión reversible (definida como una unión a la superficie donde continúan movimientos Brownianos y puede ser removida).

### **Fuerzas de corto alcance**

Si la partícula alcanza el mínimo primario (<2nm de la superficie) un grupo de fuerzas de corto alcance (i.e. puentes de hidrógeno, interacción estérica) dominan la interacción adhesiva y determinan la fuerza de adhesión. La teoría DLVO es solamente capaz de predecir si el mínimo primario puede ocurrir, pero no cuantificar este mínimo.

La bacteria en el mínimo secundario, puede alcanzar el mínimo primario pasando la barrera de energía (B), pero también se puede dar por proyecciones de la bacteria como fimbrias. Debido a que la fimbria tiene un radio considerablemente más pequeño la repulsión electrostática en estas estructuras disminuirá (dependiendo de su radio), la atracción de las fuerzas de van der

Waals permanecerá constante, por lo que la barrera de adhesión disminuirá.

Para ambas situaciones la película de agua entre las superficies ha sido removida. Esta capacidad de deshidratación ocurre por asociación de grupos hidrófobos. Hipotéticamente la remoción de la interfase de agua es una influencia en la adhesión bacteriana. Algunas veces la bacteria es forzada a estar a cierta distancia de la superficie, no a causa de la barrera de energía, sino por un obstáculo estérico entre la superficie que contiene polímeros.

### **Tercera fase: Adhesión específica.**

Después de la adhesión inicial un fuerte anclaje entre la bacteria y la superficie puede ser establecido por interacciones específicas, por contacto directo o por una unión de apéndices filamentosos extracelulares.

El principal mecanismo de adherencia de las bacterias consiste en la interacción específica entre dos moléculas, una bacteriana (adhesina) y otra del hospedero (receptor).

### **Adhesinas**

Son moléculas superficiales bacterianas, cuya función es la de adherir a las bacterias a una superficie

Se ha encontrado que la prevalencia de diferentes especies de bacterias en superficies es correlacionada a la habilidad de las bacterias a adherirse a la superficie. Investigaciones han revelado que la mayoría de las bacterias poseen un vasto número de

adhesinas<sup>(33)</sup> Las adhesinas se encuentran asociadas con apéndices filamentosos proteicos o fimbrias; siendo proteínas de alto peso molecular extendidas sobre la superficie microbiana.

Mas adelante detallaremos como son estas adhesinas en las bacterias seleccionadas.

### **Receptores.**

Compuestos que interactúan con las adhesinas. Entre ellos se encuentran los carbohidratos del glucocálix y glucoproteínas como fibronectina de las células epiteliales, la película adquirida o conjunto de proteínas y glucoproteínas salivales adsorbidas de forma selectiva al esmalte.

Después de la limpieza de los dientes, las proteínas salivales y glucoproteínas son adsorbidas selectivamente a minerales apatíticos del esmalte. Esta película tiene generalmente un espesor de menos de 1 micrómetro. La película contiene pocas bacterias en las primeras etapas<sup>(34)</sup>, posteriormente la bacteria interactúa con ésta película por medio de reacciones moleculares específicas.<sup>(35)</sup> Se ha observado que componentes salivales causan agregación significativa a la superficie (Tabla 5) Moléculas de alto peso molecular, como glucoproteínas mucinosas inducen la agregación y adherencia de diversas bacterias<sup>(36)</sup>, ya que proveen un significativo potencial como moléculas receptores

PRINCIPALES COMPONENTES DE LA PELÍCULA ADQUIRIDA.
Albumina
Lisozimas
Amilasa
Proteínas ricas en prolina (PRP)
Mucina
Esterina
IgA lactoferrina

**Tabla 5. Principales componentes de la película adquirida que actúan como receptores para diferentes bacterias. Fuente directa**

Se ha observado que diversos componentes salivales ayudan a la agregación de ciertas bacterias. Esta capacidad de agregación ha sido tomada como un papel importante en la adhesión microbiana. Por instantes glucoproteínas que contienen oligosacáridos pueden servir como receptores para *Streptococcus*<sup>(37)</sup> y las proteínas ricas en prolina (PRP) y la esterina han sido implicadas como receptores para fimbrias de *A. Viscosus*<sup>(38)</sup> *P. gingivalis*, *P. melanogenicus*, *A. naeslundii*, *S. gordonii*, *S. sanguis*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella loeschei*<sup>(39)</sup>

Las PRP y la esterina son las únicas fosfoproteínas presentes en la saliva<sup>(40,41,42)</sup>

### Proteínas ricas en prolina (PRP)

Las PRP se han utilizado como modelo para el estudio de los receptores de superficie de la película adquirida. Las PRP comprenden una familia de proteínas que poseen diversas características. Se han aislado tres largas designadas como PRP-1, PRP-2 y PIF-s, con 150 aminoácidos cada una que poseen una alta homología, ya que sólo difieren en los residuos 4 y 50 (Figura 4). Existen otras tres, que son las PRP cortas (PIF-f, PRP-3 y PRP-4). Estas son proteínas de 106 aminoácidos de longitud, se cree que derivan de la proteína larga.

Las PRP son altamente asimétricas con respecto a la carga. Por ejemplo, los primeros 30 aminoácidos en el segmento del amino terminal de PRP-1 13 de 15 aminoácidos se encuentran cargados negativamente en la proteína y 2 residuos de fosfoserina. En contraste, el segmento del carboxilo terminal contiene residuos de aminoácidos básicos. La estatenna también posee una marcada carga asimétrica y 2 residuos de fosfoserina en una molécula final.<sup>(42)</sup>

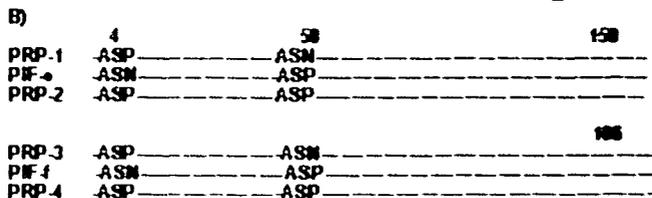


Fig. 4. A) Estructura primaria de Proteína rica en Prolina-1 (PRP-1) Algunas otras PRP han sido identificadas y difieren de la PRP-1 por sustitución de los residuos 4 y 50. B) Variación estructural en seis PRP humanas. La proteína de 106 residuos, PRP-3, PIF-4 y PRP-4 se considera que son formadas por proteólisis del producto del gen primario.<sup>(43)</sup>

Diversos estudios<sup>(40,44)</sup> han establecido que la unión de PRP y estaterina se unen con alta afinidad a superficies de hidroxiapatita via amino terminal *P. gingivalis* tienen una alta adherencia con PRP-1 en hidroxiapatita.

Otras proteínas (IgA, lactoferrina, lisozimas y amilasa) han sido encontradas en una unión específica a bacterias de la biopelícula, por lo que podrían actuar como receptores de unión. Sin embargo, la conexión directa todavía no ha sido establecida. Aunque todas estas proteínas pueden establecer una unión específica a las bacterias, su proporción impide tomarlas como uniones significativas.<sup>(45-46)</sup>

La colágena y la fibronectina también sirven como receptores para adhesinas de diferentes bacterias.

### **Tipos de adhesión específica**

Los mecanismos de adherencia microbiana mas reconocidos son:

- Adhesión por ácido lipoteicoico. El ácido lipoteicoico está formado por carbohidratos fosfatados, generalmente glicerol y ribitol fosfato, estos compuestos tienen su origen en zonas profundas de la pared, que contactan con lípidos de la membrana celular. Las interacciones de los ácidos lipoteicoicos con las células del hospedero se deben a fenómenos hidrófobos, especialmente cuando forman complejos con proteínas superficiales y fimbrias, constituyendo una envoltura fibilar. Se ha sugerido que en la cavidad bucal estas interacciones permiten la adhesión

bacteriana a superficies duras porque el extremo hidrofílico cargado negativamente interactúa con el calcio y fosfato de la hidroxiapatita o con grupos sulfatos de la película adquirida.

- Adhesión por unión lectina- polisacárido. Las lectinas reconocen residuos de glúcidos y se fijan a ellos. Esta unión se produce mediante las fimbrias y moléculas de superficie de algunas bacterias (lectinas), con polisacáridos que se encuentran en la película adquirida y en superficies de células procariotas y eucariotas. Este tipo de uniones se da también en los casos de coagregación bacteriana.

Las lectinas son caracterizadas químicamente como glucoproteínas, son capaces de unirse no covalentemente a los carbohidratos sin modificarlos químicamente. Esta unión obviamente posee cierto grado de afinidad, según la naturaleza de la lectina y la constitución química del receptor carbohidrato

- Uniones medadas por glucanos Constituyen un proceso especial de adhesión a superficies duras con cierto grado de agregación y coagregación. En él intervienen glucanos, proteínas superficiales que fijan glucanos y glucosiltransferasas. Todos estos atributos los poseen los estroto cocos del grupo *mutans*. Las glucosiltransferasas sintetizan los glucanos pudiendo quedar unidas a las superficies bacterianas o ser excretadas al medio circundante, conservando su actividad y permaneciendo

unidas a los aceptores glucosídicos de los homopolisacáridos.

Los glucanos liberados al medio pueden fijarse a proteínas superficiales (proteínas que unen glucanos) y actuar no sólo de nexo de unión entre glucosiltransferasas, sino también entre bacterias que poseen dichas proteínas.

- Adhesión por unión proteína-proteína. Se ha observado que algunas adhesinas se unen con receptores proteicos.<sup>(47,43)</sup> Esta unión es mediada por componentes proteicos específicos del microorganismo y receptores proteicos complementarios en la superficie.<sup>(48,49,50)</sup>

#### **Cuarta fase: Colonización**

El desarrollo de la placa se debe al crecimiento de las especies para formar microcolonias y a la coagregación de más bacterias de la misma o de diferente especie. Esta coagregación puede ser directa bacteria- bacteria debido a un receptor de unión específico<sup>(51,52)</sup> o puede ser mediado por macromoléculas salivales<sup>(53)</sup> El crecimiento de la placa es facilitado por la producción de polímeros extracelulares bacterianos

Ha sido establecido que el crecimiento de la placa ocurre preferentemente por multiplicación de las bacterias ya adheridos que por la coagregación (conexiones inter-bacterianas) sobre las especies de bacterias.<sup>(54)</sup>

Se ha observado que algunas bacterias actúan como puente entre otras dos bacterias las cuales no interactúan entre ellas. Se observa como esta interacción puede llevar a un agregado multigenérico.

### III. Mecanismos específicos de adhesión de diferentes bacterias.

#### *Streptococcus*

La superficie celular de *Streptococcus* tiene adhesinas responsables para la adhesión a la película adquirida y a otras bacterias de la biopelícula.

Existen dos tipos de apéndices estructurales en las superficie de diversas cepas de *Streptococcus*:

- La fimbria proteasa resistente y flexible se encuentra en la superficie bacteriana, mide 0.5 a 1  $\mu\text{m}$  de longitud y 3 a 4 nm de ancho. Las cuales se han observado distribuidas a lo largo de la superficie bacteriana <sup>(55)</sup>
- Además existen dos tipos fibrillas, la primera es la fibrilla proteasa-resistente larga, con una longitud promedio de 175 nm. La segunda es la fibrilla proteasa-sensitiva corta con un promedio de longitud de 25 nm

Estas cepas están divididas en cuatro grupos de acuerdo a la longitud y distribución de sus apéndices: las que poseen solamente fibrillas largas; las que tienen sólo cortas; las que tienen penachos laterales ya sean cortas, largas o ambas; y por último las que solamente tienen fimbrias. (Fig. 5).



Fig. 5. A. *S sanguis*, con dos penachos laterales de fibrillas. Bar, 100nm. <sup>(46)</sup> B. *S sanguis* con penacho lateral. Micrografía electrónica <sup>(7)</sup>

La cantidad y la estructura de las fimbrias difieren entre las diferentes especies de *Streptococcus* orales. Bacterias como *S. sanguis*, *S. para-sanguis* y *S. gordonii* preferentemente se adhieren a la superficie del diente por medio de la fimbria y son algunos de los primeros colonizadores que forman la biopelícula. <sup>(57)</sup> Es sugerido que esta fimbria juega un papel importante en la motilidad, en superficie hidrofóbica y coagregación interbacterial.

Existen diversos mecanismos de adhesión que han sido propuestos para *S. Sanguis* (Tabla 6).

Adhesina/ receptor	Sustrato
Lectina/ácido siálico de glucoproteínas	Película adquirida.
Fibrillas/ ?	Película adquirida.
Fibrillas/ ?	<i>Actinomyces, Fusobacterium.</i>
Ácido lipoteicoico/ fibronectina	Película adquirida.
/ PRP	Película adquirida

Tabla 6. Múltiples mecanismos de adhesión de *S. sanguis*.<sup>(59)</sup>

Las fibrillas parecen estar implicadas en la adhesión de células epiteliales bucales, unión con película adquirida en hidroxiapatita y coagregación con *Actinomyces* o *Fusobacterium nucleatum*.

La adhesión a la superficie del diente es mediada por glucoproteínas salivales que se encuentran en la película adquirida. Una interacción de lectina hace el reconocimiento de la secuencia de carbohidrato específico del residuo terminal del ácido siálico.

Se cree que la fibronectina es el receptor de las células epiteliales a molécula de ácido lipoteicoico

La mayoría de las interacciones implicadas en los mecanismos de adhesión de *Streptococcus* comprenden interacciones de lectina-polisacárido y proteína-proteína.<sup>(59)</sup>

La mayoría de las especies de *Streptococcus* orales producen polipéptidos de las familias de antígenos tipo I/II, ancladas a la pared celular. Estas proteínas contienen de 1500 a 1566

aminoácidos que le confieren propiedades de adhesión y coagregación.<sup>(60)</sup>

Las adhesinas del antígeno I/II SspA y SspB en *S. gordonii* son responsables de las reacciones de coagregación con *Actinomyces* orales y con *Porphyromonas gingivalis*<sup>(61)</sup>

Lipoproteínas superficiales similares a las anteriores están presentes en *Streptococcus* orales, estas proteínas no están inmunológica o estructuralmente relacionadas con antígenos I/II.<sup>(62)</sup>

La proteína de la superficie celular CshA ( con una masa molecular aproximada de 259 KDa) y CshB ( con una masa molecular aproximada de 245 KDa) de *S. gordonii* son polipéptidos relacionados antígenicamente y son codificados por genes separados en el cromosoma <sup>(63)</sup> Estos polipéptidos están implicados en mecanismos de adhesión. El precursor de CshA de 2508 aminoácidos es compuesto por cuatro regiones 1) un péptido líder de 41 aminoácidos exporta la CshA, 2) una región no repetitiva (del 42 a 878 aminoácidos) que es predominantemente un alfa hélice, 3) una región extensa de aminoácidos (del 879 al 2417) representa aproximadamente el 60% del polipéptido maduro y 4) un dominio C-terminal responsable del anclaje a la pared celular.

CshA en *S. gordonii* es más importante que CshB en cuanto a la adhesión y coagregación.

Se ha reportado<sup>(64)</sup> que las proteínas CshA y CshB no funcionan efectivamente en ausencia de SspA y SspB. Por lo que

se sugiere una cooperativa interacción entre adhesinas en superficies celulares de *Streptococcus* orales

### ***Actinomyces***

Los *Actinomyces* son de los primeros colonizadores en la superficie dental. Expresa dos diferentes tipos de fimbrias ( fimbria tipo 1 y 2), las cuales se encuentran implicadas en la unión a tejidos del hospedero y coagregación interbacterial.<sup>(65)</sup> Han sido identificadas las subunidades proteínicas de estas fimbrias, pero no han sido completadas.

El gen que codifica la subunidad proteínica fimbrial tipo 1 de *A. viscosus* ha sido conocido y secuenciado y la subunidad de fimbriolina consiste en una proteína de 54 kDa. El gen fimbrial tipo 2 también ha sido clonado y es encontrado que codifica para una proteína de 59- KDa<sup>(66)</sup> la cual es genéticamente similar a la fimbria tipo 2 de *A. naeslundii* respectivamente.

Las fimbrias ayudan a fomentar la unión de *A. viscosus* y *A. naeslundii* en superficies del hospedero y en otras bacterias. La fimbria tipo 1 se adhiere a la película adquirida en el diente, mientras que la fimbria tipo 2 interactúa con células epiteliales y otras bacterias como *Streptococcus*<sup>(67)</sup>

La fimbria tipo 1 es responsable de la unión a saliva en superficie con hidroxiapatita via interacciones específicas con proteínas ricas en prolina, glucoproteínas ricas en prolina y estatenna<sup>(68, 69)</sup> La fimbria tipo 1 también se une a colágena tipo I y III humana presente en la superficie de la hidroxiapatita.<sup>(70)</sup> Esta

colágena exhibe una región secuencial de aminoácidos similar a las moléculas de proteínas ricas en prolina.

Los receptores para la fimbria tipo 2 de *A. viscosus* son considerados que son galactosa- y N-acetilgalactosamina en células epiteliales bucales y polisacáridos bacterianos en superficies celulares de *S. sanguis*<sup>(71)</sup> llevando a cabo una interacción lectina-polisacárido. Una fimbria tipo 2 similar es encontrada en *A. naeslundii* uniéndose a una glucoproteína de 169- KDa en la superficie de células epiteliales bucales vía fimbria tipo 2.

### ***Porphyromonas gingivalis.***

*Porphyromonas gingivalis* es un bacilo anaerobio Gram-negativo, es el mayor agente causal en la iniciación y progresión de enfermedades periodontales severas.<sup>(72)</sup>

La cavidad bucal provee una variedad de superficies en las cuales *P. gingivalis*<sup>(73)</sup> puede adherirse como componentes de la película adquirida adsorbidos en la superficie del diente (PRP y glucoproteínas, estatena, histatinas, lisozimas y lactoferrina),<sup>(74-75,76)</sup> células del hospedero y componentes de la matriz, células epiteliales,<sup>(77,78)</sup> fibroblastos,<sup>(79)</sup> eritrocitos, colágena<sup>(80)</sup>, fibronectina, laminina, bacterias de colonización temprana como *Streptococcus gordonii*, *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis*, *Actinomyces naeslundii*, y con colonizadores tardíos

como *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*. (Fig. 6).

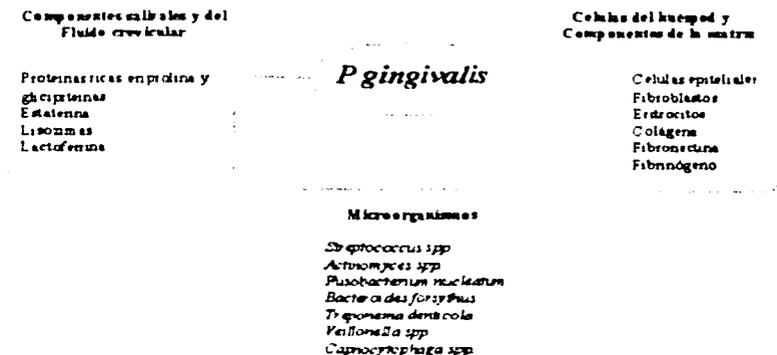


Fig. 6. Variedad de superficies donde *P. gingivalis* puede adherirse.<sup>(21)</sup>

*P. gingivalis* posee diversas estructuras que le permiten realizar interacciones adhesivas. Dichas estructuras son las fimbrias, vesículas, proteasa y hemaglutininas.

Se ha observado la presencia de fimbrias en *Porphyromonas gingivalis*, numerosas fimbrias largas (Fimbria mayor) de 0.3 a 3.0 micrómetros de largo y de 5nm de ancho<sup>(22)</sup> (Fig. 7.) y en menor cantidad fimbrias de menor tamaño (fimbria menor) de 0.1 a 0.5 micrómetros de largo y de 3nm de ancho



Fig. 7. Micrografía electrónica de *P. gingivalis* cepa ATCC 33277, donde podemos observar fimbrias.<sup>(83)</sup>

El mayor número de fimbrias mayores están compuestas por subunidades de monómeros de fimbrilina (Fim A). El gen que codifica para la Fim A (*fim A*) está presente como una copia sencilla en el cromosoma y es monocistrónico<sup>(84)</sup>. Sin embargo, las regiones adyacentes de *fim A* han sido examinadas, hacia el extremo 5' del gen se encontró un marco de lectura abierto y hacia el 3' cuatro marcos de lectura abiertos. Los productos de estos últimos han sido designados 1, 2, 3 y 4, y codifican para proteínas de 15-, 50-, 80- y 19-KDa respectivamente. Anticuerpos elaborados contra las proteínas de 50- y 80- KDa reaccionan con fimbria purificada por análisis de inmunoblot, por lo que se sospecha que estas proteínas

pueden estar asociadas con fimbria. La región 5' de *fim A* contiene actividad funcional de secuencia consenso promotora parecida a sigma-70 con un elemento potencial UP.<sup>(85)</sup> Además, posee una secuencia rica en AT que amplifica la actividad transcripcional dando una regulación positiva. (Fig. 8)

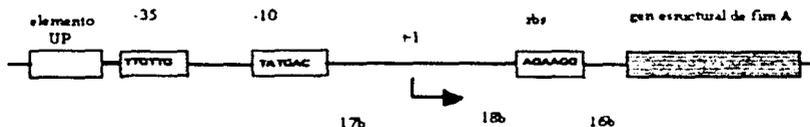


Fig. 8. Arquitectura del promotor de *P. gingivalis* del gen *fim A*. La región -10, -35 y UP son las secuencias de reconocimiento del promotor. +1 es el sitio donde se inicia la transcripción.<sup>(83)</sup>

Segmentos cortos de *fim A* son usados como sondas en pruebas de DNA para detectar este microorganismo en la biopelícula de los pacientes<sup>(86)</sup>

Fim A es una proteína que varía en tamaño entre 41 y 49 kDa dependiendo de la cepa<sup>(87)</sup> y está compuesta por 337 aminoácidos. Su estructura y función han sido establecidos. La estructura secundaria propuesta contiene un alto porcentaje de laminas- $\beta$ . El análisis de la secuencia de la proteína revela un homólogo no significativo en proteínas fimbriales de otras bacterias,

indicando que la fimbria de *P. gingivalis* puede representar una clase única de fimbrias.

Se ha sugerido que la Fim A de *P. gingivalis* posee un péptido líder considerablemente largo en comparación con otras bacterias<sup>(88)</sup>. La expresión de fimbria madura es regulada negativamente por el ambiente, alta temperatura<sup>(89)</sup> y crecimiento limitado en hierro<sup>(90)</sup>, o de un medio rico en nutrientes.

Fim A parece ser el mayor mediador de adherencia determinante para *P. gingivalis per se* media la adherencia a una variedad de sustratos bucales y moléculas. Por lo que la fimbria tiene el potencial para ser implicada en muchas, no en todas, las propiedades de adherencia del microorganismo. La unión es mediada a través del número de dominios específicos, localizados a lo largo de la molécula.

Las proteínas ricas en prolina y la estatena muestran habilidades de unión específica en la unión con la Fim A. La unión de Fim A a PRP-1 (Fig. 4 A ) y estatena implican múltiples y separados dominios de unión<sup>(91)</sup>. Las regiones de interacción son localizadas en el carbono terminal final de la proteína entre el aminoácido 266 y 337, y una región menos dominante aparece en el N- terminal localizado entre 124 y 146 (Fig. 8 ) El sitio de unión de fimbria para PRP-1 ha sido localizado en un segmento PQGPPQ.

Han propuesto<sup>(92)</sup> que la especificidad de esta interacción de unión es determinada por la hidrofobicidad de las prolinas y los puentes de hidrógeno provistos por glutamina. Las regiones de 124 a 146 y de 318 a 337 también son sitios de unión a fibronectina.<sup>(93)</sup>

La secuencia de aminoácidos VqxxA o VxxxA ha sido identificada como dominio potencial interactivo. La región del C- terminal se une en coadherencia con *S. oralis* en los dominios funcionales localizados entre los aminoácidos de 266 a 286 y de 287 a 337 <sup>94</sup> (Fig. 9) *S. oralis* posee componentes proteicos para la unión con fimbria, llevándose a cabo una interacción proteína- proteína. El fibrinógeno inhibe la coagregación por su unión con *P. gingivalis* a través de dominios específicos ricos en arginina.

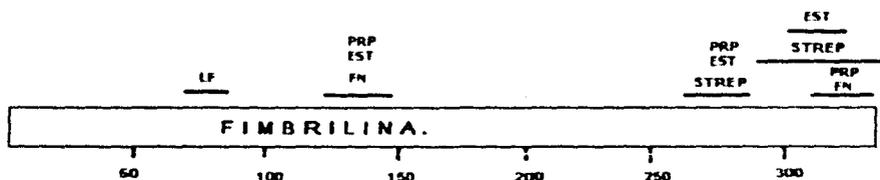
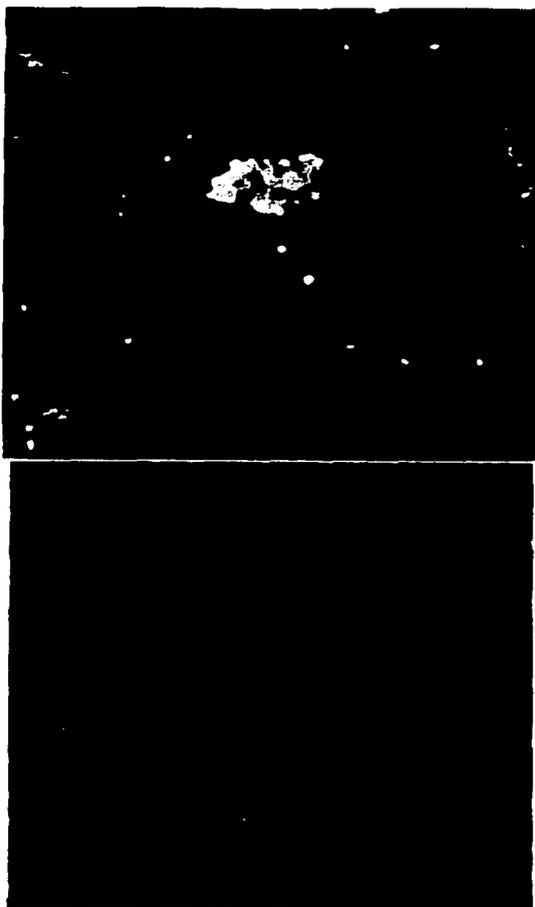


Fig. 9. Dominios funcionales de fimbriolina de *Porphyromonas gingivalis*. Los números refieren el residuo de aminoácido. Abreviaciones: EST, unión con estaterina; PRP, unión con PRP salivales; FN, unión con fibronectina; LF, unión con lactoferrina; STRP, unión con *Streptococcus oralis*. <sup>72)</sup>

La fimbria menor esta compuesta por subunidades de monómeros de Mfa1 de 67 KDa. La composición de aminoácidos de la proteína fimbrial de 67 KDa es muy similar a la de Fim A habiendo mayor diferencia en la cantidad de prolina, glicina, treonina y tirosina, <sup>(95)</sup> pero son antigénica y genéticamente distintas. <sup>(96)</sup>

La fimbria mayor y la menor están implicadas en la adherencia de *P. gingivalis* a *Streptococcus gordonii*. Fim A interactúa con componentes de *S. gordonii* que no han sido aún identificados. En contraste Mfa1 contribuye a la coagregación por la unión específica de polipéptidos Ssp de *S. Gordonii*.<sup>(97)</sup> La adherencia es mediada por un discreto dominio designado BAR, el cual comprende los residuos 1167- 1250 de SspB y SspA.<sup>(98)</sup> Dentro de BAR, se sugiere que Asn1182 y Val1185 confieren una única estructura secundaria, por la cual es reconocida y unida Mfa1 de *P. Gingivalis* a *S. gordonii*<sup>(99)</sup>(Fig. 10)



A

B

Fig. 10. A. *P. gingivalis* (verde) adherida a *S. gordonii* (rojo). B. Mutante de *S. gordonii* (rojo) con Ssp deficiente.<sup>(88)</sup>

Existen residuos de aminoácidos específicos en PRP1 que proveen una unión estructural a la fimbria de *Porphyromonas gingivalis*<sup>(88)</sup>. Secuencias comunes que comprenden VLVxxN y xYDxxxT (donde x es cualquier aminoácido) son encontradas dentro de las regiones de unión de PRP-1 y estaterina a *P. gingivalis* respectivamente. Con base en estas observaciones, se ha propuesto que la actividad colectiva de todos estos dominios puede ser importante en la asociación estable de fimbriлина con receptores salivales, estableciendo la adherencia bacterial a la película adquirida. La funcionalidad de algunos receptores de fimbriлина son parcialmente comprendidos. La unión de estaterina con fimbriлина sólo se puede llevar a cabo cuando la estatenna se encuentra en una superficie sólida como la hidroxiapatita. PRP también necesita la exposición de su criptitope para la unión con *P. gingivalis*.

Se ha encontrado una proteína de 48 KDa en células epiteliales gingivales que actúa como receptor para fimbrias de *P. gingivalis*<sup>(100)</sup>.

La función primordial de las proteasas secretadas por bacterias asacarolíticas como *P. gingivalis* es proveer nutrientes para su crecimiento. Al menos 8 proteasas han sido descritas para *P. gingivalis* y su actividad participa en provisión de aminoácidos, péptidos y grupos hemo para su crecimiento y provisión de sustratos para la adhesión bacteriana. La función enzimática y adhesiva de proteasas de *P. gingivalis* se encuentran íntimamente conectadas. En el proceso de adhesión y degradación participan las fimbrias y proteasas específicas de Arginina (Arg-x)<sup>(101)</sup> y Lisina

(Lys-x)<sup>(102)</sup> Dependiendo del sustrato, estas proteasas son parecidas a la tripsina y dependiendo de la bioquímica pertenecen a la familia de las proteasas de cisteína.

Se han clonado y secuenciado genes que codifican proteasas de cisteína de *P. gingivalis*. Las proteasas con actividades enzimáticas proteolíticas que fueron purificadas o semipurificadas se les asignaron diferentes nombres, gingivaina, gingipaina y argingipaina. Todas ellas describen actividades de proteasa de Arg-x, por lo que probablemente se este hablando de la misma Arg-x.

Se ha designado a los genes que codifican enzimas Arg-x-específica como *rgp* y a los que codifican enzimas Lys-x-específica como *kgp*. Los genes que codifican proteasa Arg-x- y Lys-x- de diferentes cepas de *P. gingivalis* han sido aislados y secuenciados (Tabla 7).

Especificidad del sustrato	Genes homólogos
Arg-x	<i>rgp-1</i> (HG66), <i>rgpA</i> (ATCC33277), <i>prpR1</i> (W50), <i>prrR</i> (W50), <i>prrH</i> (W83), <i>agp</i> (381), <i>cpgr</i> (ATCC33277)
Arg-x	<i>rgp-2</i> (HG66) <i>rgpB</i> (ATCC33277), <i>prrR11</i> (W50), <i>prrR2</i> (W50).
Lys-x	<i>kgp</i> (HG66), <i>prrK</i> (W50), <i>prrP</i> (W12)

Tabla 7. Proteasas de *P. gingivalis*: sustratos específicos y genes.<sup>(17)</sup>

Los genes dentro de las dos familias de las proteasas Arg-x exhiben algunas diferencias en secuencia y en organización en la región de codificación dentro de los genes. La mayor diferencia entre las dos familias de Arg-x es la ausencia de dominios de adhesión y hemaglutinación en el segundo grupo (rgp-2, etc).

*P. gingivalis* tiene dos genes homólogos que codifican para la proteasa Arg-x, un gen que codifica para la proteasa Lys-x (Tabla 7) y tres genes que codifican para colagenasa (PrtC), para la proteasa estreptopaina (PrtT), y peptidasa-Pz (Tpr) La actividad de estos productos de genes clonados explican la mayoría de la variedad de sustratos degradados por *P. gingivalis*. La actividad enzimática para el producto de un gen sencillo está presente como diversas especies moleculares y son complejas con el producto de ambos genes homólogos y genes heterólogos, por lo que ha sido muy difícil acertar inequívocamente la especificidad del sustrato de proteasas individuales para *P. gingivalis*<sup>(103)</sup> Estudios de unión con proteinazas Arg-x y Lys-x Rgp y Kgp, respectivamente, muestran que unen y degradan fibrinógeno, fibronectina y laminina

*P. gingivalis* se une y degrada fibronectina plasmática humana, laminina, fibrinógeno y colágena. La hidrólisis de fibronectina u otras proteínas de la matriz como colágena son realizadas a través de proteasas Arg-x- específica (RgpA y RgpB) de *P. Gingivalis*. Este proceso aumenta la unión de la fibra al sustrato<sup>(104)</sup> Las proteasas son capaces de exponer secuencias dentro de moléculas proteicas de la matriz del hospedero que

tienen residuos de C- terminal Arg, promoviendo adhesión de bacterias a través de interacciones arginina- fimbria.

La producción y actividad de fimbria mayor es modulada por actividad proteolítica. Este control aparentemente ocurre al menos en tres niveles: modulación transcripcional, modificación postraduccional y activación de sustrato.

El trabajo de Onoe et al.<sup>(105)</sup> Sugiere un papel para proteasa parecida a la tripsina en el proceso del péptido líder para el precursor de fimbriolina. La subsecuente observación de Nakayama et al.<sup>(106)</sup> de que en la cepa ATCC 33277 usando dobles mutantes para *rgpA* *rgpB* se observaron muchas menos fimbrias en la superficie comparado con las cepas mutantes simples *rgpA* o *rgpB* con bacterias silvestres, demostrando que la producción fimbrial requiere de expresión de proteasas Arg-x y Lys-x. Este dato sugiere que la actividad de proteasas es necesaria para el proceso y maduración de fimbriolina y modificación de otras proteínas asociadas a la superficie celular. El control de los niveles transcripcionales es inferido en base al descubrimiento de la inactivación de *rgp 1* ( Arg-x proteasa) gen en *P. gingivalis* resultado en la reducción de la producción de la 43 KDa subunidad de fimbriolina como reducida la transcripción de Fim A. El tercer nivel control, activación de sustrato, es facilitado por la habilidad de *P. gingivalis* a unirse a y degradar fibronectina plasmática, laminina, fibrinógeno y colágena. Ambas, fimbria y las proteasas Arg-x y Lys-x- específica están asociadas con este proceso de unión y degradación.

Las proteasas de *P. gingivalis* pueden contribuir la exposición de receptores de adherencia de los dominios de unión criptotipos en moléculas del hospedero y potencialmente en células epiteliales y otras bacterias.

*P. gingivalis* produce al menos cinco tipos de hemaglutininas, cuando están expresadas en la superficie de la bacteria, las hemaglutininas pueden promover la colonización mediante la unión de bacteria al receptor en células humanas. *P. gingivalis* utiliza grupos hemo para su crecimiento, la unión de la bacteria a eritrocitos también sirve como función nutricional.<sup>(107)</sup>

## Conclusiones

La adhesión bacteriana es un mecanismo complejo en el cual interactúan diferentes fuerzas de unión, moléculas y condiciones ambientales, estas últimas determinan la presencia de diferentes bacterias dependiendo sus características biológicas.

En la cavidad bucal existe una gran diversidad de bacterias en la microbiota, las cuales se adhieren a los diferentes tejidos. La adhesión es uno de los primeros pasos para la colonización, por lo que es importante el entendimiento de ésta, para la comprensión de la formación de la biopelícula.

La relación entre las diferentes adhesinas y sus receptores hacen que existan diferentes mecanismos de adhesión para cada especie de bacteria bucal. Esto le confiere la propiedad de especificidad para los diferentes sustratos del hospedero al igual que para la coagregación bacteriana entre bacterias de la misma o diferente especie.

## Bibliografia

- <sup>1</sup> Stanley CH, Proguiske A. General microbiology metabolism and genetics, en: Oral microbiology and immunology. Newman MG, Nisengard R. USA 1988: 118-120.
- <sup>2</sup> Kwan-yat Zee, Lakshman PS, Attström R: Predominant cultivable supragingival plaque in chinese "rapid" and "slow" plaque formers J Clin Periodontol. 1996; 23:1025 - 1031.
- <sup>3</sup> Marsh PD: Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res 1994; 2: 263-271.
- <sup>4</sup> Listgarten MA: Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. J Periodontol. 1976; 47: 1-18.
- <sup>5</sup> Gibbons RJ, Van Houte: Bacterial adherence and the formation of dental plaques. en: Bacterial adherence Receptors and recognition. London 1980, Series B, Vol 6: 61-104.
- <sup>6</sup> Demuth DR, Gloub EE, Malamud D: Streptococcal- host interactions Structural and funtional analysis of *Streptococcus sanguis* receptors for human salivary glycoprotein. J Biol Chem 1990; 265: 7120-7126
- <sup>7</sup> Rosan B. Mechanisms of oral colonization. en: Contemporary oral microbiology and immunology Slots J, Taubman M USA 1991: 283
- <sup>8</sup> Schüe AA: Mechanisms of dental plaque formation J Periodontol 1994; 8: 246-253.
- <sup>9</sup> Socransky SS: Microbiology of periodontal disease- Present status and future considerations J Periodontol 1977; 48: 497-504
- <sup>10</sup> Quirynen M & Bollen CML: The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man J Clin Periodontol. 1995; 22: 1-14
- <sup>11</sup> Nyvad B & Ferjeskov O: Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces *in vivo* Scandinavian Journal of Dent Res 1987; 95: 287-296

- 
- <sup>12</sup> Naito Y & Gibbons RJ: Attachment of *Bacteroides gingivalis* to collagenous substrata. J Dent Res. 1988; 67: 1075-1080.
- <sup>13</sup> Adriaens PA, Edwards CA, De Boever JA & Loesche WJ: Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth. J Periodontol. 1988; 59: 493-503.
- <sup>14</sup> Liakoni H, Barber PM & Newman HN: Bacterial penetration on pocket soft tissues in chronic adult and juvenile periodontitis cases. An ultrastructural study. J Clin Periodontol. 1987; 14: 22-28.
- <sup>15</sup> Lenderberg. Encyclopedia of microbiology. Second edition. Academic Press, NY 2000: pg 35.
- <sup>16</sup> Williams DM, Huges FJ, Odell EW, Farthing PM: Pathology of Periodontal Disease. Oxford Medical Publications. 1992: 47.
- <sup>17</sup> Marsh PD, Bradshaw DJ. Physiological approaches to the control of oral biofilms. Adv Res. 1997, 1:176-185.
- <sup>18</sup> Marsh PD: The significance of maintaining the stability of the natural microflora of the mouth. Br Dent J 1991; 171: 174-177
- <sup>19</sup> Mc Dermid AS, Mc Kee AS, Marsh PD. Interactions and pH optima for growth of three black-pigmented *Bacteroides* species (abstract) J Dent Res 1990; 69: 999.
- <sup>20</sup> Marsh PD. Microbiological aspects of the Chemical Control of Plaque and Gingivitis. J Dent Res 1992; 71: 1431-1438
- <sup>21</sup> Bowden GHW. Nutritional Influences on biofilm development. Adv Dent Res. 1997; 11: 81-99
- <sup>22</sup> Bowden GHW. Nutritional Influences on biofilm development. Adv Dent Res. 1997; 11: 81-99
- <sup>23</sup> Marshall KC, Stout R, Mitchell R. Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. J Gen Microbiol. 1971; 68: 337-348
- <sup>24</sup> Rutter P R & Vincent B. Physicochemical interactions of the substratum, microorganisms and the fluid phase. Microbiological adhesion and aggregation 1984, ed Marshall, K C: 21-38

- 
- <sup>25</sup> Busscher H J & Weerkamp A H: Specific and non specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata. FEMS Microbiology. Review 1987; 46: 165-173
- <sup>26</sup> Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W & Zehnder AJB: Bacterial adhesion a physiochemical approach. Microbial Ecology. 1989; 17: 1-15
- <sup>27</sup> Krekeler C, Ziehr H & Klein J: Physical Methods for characterization of microbial cells surfaces. Experientia. 1989; 45: 1047-1055
- <sup>28</sup> Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W, Zehnder AJB: Influence of interfaces on microbial activity. Microbiol Rev. 1990; 54: 75-87.
- <sup>29</sup> Uyen HM, Van der Mei HC, Weerkamp AH & Busscher HJ: Comparison between the adhesion to solid substrata of *Streptococcus mitis* and that of polystyrene particles. Applied and environmental Microbiology 1988; 54: 837-838.
- <sup>30</sup> Quiriyen M and Bollen. The influence of surface roughness and surface- free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. J Clin Period. 1995; 22: 1-14.
- <sup>31</sup> Voet D, Voet JG: Bioquimica 1990; ed Omega S A. 187,188
- <sup>32</sup> Olsson J, Glantz PO, Krasse B: Surface potential and adherence of oral streptococci to solid surfaces. Scan J Dent Res. 1976; 84: 240-242
- <sup>33</sup> Scheie AA: Mechanisms of Dental Plaque Formation. Adv Dent Res. 1994; 8: 246-253.
- <sup>34</sup> Christersson LA, Zambon JJ and Genco RJ: Dental bacterial plaques. Nature and role in periodontal disease. J Clin Periodontol. 1991; 18: 441-446
- <sup>35</sup> Gibbons RJ: Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. J Dent Res. 1989; 68: 750-760
- <sup>36</sup> Gibbons RJ, Van Houte: Bacterial adherence and the formation of dental plaques. In: Bacterial adherence: Receptors and recognition, 1980. Series B, Vol 6 ed London: 61-104

- 
- <sup>37</sup> Gibbons RJ, Qureshi JV: Selective binding of blood group- reactive salivary mucins by *Streptococcus mutans* and other oral organisms. *Infect Immun.* 1978; 22: 665-671.
- <sup>38</sup> Gibbons RJ, Hay DI, Cisar JO, Clark WB: Adsorbed salivary proline- rich protein I and statherin: receptors for type I fimbriae of *Actinomyces viscosus* T14V-J1 on apatite surfaces. *Infect Immun.* 1988; 56: 2990-2993.
- <sup>39</sup> Kataoka K, Amano A, Kubonwa M, Horie H, Nagata Hideki, Shizukuishi S: Active sites of salivary Proline- Rich Protein for Binding to *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Infect Immun.* 1997;65 3159-3164.
- <sup>40</sup> Azen EA, Denniston C. Genetic Polymorphism of PIF (Parotid Isoelectric Focusing Variant) Proteins with Linkage to the PRP Parotid Proline- rich Protein) Gene Complex. *Biochem Genetics* 1981, 19: 475-485
- <sup>41</sup> Bennick A: Structural and genetic aspects of proline-rich Proteins. *J Dent Res.* 1987; 66: 457-461.
- <sup>42</sup> Hay DI: Human glandular salivary proteins. In: *CRC Handbook of experimental Aspects of Oral Biochemistry* 1983, ed Boca raton: 319-335.
- <sup>43</sup> Gibbons RJ: Bacterial adhesion to oral tissues. A model for infectious diseases. *J Dent Res.* 1989; 68: 750-760
- <sup>44</sup> Moreno EC, Kresak M, Hay DI. Adsorption thermodynamics of acidic Proline rich salivary proteins onto calcium apatites. *J Biol Chem* 1982, 257: 2981-2989
- <sup>45</sup> Rundegren J, Arnold RR. Differentiation and interaction of secretory immunoglobulin A and a calcium-dependent parotid agglutinin for several bacterial strains. *Infect Immun* 1987 a, 55: 288-292
- <sup>46</sup> Rundegren JL, Arnold RR. Bacterial-agglutinating characteristics of secretory IgA and a salivary agglutinin. *Adv Mrd Biol* 1987b, 216(B): 1005-1013
- <sup>47</sup> Ellen RP. Specificity of attachment as a tissue- troppic influence on oral bacteria. en: *Molecular basis of oral microbial adhesion* 1985, eds Mergenhausen SE & Rosan B 33- 39
- <sup>48</sup> Van Houte J. Bacterial adherence in the mouth. *Reviews of infectious Diseases* 1983; 5 (supl4) 659-669

- 
- <sup>49</sup> Gibbons RJ: Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth: J Dent Res 1984; 63: 378- 385.
- <sup>50</sup> Gibbons RJ, Cohen L & Hay DI Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors: Infect Immun. 1986; 52: 555-561.
- <sup>51</sup> Kolenbrander PE, Andersen RN: Multigenic aggregations among oral bacteria: network of independent cell-to-cell interactions J Bacteriol. 1986; 168:851-859.
- <sup>52</sup> Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Huges CV: Coaggregation, specific adherence among human oral plaque bacteria. FASEB J 1993; 7 406-413.
- <sup>53</sup> Murray PA, Parakobphol A, Lee T, Hoover CI, Fisher SJ: Adherence of oral streptococci to salivary glycoproteins Infect Immun. 1992, 60: 31- 38.
- <sup>54</sup> Brex M, Theilade J & Attström R. An ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early dental plaque growth. J Periodont Res 1983;18 177-176
- <sup>55</sup> Handley PS, Carter PL, Fielding J. *Streptococcus salivarius* strains carry either fibrils or fimbriae on the cell surface. J Bacteriol. 1984; 157: 64-72
- <sup>56</sup> Handley PS, Carter PL, Wyatt JE and Hesketh LM: Surface structures ( Peritrichous fibrils and tufts of fibrils) found on *Streptococcus sanguis* strains may be related to their ability to coaggregate with other oral genera Infect Immun. 1985; 47 217- 227
- <sup>57</sup> Frandsen, EVG, Pedrazzoli V, and M Kilian Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. Oral Microbiol Immunol 1991, 6 129- 133
- <sup>58</sup> Hasty DL, Ofek I, Courtney HS, and Doyle RJ. Minireview. Multiple adhesions of streptococci Infect Immun. 1992, 60 2147- 2152
- <sup>59</sup> Kolenbrander PE, and London J. Adhere today, here tomorrow, oral bacterial adherence J Bacteriol. 1993, 175 3247 - 3252
- <sup>60</sup> Jenkinson HF, and Demuth DR. Structure, function and immunogenicity of streptococcal antigen I/ II polypeptides Mol Microbiol 1997, 23 183-190.

- 
- <sup>61</sup> Lamont RJ, Gil S, Demuth DR, Malamud D, and Rosan B: Molecules of *Streptococcus gordonii* that bind to *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology*. 1994; 140: 867-872.
- <sup>62</sup> Fives-Taylor PM, Macrina FL, Pritchard TJ, and Peene SS: Expression of *Streptococcus sanguis* antigens in *Escherichia coli*: cloning of a structural gene for adhesion fimbriae. *Infect Immun*. 1987; 55: 123-128.
- <sup>63</sup> McNab R, Jekinson HF, Loach DM, and Tannock GW: Cell- surface- associated polypeptides CshA and CshB of high molecular mass are colonization determinants in the oral bacterium *Streptococcus gordonii*. *Mol Microbiol* 1994; 14: 743- 754.
- <sup>64</sup> McNab R, Holmes AR, Clarke JM, Tannock GW, and Jekinson HF: Cell surface polipeptide CshA mediates binding of *Streptococcus gordonii* to other oral bacteria and to immobilized fibronectin. *Infect Immun*. 1996, 64: 4204- 4210.
- <sup>65</sup> Cisar JO, Takahashi Y, Ruhl S, Donkersloot JA, Sandberg AL: Specific inhibitors of bacterial adhesion: observations from the study of Gram-positive bacteria that initiate biofilm formation on the tooth surface. *Adv Dent Res* 1997; 11: 168-175.
- <sup>66</sup> Donkersloot JA, Cisar JO, Wax ME, Harr RJ, Chassy BM: Expression of *Actinomyces viscosus* antigens in *Escherichia coli*: cloning of a structural gene (*fmA*) for type 2 fimbriae. *J Bacteriol*. 1985; 162: 1075-1078.
- <sup>67</sup> Newman MG, Nisengard R: *Oral Microbiology and Immunology*. WB Saunders Company 1988: 181.
- <sup>68</sup> Clark WB, Beem JE, Nesbitt WE, Cisar JO, Tsen CC, Levine MJ: Pellicle receptors for *Actinomyces viscosus* type 1 fimbriae *in vitro*. *Infect Immun* 1989; 57: 3003-3008.
- <sup>69</sup> Gibbons RJ, Hay DI, Cisar JO, Clark WB: Adsorbed salivary proline- rich protein I and statherin: receptors for type 1 fimbriae of *Actinomyces viscosus* T14V-J1 on apatitic surfaces. *Infect Immun* 1988; 56: 2990- 2993.
- <sup>70</sup> Gibbons RJ, Hay DI, Childs WC III, Davis G: Role of cryptic receptors (cryptitopes) in bacterial adhesion to oral surfaces. *Arch Oral Biol* 1990; 35: 107- 114.

- 
- <sup>71</sup> Mc Intire FC, Crosby LK, Vatter AE et al: A polysaccharide from *Streptococcus sanguis* 34 that inhibits coaggregation of *S. sanguis* 34 with *Actinomyces viscosus* T14V. *J Bacteriol.* 1988; 170: 2229-2235.
- <sup>72</sup> Lamont RJ, Jenkinson HF. Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immun.* 2000; 15: 341-349.
- <sup>73</sup> Travis J, Potempa J y Maeda H: Are bacterial proteinases pathogenic factors?. *Tmd Microbiol.* 1995; 3: 405-407
- <sup>74</sup> Amano A, Sharma A, Lee Y, Genco RJ: Structural domains of *Porphyromonas gingivalis* recombinant fimbriin that mediate binding to salivary proline-rich protein and statherin. *Infect Immun.* 1996; 64: 1631-1637.
- <sup>75</sup> Amano A, Shizukuishi H, Kimura S, Hamada S: Binding of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae to proline-rich glycoproteins in parotid saliva via a domain shared by major salivary components. *Infect Immun.* 1998; 66: 2072-2077.
- <sup>76</sup> Weinberg A, Belton M, Park Y y Lamond RJ: Role of fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun.* 1997; 65: 313-316.
- <sup>77</sup> Isogai H, Isogai E, Yoshimura F, Suzuki T, Kagota W, Takano K: Specific inhibition of adherence of an oral strain of *Bacteroides gingivalis* 381 to epithelial cells by monoclonal antibodies against the bacterial fimbriae. *Arch Oral Biol* 1988; 33: 479-485.
- <sup>78</sup> Slots J, Gibbons RJ: Attachment of *Bacteroides melaninogenicus* subsp *accharolyticus* to oral surfaces and its possible role in colonization of the mouth and of periodontal pockets. *Infect Immun.* 1978; 19: 254-265.
- <sup>79</sup> Kontani M, Ono H, Shibata H, et al: Cysteine protease of *Porphyromonas gingivalis* 381 enhances binding of fimbriae to cultured human fibroblasts and matrix proteins. *Infect Immun.* 1996; 64: 756-762.
- <sup>80</sup> Naito T, Gibbons RJ: Attachment of *Bacteroides gingivalis* to collagenous substrata. *J Dent Res* 1988; 67: 1075-1080.
- <sup>81</sup> Lamont RJ, Jenkinson HF: Life below the gum line: Pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microb and Mol Biol Rev.* 1998; 62: 1244-1263.

- <sup>82</sup> Okuda K, Slls J y Genco RJ: *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides asaccharolyticus* y *Bacteroides melanogenicus* sub- species: cell surface morphology and adherence to erythrocytes and human buccal epithelial cells. *Curr Microbiol.* 1981; 6:7-12.
- <sup>83</sup> www.pggingivalis.org
- <sup>84</sup> Dickinson DP, Kubinic MA, Yoshimura F, and Genco RJ: Molecular cloning and sequencing of the gene encoding the fimbrial subunit protein of *Bacteroides gingivalis*. *J Bacteriol.* 1988; 170: 1658- 1665.
- <sup>85</sup> Xie H, Lamont RJ: Promoter architecture of the *Porphyromonas gingivalis* fimbriillin gene. *Infect Immun.* 1999; 67: 3227- 3235.
- <sup>86</sup> Loesche WJ: DNA probe and enzyme analysis in periodontal diagnosis. *J Periodontol.* 1992; 63: 1102-1109
- <sup>87</sup> Barkocy TJ, Ward W, Aitken A, Knutton S. Analysis of the ptrP gene encoding porphypain, a cysteine proteinase of *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol.* 1996; 178: 2734-2741.
- <sup>88</sup> Nakayama K, Yoshimura F, Kadowaki T, Yamamoto K. Involvement of argine of specific cysteine proteinase (argingypain) in fimbriation of *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol.* 1996; 178: 2818-2824
- <sup>89</sup> Amano A, Sharma A, Sojar HT, Kuramitsu HK, Genco RJ. Effects of temperature stress on expression of fimbriae and superoxide dismutase by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 1994; 62: 4682 - 4685
- <sup>90</sup> Mckee AS, McDermud AS, Baskerville A, Dowcett AB, Ellwood DC, Marsh PD: Effect of hemin on the physiology and virulence of *Bacteroides gingivalis* W50. *Infect Immun.* 1986; 52: 349-355
- <sup>91</sup> Nagata H, Sharma A, Sojar HT, Amano A, Levine MJ y Genco RJ. Role of the carboxyl- terminal region of *Porphyromonas gingivalis* fimbriillin in binding to salivary proteins. *Infect Immun.* 1997; 65: 422-427
- <sup>92</sup> Kataoka K, Amano A, Kubonwa M, Horie H, Nagata H and Shizukuishi SÑ. Active sites of Salivary Proline- rich protein for binding to *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Infect Immun.* 1997; 65: 3159- 3164
- <sup>93</sup> Sojar HT, Lee JH y Genco RJ. Fibronectin binding domain of *P. gingivalis* fimbriae. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 216: 785-792.

- 
- <sup>94</sup> Hamada N, Sojar HT, Cho MI, y Genco RJ: isolation and characterization of a minor fimbria from *Porphyromonas gingivalis*. Infect Immun. 1996; 64: 4788-4794.
- <sup>95</sup> Hamada N, Sojar HT, Cho M and Genco RJ: Isolation and characterization of a minor fimbria from *Porphyromonas gingivalis*. Infect Immun. 1996; 64: 4788-4794.
- <sup>96</sup> Arai M, Hamada N & Umemoto T: Purification and characterization of a novel secondary fimbrial protein from *Porphyromonas gingivalis* strain 381. FEMS Microbiol Lett. 2000; 93: 75-81.
- <sup>97</sup> Lamont RJ, El-Sabaney A, Park Y, Cook GS, Costerton JW and Demuth DR: Role of *Streptococcus gordonii* SspB protein in the development of *Porphyromonas gingivalis* biofilms on streptococcal substrates. Microbiology. 2002; 148: 1627- 1636.
- <sup>98</sup> Brooks W, Demuth DR, Gil S and Lamont RJ: Identification of a *Streptococcus gordonii* SspB domain that mediates adhesion to *Porphyromonas gingivalis*. Infect Immun; 65: 3753- 3758.
- <sup>99</sup> Demuth DR, Irvine DC, Costerton JW, Cooks GS and Lamont RJ: Discrete protein determinant directs the species- specific adherence of *Porphyromonas gingivalis* to oral streptococci. Infect Immun. 2001; 69: 5736- 5741.
- <sup>100</sup> Lamont RJ, Chan A, Belton CM, Izutzu KT, Vasel D, Weinberg A. *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial calla. Infect Immun. 1995; 63: 3878-3885.
- <sup>101</sup> Pike RN, Potempa J, Mc Graw W, Coetzer THT, Travis J. Characterization of the binding activities of proteinase- adhesin complexes from *Porphyromonas gingivalis*. J Bacteriol 1996; 178: 2876-2882.
- <sup>102</sup> Lantz MS, Allen RD, Duck LW, Blume JL, Switalski LM, Hook M. Identification of *Porphyromonas gingivalis* components that mediate its interactions with fibronectin. J Bacteriol. 1991; 173: 4263-4270.
- <sup>103</sup> DeCarlo A and Herber GJ. Hemagglutinin activity and heterogeneity of related *Porphyromonas gingivalis* proteinases. Oral Microbiol Immun. 1997; 12: 47- 56.

- 
- <sup>104</sup> Kontani M, Ono H, Okamura Y, Tanaka T, Fujiwara T: Cysteine protease of *Porphyromonas gingivalis* 381 enhances binding of fimbriae to cultured human fibroblasts and matrix proteins. *Infect Immun* 1996; 64: 756-762.
- <sup>105</sup> Onoe TC, Hoover K, Nakayama T, Ideka H and Yoshimura F: Identification of *Porphyromonas gingivalis* prefimbriin possessing a long leader peptide: possible involvement of trypsin-like protease in fimbriin maturation. *Microb Pathog*. 1995; 19: 351-364.
- <sup>106</sup> Nakayama K, Yoshimura F, Kadowaki T and Yamamoto K: Involvement of arginine-specific cysteine proteinase (Arg-gingipain) in fimbriation of *P. gingivalis*. *J Bacteriol*. 1996, 178: 2818-2824.
- <sup>107</sup> Lepine G and Progulske-Fox A: Duplication and differential expression of hemagglutinin genes in *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol. Immun*. 1996;64: 4802-4810

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN