



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

***Actinobacillus actinomycetemcomitans* EN LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

JAZMÍN CHAVARRÍA Y ARANA

DIRECTORA: DRA. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS

MÉXICO D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

- *Agradezco a mi distinguida Casa de Estudios (Universidad Nacional Autónoma de México) el haberme dado la oportunidad de cursar la carrera de Cirujana Dentista.*
- *Un gran agradecimiento a la Dra. Gloria Gutiérrez Venegas por su dirección de esta tesis y ayuda para entrar a ese maravilloso mundo de la bioquímica.*
- *También agradezco al Mtro. Javier de la Fuente Hdez., director de la Facultad de Odontología, por su visión, ya que con sus brillantes ideas a llevado a la misma a su engrandecimiento.*
- *A los integrantes del laboratorio de bioquímica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Fac. de Odontología por su compañerismo, apoyo, conocimientos y por hacer de mi estancia en ese lugar una experiencia fantástica.*
- *Y a todos mis profesores con verdadero espíritu de la enseñanza.*

*A mis padres, Benny y Sergio, que han
procurado guiarme lo mejor posible.*

*A mi novio Omar que ha estado conmigo
en las buenas y en las malas.*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	7
ENFERMEDAD PERIODONTAL	
Aspectos generales.....	9
Clasificación.....	10
Periodontitis agresiva	11
Epidemiología.....	13
Patogénesis.....	15
Microbiología.....	17
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	
Características generales.....	20
Adherencia	23
Diversidad serológica.....	26
Invasión a la célula del hospedero	27
Factores de virulencia.....	31
Leucotoxina	32
Toxina de Distensión Citoletal	38
Lipopolisacárido	42
Proteínas de choque térmico	46
Proteínas de membrana externa.....	52
CONCLUSIONES.....	57
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	60
ANEXOS	
Glosario	65
Tablas	78

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral humana está colonizada por más de 500 diferentes especies bacterianas ^(1,2), la mayoría de las cuales son inocuas y mantienen una homeostasis entre la microbiota periodontal ^(3, 4).

La enfermedad periodontal comprende un grupo de estados inflamatorios inducidos por bacterias específicas de la placa dental ⁽⁵⁾ en los tejidos del soporte dentario, o periodonto, integrado por encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar ⁽³⁾. La placa dentobacteriana es una comunidad organizada de microorganismos vivos, formada habitualmente por numerosas especies y cepas incluidas dentro de una matriz extracelular formada por productos del metabolismo bacteriano, así como por sustancias del suero, saliva y la dieta. Esta biopelícula se localiza en la región supragingival o subgingival.

La colonización de la placa subgingival por ciertas especies puede conducir a la infección del periodonto resultando en una gingivitis y periodontitis ⁽⁴⁾. Sigmud Socransky, investigador de Forsyth Dental Center, en E.U., propuso las siguientes pautas por medio de las cuales podría juzgarse a los gérmenes periodontales como potencialmente patógenos. Según tales criterios, un patógeno potencial tiene que:

1. Guardar relación con la enfermedad, probada por incrementos de la cantidad de microorganismos en sitios afectados.
2. Eliminarsse o disminuir en zonas con resolución clínica de la enfermedad mediante tratamiento.
3. Demostrar una reacción del huésped, en la forma de una alteración de la respuesta inmunitaria celular o humoral del sujeto.
4. Ser capaz de causar enfermedad en modelos animales experimentales.
5. Demostrar factores de virulencia que permitan que el microorganismo genere destrucción de los tejidos periodontales ⁽⁵⁾.

Las enfermedades periodontales humanas resultan de etiologías heterogéneas incluyendo una biopelícula compleja en el microambiente subgingival, modulaciones sociales y de conducta, y características genéticas del hospedero, cada una de las cuales es influenciada y/o modulada por las respuestas inflamatorias e inmunes del hospedero. Recientes avances en el campo sugieren que el mecanismo inmune asociado a la periodontitis es un arma de doble filo, conformado por el combate de los patógenos invasores por un lado y por el otro provocando daño tisular en el hospedero ⁽³⁾.

Una de las formas más severas de enfermedad periodontal es la periodontitis agresiva localizada (LAP) ⁽⁶⁾, en la cual, el patógeno periodontal *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ha sido demostrado ser el patógeno primario ^(2,7,8,9,10).

ANTECEDENTES

La enfermedad periodontal es muy común y puede afectar a más del 90% de la población mundial ⁽¹⁾.

En las dos décadas pasadas, ha habido un considerable interés en el estudio de los papeles de diferentes células que participan en la inmunidad innata en las enfermedades periodontales. Se ha demostrado ⁽³⁾ que ambas respuestas inmunes adquiridas, humoral y mediada por células, juegan papeles importantes en la defensa del hospedero contra enfermedades infecciosas microbianas así como en la periodontitis humana.

A mediados del siglo XX se creía que la enfermedad periodontal era el resultado de la acumulación de la placa a través del tiempo, junto con una menor reacción y mayor susceptibilidad del huésped con la edad. Diversas observaciones objetaron tales conclusiones.

En 1976, Walter Loesche, formuló la *hipótesis de las placas inespecífica y específica*. La *hipótesis de la placa inespecífica* sostiene que la enfermedad periodontal surge de la “elaboración de productos nocivos por toda la microflora de la placa”, según lo cual, el huésped neutraliza los productos nocivos cuando sólo hay cantidades pequeñas de placa; asimismo, cantidades grandes de placa producirían cantidades grandes de productos nocivos que superarían las defensas del huésped.

La *hipótesis de la placa específica* asume que sólo cierta proporción de la placa es patógena y que su patogenicidad depende de la presencia o el incremento de microorganismos específicos ⁽⁵⁾.

Desde hace algunas décadas se ha incrementado la atención enfocada a la cavidad oral. Como recientemente se argumentó, hay una presión necesaria para entender cómo nuestra microbiota interactúa con nosotros ⁽⁶⁾.

Se han alcanzado avances importantes en las técnicas usadas para aislar e identificar microorganismos periodontales y con ello la depuración considerable de la taxonomía bacteriana ⁽⁵⁾. Han sido reportados muchos métodos para la detección rápida de patógenos periodontales, así como pruebas inmunológicas e inmunoenzimáticas, electroforesis de proteínas e hibridización DNA-DNA. Estos métodos muestran diferentes limitaciones conduciendo a resultados falso-positivos, así como también reactividad cruzada ⁽¹¹⁾. Métodos moleculares de amplificación de rRNA 16S revelan aún más vistas diversas de la flora bacterial subgingival y sugiere que una gran proporción de este ambiente microbiano familiar y bien estudiado permanece sin caracterizar ⁽¹⁾.

ENFERMEDAD PERIODONTAL

Aspectos generales

La gingivitis es la expresión más ligera de la enfermedad periodontal ⁽¹⁾. Los hallazgos más frecuentes de la gingivitis son eritema, edema, agrandamiento de los tejidos y hemorragia ⁽⁵⁾.

La periodontitis es una condición inflamatoria crónica, destructiva y multifactorial ^(2,12). Comparte con la gingivitis características clínicas de la inflamación pero en la periodontitis se observa la destrucción de los tejidos de soporte del diente que incluye, pérdida de inserción clínica, formación de bolsas periodontales y la pérdida de hueso alveolar ^(5,13). La periodontitis severa puede originar la pérdida dental, dolor ocasional e incomodidad, y dificultad en la masticación ⁽¹⁾. **(Fig. 1)**



Fig. 1. Región anterior mandibular de una mujer de 55 años con periodontitis crónica. (a) Notar que la papila interproximal entre el canino e incisivo lateral es roja y aumentada de volumen. (b) Sangrado ligero al sondear en el mismo sitio. Notar los 7 mm de profundidad al sondear el sitio. La pérdida de adherencia clínica es un poco menor que 7 mm puesto que el margen gingival es coronal al unión cemento esmalte (no visible). La combinación de inflamación gingival más la considerable cantidad de pérdida de adherencia clínica indican que el sitio tiene periodontitis. (Armitage GC. *The complete periodontal examination*. Periodontology 2000. 2004; 34: 22- 33)

En la bolsa periodontal, microbios orales y sus productos pueden penetrar la mucosa oral y entrar a la circulación periférica. Hay evidencia que relaciona a

las infecciones dentales crónicas, especialmente la periodontitis, con un riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular ⁽²⁾. La periodontitis en general es más común en países en desarrollo.

Clasificación

Del treinta de octubre al dos de noviembre de 1999 se celebró el “Simposio Internacional para la Clasificación de las Enfermedades y Condiciones Periodontales”. El proceso incluyó la creación de un perfil para la nueva clasificación debido a que las anteriores tenían muchas desventajas careciendo de detalles necesarios para una adecuada caracterización del amplio espectro de las enfermedades periodontales encontradas en la práctica clínica (**ver Anexos, Tabla I**).

Dentro de los cambios en el Sistema de Clasificación se adicionó la sección de “**enfermedades gingivales**” y se reemplazó el término de “periodontitis del adulto” por “**periodontitis crónica**”; así mismo el reemplazo de “periodontitis de inicio temprano “ que incluye periodontitis prepuberal, juvenil y rápidamente progresiva por “**periodontitis agresiva**”; se eliminó la categoría separada para la “periodontitis refractaria”; se esclareció la designación “**periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas**”; el reemplazo de “periodontitis ulcerativa crónica” por “**enfermedades periodontales necrosantes**”; la adición de las categorías “**absceso periodontal**”, “**lesiones periodóncicas- endodóncicas**”(Fig. 2) y “**deformidades y condiciones del desarrollo o adquiridas**”.



Fig. 2 Inflamación gingival de origen endodóntico en la encía interproximal entre el molar y segundo premolar. El molar fue sometido a tratamiento endodóntico por necrosis pulpar. (Armitage GC. *The complete periodontal examination*. Periodontology 2000. 2004; 34: 22- 33)

Como una guía general, la extensión puede seccionarse como localizada =< 30% de sitios involucrados y generalizada => 30% de sitios involucrados. La severidad se clasifica en base a la cantidad de pérdida de inserción clínica (NIC) como sigue: leve = 1 o 2 mm de NIC; moderada = 3 o 4 de NIC y severa => 5 mm de NIC ⁽¹⁴⁾.

Periodontitis agresiva

Su característica fundamental es la progresión rápida de la pérdida de inserción y de hueso evidente. La enfermedad muestra un patrón de aparición familiar. Hay una inconsistencia entre la cantidad de depósitos microbianos y la gravedad de la destrucción periodontal; la presencia de concentraciones elevadas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, y evidencia de trastornos de los fagocitos y de monocitos/macrófagos hipersensibles, que responden sintetizando mayores concentraciones de prostaglandina E₂ (PGE₂) e interleucina-1 β (IL-1 β). El proceso de la enfermedad es autolimitado en algunos casos de periodontitis agresiva **(Fig. 3)**.

Puede ser localizada o generalizada. La periodontitis agresiva localizada (LAP) es la nueva nomenclatura que reemplaza a periodontitis juvenil localizada (LJP).

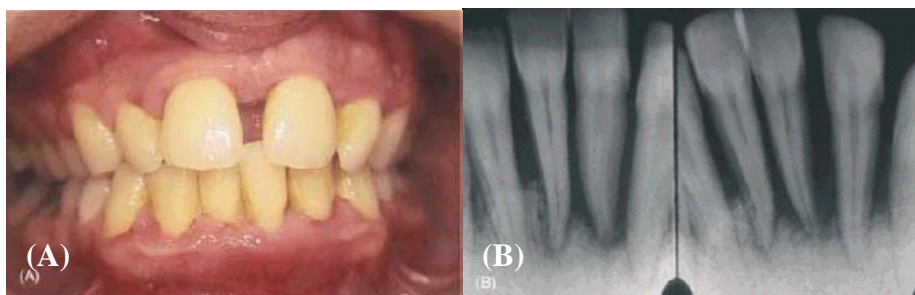


Fig 3. Periodontitis agresiva localizada avanzada en un paciente masculino, caucásico de 19 años de edad médicamente saludable. Note que hay pequeñas cantidades de placa e inflamación gingival (A). Radiografías de los incisivos anteriores mandibulares muestran la gran cantidad de pérdida ósea (B). El daño periodontal fue confinado a los incisivos y primeros molares

permanentes. (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. Periodontology 2000. 2004; 34: 9- 21.)

Hay claras evidencias acerca de un fuerte vínculo entre la LAP y una microflora bacteriana peculiar en la que predomina *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. (Fig. 4)

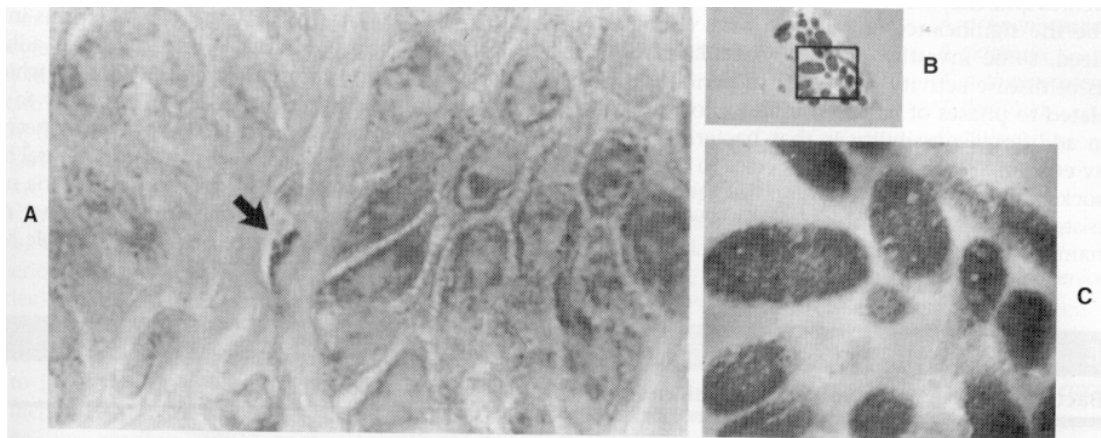


Fig. 4. A. Tejido gingival de un paciente con periodontitis agresiva localizada, mostrando coloración positiva granular (gris oscuro) en el tejido conectivo para *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (flecha) (magnificación X 1200). **B.** Micrografía electrónica de la misma sección de parafina mostrando el área indicada por la flecha en **A**, (Magnificación X 40,000). **C.** Magnificación mayor del rectángulo en **B** mostrando la célula cocobacilar corta con aproximadamente el tamaño y forma del *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. (Newman MG, Takei HH, Carranza FA. *Periodontología Clínica*. 9ª. ed. U.S.A. Ed. McGraw Hill Interamericana, 2002. p.135.)

Todas las cepas conocidas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* son resistentes a los mecanismos de destrucción mediados por suero. Alrededor del 75% de los pacientes con LAP tienen neutrófilos disfuncionales, lo que representa una menor expresión de receptores ligados a la proteína G. El defecto se evidencia como una disminución en la respuesta quimiotáctica a varios agentes quimiotácticos. Además estos pacientes frecuentemente exhiben, en suero, niveles incrementados de anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG), a antígenos de

Actinobacillus actinomycetemcomitans, incluyendo leucotoxina, lipopolisacáridos específicos del serotipo y proteínas de membrana externa (Omps) ^(8, 9). El isotipo predominante es el IgG₂. Algunos individuos poseen una variante del receptor del Fc en los neutrófilos (el alelo R131 de FcγRII-α) cuya unión con IgG₂ no es eficaz, y ésta es una razón posible para la susceptibilidad a la enfermedad. La progresión de la LAP está limitada por el desarrollo de una vigorosa respuesta de los anticuerpos ⁽⁵⁾.

En la LAP, la colagenasa predominante es la matriz metaloproteínasa 1 (MMP-1), y es alta la concentración del inhibidor de metaloproteínasas 1 (TIMP-1).

Epidemiología

Un factor de riesgo es cualquier característica o circunstancia detectable en una persona o grupo de personas que se sabe asociada con un incremento de padecer una enfermedad. Dentro de los factores de riesgo en la enfermedad periodontal se encuentran:

- ✦ Factores locales: que son depósitos sobre los dientes, masticación unilateral, irritantes mecánicos, factores retenedores, factores iatrogénicos, impacto de alimentos, falta de estímulo gingival, hábitos oclusales anormales, mala higiene, anatomía anormal, irritantes químicos (**Fig. 5**).



Fig. 5. En la imagen de la izquierda se observa cálculo dental por lingual en dientes inferiores anteriores en un hombre de 49 años con periodontitis crónica. En la imagen de la derecha se muestra adherencia de un frenillo entre 2 incisivos centrales mandibulares cerca de los márgenes gingivales de ambos dientes. (Armitage GC, *The complete periodontal examination*. Periodontology 2000, 2004; 34: 26, 28)

- ✦ Factores sistémicos: como la insuficiencia vitamínica, alérgicas, fármacos, radiación, discrasias sanguíneas, trastornos hormonales, factores psicogénicos (**Fig. 6**).



Fig. 6. Agrandamiento gingival en un paciente que toma fenitoina para controlar ataque cerebral. Los márgenes gingivales en la mayoría de los dientes son coronales a la unión cemento esmalte. . (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. Periodontology 2000. 2004; 34: 9- 21.)

- ✦ Factores condicionantes: microorganismos
- ✦ Factores predisponentes: raza, género, factores genéticos, inmunodeficiencias genéticas, distinción fagocítica, síndromes, estados emocionales (**Fig. 7**).



Fig. 7. Periodontitis como una manifestación de enfermedad sistémica. Periodontitis inducida por placa agravada por susceptibilidad incrementada a la infección en un hombre de 24 años con Síndrome de Down. (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. Periodontology 2000. 2004; 34: 9- 21.)

- ✦ Factores determinantes: higiene bucal, medicamentos, tabaco, estrés (**Fig. 8**).



Fig. 8. Múltiples frenillos adheridos en distintas posiciones sobre la encía, lo que ocasiona una higiene oral difícil e incómoda. Notar los grandes depósitos de cálculo, una indicación de que el paciente no limpia efectivamente las áreas. (Armitage GC. *The complete periodontal examination*. Periodontology 2000. 2004; 34: 22- 33)

Patogénesis

Se cree que la infiltración de células inflamatorias (**ver Anexos, Tabla II**) es una respuesta a la placa bacteriana y los mecanismos de defensa del huésped en un individuo sano son eficaces para manejar la agresión bacteriana. Entre los mecanismos físicos de defensa del huésped se encuentran la integridad de la capa celular epitelial, así como la descamación de células epiteliales y el flujo del líquido del surco.

Como resultado de la maduración y cambios en la biopelícula, principalmente hay un incremento en anaerobios facultativos, microorganismos Gram-negativos; los cambios vasculares tempranos ocurren en el periodonto, con exudación y migración de células fagocíticas, incluyendo neutrófilos y monocitos/macrófagos, dentro del epitelio de unión y surco gingival, resultando en inflamación gingival inicial. Estos cambios están acompañados por incrementos en el tamaño del tejido conectivo infiltrado por leucocitos, pérdida de las fibras de colágenos perivasculares, y proliferación de epitelio de unión. Durante la etapa temprana, en el infiltrado inflamatorio predominan células T, mientras que en las lesiones establecidas, las células B se convierten en las células inflamatorias más comunes. Las células resultantes y fluidos exudados causan más trastornos del tejido conectivo y epitelio adyacentes, seguido por proliferación, migración apical, y extensión lateral del epitelio de unión. Todas estas alteraciones contribuyen a la formación de la bolsa periodontal. Las células epiteliales activadas sintetizan y liberan enzimas y citocinas (**ver Anexos, Tabla III**); las primeras destruyen la membrana basal y los componentes del tejido conectivo, y las segundas atraen y activan células inflamatorias ⁽¹⁵⁾.

Las especies patógenas presentes en la placa subgingival liberan una factores de virulencia que pueden evadir mecanismos de defensa anti-bacterial del hospedero y después causar daño a los tejidos vía interacciones inmune/

inflamatorias, las cuales típicamente consisten en neutrófilos, monocitos/macrófagos, células dendríticas, células T, y predominantemente IgG estimulando a las células plasmáticas. Aunque en estudios recientes ⁽¹⁶⁾ no se encontraron diferencias entre los títulos de anticuerpos o radios de infección en periodontitis agresiva y crónica, o en subdivisiones.

Cuando la enfermedad prosigue a estadios más avanzados, la destrucción del tejido involucra resorción significativa del hueso alveolar y la continua pérdida de colágeno, proteína que es necesaria para la adhesión tisular. Las manifestaciones extendidas de respuestas patológicas e inflamatorias están asociadas con periodos de reposo y activa exacerbación hasta que se vuelven evidentes.

La pérdida de hueso es el punto final de los mecanismos celulares disparados para formar y activar osteoclastos, las células responsables de la reabsorción ósea. Se sugiere que la activación de osteoclastos maduros en procesos de inflamación, así como periodontitis y artritis reumatoide ocurre por medio de la expresión elevada de citocinas pro- inflamatorias estimuladoras de osteoclastos que incluyen a la interleucina- 1 β (IL-1 β), IL-6 y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), así como prostanoïdes, incluyendo la prostaglandina E₂ (PGE₂). Las células residentes del tejido conectivo gingival, es decir los fibroblastos gingivales (FG), junto con el infiltrado leucocitario, son considerados la mayor fuente de producción de estas citocinas en la enfermedad periodontal. Varios componentes del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* estimulan la expresión de citocinas y prostanoïdes en fibroblastos gingivales ^(17, 18, 19).

IL-1, IL-6, TNF- α y PGE₂ son conocidas por regular la expresión del ligando de unión al Receptor Activador del Factor Nuclear kappa-B (RANKL) y de la osteoprotegerina (OPG) en células estromales y osteoblastos. RANKL, un miembro de la superfamilia de ligandos del factor de necrosis tumoral, es expresado como un ligando asociado a la superficie en osteoblastos y linfocitos T.

Se une al Receptor Activador del NF- κ B (RANK) en células progenitoras de osteoclastos, lo que lleva a su diferenciación en osteoclastos maduros. Esta interacción celular puede ser inhibida por la osteoprotegerina (OPG), un receptor señuelo con homología a RANK, el cual es liberado por células estromales y osteoblastos. Ha sido demostrada una inducción, directa o mediada por citocinas, de RANKL así como por el lipopolisacárido (LPS) y la toxina de distensión citoletal (Cdt) del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en varias células del hospedero (19).

Microbiología

La microbiota periodontal es un sistema ecológico muy complejo con muchas interacciones estructurales y fisiológicas entre bacterias residentes, así como entre bacterias y huésped.

El reconocimiento de patógenos bacterianos en los trastornos periodontales fue difícil de distinguir por varios factores, entre los que se encuentra el que la microbiota periodontal es una compleja comunidad de microorganismos, muchos de los cuales todavía resulta difícil o imposible aislar en el laboratorio. Se sabe que muchas especies funcionan como patógenos y que algunas de ellas pueden actuar en un sitio y también, aunque en menor proporción, en áreas sanas.

De igual forma la cantidad total de bacterias, establecida mediante el recuento microscópico por gramo de placa, es dos veces mayor en sitios con enfermedad periodontal con respecto a los sitios sanos.

Las bacterias relacionadas con la salud periodontal son en su mayoría Gram-positivas facultativas e integrantes de los géneros *Streptococcus* y *Actinomyces*; también se encuentran proporciones pequeñas de especies Gram-negativas. Es posible identificar algunas espiroquetas y bacilos móviles. Se ha planteado que ciertas especies bacterianas protegen o benefician al huésped, como *Streptococcus sanguis*, *Veillonella parvula* y *Capnocytophaga ochracea*. Hay

menor cantidad de cocos y mayor número de bacilos móviles y espiroquetas en los puntos dañados que en los intactos.

La microbiota inicial de la gingivitis experimental consiste en bacilos grampositivos y cocos Gram-positivos y Gram-negativos. La transición a gingivitis se acompaña de la aparición de bacilos Gram-negativos y filamentos; más tarde por espiroquetas y microorganismos móviles.

En la gingivitis inducida por placa dental hay proporciones casi iguales de especies Gram-positivas (56%, incluyen: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus oralis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* y *Peptostreptococcus micros*) y Gram-negativas (44%, que incluyen: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula* y especies de *Haemophilus*, *Capnocytophaga* y especies de *Campylobacter*).

La gingivitis del embarazo se acompaña de ascensos de las hormonas esteroides en el líquido crevicular e incrementos de *Prevotella intermedia*, que emplean los esteroides como factores de crecimiento.

Cultivos de microorganismos en sitios con periodontitis crónica revelan altos porcentajes de especies bacterianas anaerobias Gram-negativas. Exámenes microscópicos revelan proporciones altas de espiroquetas. Los gérmenes cultivados más a menudo incluyen *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros* y especies de *Treponema* y *Eubacterium* (**Fig. 9**).



Fig. 9. Periodontitis crónica asociada con higiene oral pobre en un hombre japonés de 45 años médicamente sano. (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. *Periodontology* 2000. 2004; 34: 9- 21.)

En la microbiota de la periodontitis agresiva localizada (PAL) predominan los bacilos Gram-negativos, capnófilos y anaerobios. Casi todos los sitios de PAL albergan *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y conforman hasta 90% de la microbiota total. Otros microorganismos son *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium brachy* y especies de *Capnocytophaga* y espiroquetas. También se relacionan los virus del herpes, incluidos EBV-1 y HCMV.

En lesiones de gingivitis ulcerativa necrosante hay gran cantidad de *Prevotella intermedia* y espiroquetas (**Fig. 10**).



Fig. 10. La fotografía de la izquierda pertenece a un hombre chino, fumador con gingivitis ulcerativa necrosante (GUN) en sus años 20's soportando un periodo de estrés relacionado al trabajo. La fotografía de la derecha pertenece a un hombre de 25 años de edad con GUN. Notar la craterización en la encía interproximal en la mayoría de las áreas. Las lesiones gingivales son dolorosas. (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. Periodontology 2000. 2004; 34: 9- 21.)

Las investigaciones revelan que en los abscesos periodontales se hallan bacterias reconocidas como patógenos periodontales en cantidades considerables como son *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Peptostreptococcus. micros* y *Bacteroides forysthus*⁽⁵⁾ (**Fig. 11**).



Fig. 11. Absceso periodontal que se desarrolla rápidamente en un periodo de 2 días entre el segundo y tercer molares maxilares en un hombre afro- americano de 43 años con periodontitis crónica sin tratamiento. Ambos molares están libres de enfermedad pulpar. (Armitage GC. *Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases*. Periodontology 2000. 2004; 34: 9- 21.)

Actinobacillus actinomycetemcomitans

Características generales

Fue descrito por primera vez en 1912 y fue reconocido como un miembro de la microbiota oral humana normal en los cincuentas. Igualmente puede ser encontrado en la cavidad oral de primates y otros mamíferos. Su hábitat principal más probable es la placa dental en el surco gingival; también ha sido aislado de saliva, mucosa del carrillo, encía, lengua (superficies dorsal y lateral), paladar duro y tonsilas ⁽⁶⁾, pero no es encontrado en individuos edéntulos. Esta bacteria también puede ser aislada de la cavidad oral de sujetos periodontalmente sanos y ADN de esta bacteria ha sido detectado en muestras de placas ateromatosas en vasos sanguíneos.

Ha sido implicado en la patogénesis de varias enfermedades infecciosas, como en la endocarditis, meningitis, bacteriemia, pericarditis, septicemia, neumonía, artritis infecciosa, osteomielitis, sinovitis, infecciones de la piel, infecciones del tracto urinario, abscesos y periodontitis ^(2, 6).

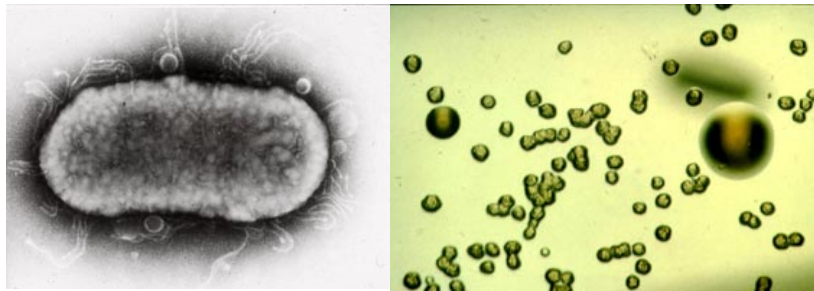


Fig. 12. Una característica significativa del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la ultraestructura de su superficie la cual incluye fimbrias, vesículas y material amorfo extracelular. La expresión de estas entidades está en función de la misma cepa y las condiciones de cultivo. (www.affrc.go.jp)

Actinobacillus actinomycetemcomitans, miembro de la familia *Pasteurellaceae* (ver Anexos, Tablas IV y IVa), es un cocobacilo anaeróbico facultativo, Gram-

negativo, inmóvil, no formador de esporas y capnofílico que crece individualmente, en pares, o en grupos pequeños. ^(2,3,6, 15, 20)

Este bacilo crece mejor en un ambiente aeróbico enriquecido con CO₂ al 5-10%, a 37°C, sobre un rango de pH de 7- 8.5 y puede ser estimulado por reactivos de baja masa molecular incluyendo varias hormonas esteroideas.

Las células son rectas o curvadas con extremos redondeados, de 1.0- 1.5 µm por 0.4- 0.5 µm ⁽²¹⁾ **(Fig. 12)**.

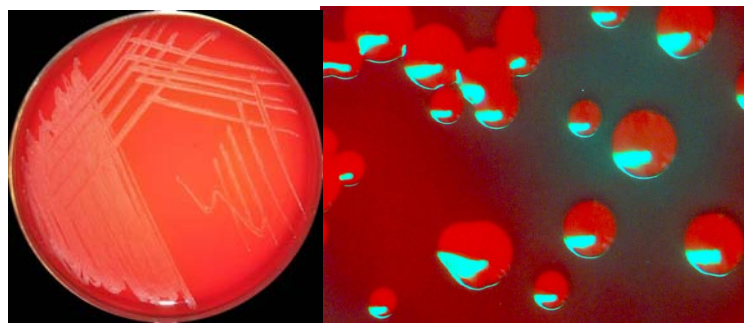


Fig. 13. La imagen de la izquierda es un cultivo de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en agar Columbia a las 24 horas en CO₂ (www.szu.cz/cem/chk/ehk237/obr/Actinob.jpg). La imagen de la derecha es una imagen filtrada a color de colonias bacteriales del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en la superficie de un plato agar. (www.grad.ucl.ac.UK/comp/2003/research/gallery/entries/large/051.jpg)

Actinobacillus actinomycetemcomitans está genéticamente relacionado cercanamente a *Haemophilus aphrophilus*, el cual muestra reactividad cruzada con algunas de las pruebas bioquímicas usadas para identificar al *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. ⁽¹²⁾

Las bacterias aisladas (frescamente) son invariablemente frimbriadas y producen en agar pequeñas colonias circulares, adherentes, translúcidas y rugosas (aproximadamente de 1 mm de diámetro después de 2 a 3 días) con un delgado borde irregular **(Fig.13)**. Estas colonias “rugosas/ásperas” tienen una figura interna con una apariencia característica de puros cruzados o semejante a

una estrella cuando es visto con microscopio de baja potencia (**Fig. 14**). Aparecen marcas con orificios debajo de la colonia, y eventualmente se convierte en una colonia embebida en el medio de agar ^(6, 21, 22).

Después de subcultivos repetidos, el contorno en forma de estrella a menudo desaparece y las colonias se tornan lisas y opacas y no causan la formación de orificios del agar. Esta transformación de fenotipo de rugoso a liso esta asociado con la pérdida de fimbrias. Las variantes de colonias rugosas expresando fimbrias se adhieren mejor a la hidroxiapatita y a la hidroxiapatita cubierta con saliva que las variantes de colonias lisas ⁽⁶⁾.

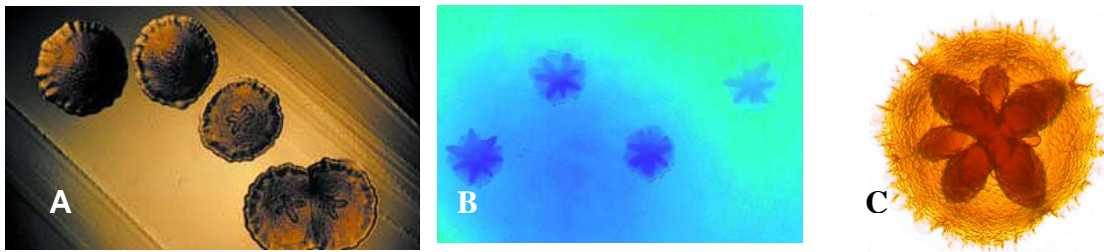


Fig. 14. **A.** Imagen del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* con la figura de estrella en el centro. (www.dent-all.de/fileadmin/tt_news/spitta/medien/Stelzel4.jpg) **B.** Estas estructuras han sido visualizadas por medio del uso de una lámina de microscopio. (www.grad.ucl.ac.UK/comp/2003/research/gallery/entries/large/051.jpg) **C.** Imagen del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* de color falso desarrollado en agar selectivo. (www.eastman.ucl.ac.uk/research/MD/aa_microscope8.gif)

Ocasionalmente, la transición de rugosa a lisa experimenta o sufre una fase intermedia en la cual las colonias son translúcidas pero su superficie es lisa. Muchas bacterias patógenas son capaces de variar de fase y cambiar la morfología de la colonia, lo cual depende de la expresión de las proteínas de superficie ⁽²²⁾.

Los medios de cultivo de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* exhiben distintos rasgos que son correlacionados a sus morfotipos de colonia en agar. En caldos de cultivo, la bacteria del tipo de colonia rugosa forma agregados

compactos adhiriéndose a las paredes o a la base del vaso de cultivo, y el caldo permanece claro. Las variantes de colonias lisas crecen como células planctónicas homogéneas no agregadas y parecen como una suspensión turbia en el caldo. Los morfotipos intermedios crecen en caldo como agregados libres y el caldo parece ligeramente turbio ⁽²³⁾.

Adherencia

La adhesión bacteriana es requerida para la colonización y es un mecanismo de virulencia clave.

Algunas cepas y aislados en medios frescos de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* tienen la habilidad de adherirse fuertemente entre ellos mismos o a sustratos así como vidrio, plástico e hidroxiapatita. Se ha pensado que esta adhesión es debida a la presencia de grandes paquetes de fibras en la superficie de la bacteria ⁽²¹⁾.

Los genes encargados de la biogénesis de fimbrias de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* residen en un operon *flp* de 12- kb que contiene 14 genes, *flp1-flp2-tadV-rcpCAB-tadZABCDEFGF* ^(22,23) (**Fig. 15**). Los resultados de estudios realizados indican que mutaciones al azar del operon *flp* son un mecanismo para la conversión de colonia rugosa a lisa de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, pero no es el único mecanismo para ello ⁽²²⁾. El locus *flp* aparentemente juega un papel principal en la autoagregación de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lo cual puede ser la estrategia de supervivencia primaria de esta bacteria *in vivo*. Fue propuesto que este grupo de 14 genes codifica un sistema de secreción para la exportación y reunión de fimbrias, lo cual regula la adherencia y agregación, y confiere el fenotipo de colonia rugosa al *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Análisis ⁽²³⁾ revelan que el locus *flp-tad* muestra tres características sobresalientes: (i) bajo contenido G+C, (ii) falta de sitios USS (uptake signal

sequense) para la elaboración de DNA por otras especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, (iii) grande secuencia de variaciones de muchos genes en este locus entre diferentes especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. La falta de sitios USS en el operón *flp* sugieren que este operón no está realmente distribuido entre especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

El gen *flp-1* codifica la subunidad fimbrial principal Flp1 (en inglés, fimbrial low-molecular-weight protein). En un experimento realizado por Y. Wang y C. Chen en el 2005 los resultados sugirieron que *flp-2* no era en absoluto un componente requerido para las fimbrias, pero fue requerido para la formación de agregados compactos de células bacterianas. La proteína Flp-2 ha sido señalada como una subunidad fimbrial menor.

RcpCAB (proteínas de colonia rugosa) fueron identificados como proteínas de membrana externa específicas de colonia rugosa que están probablemente envueltos en la expresión de fimbrias.

El grupo de genes *tad* (de tight adherente, en inglés) contiene siete genes originales y se encontró que son requeridos para la adherencia y la producción de fimbrias por mutagénesis por transposón ⁽²³⁾.

Además de fimbrias, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* secreta una gran cantidad de materiales amorfos (también llamados exopolímeros que están compuestos en su mayor parte de polisacáridos) y vesículas, los cuales parecen contribuir a la agregación y adherencia. Numerosos reportes sugieren que polisacáridos y glicoconjugados juegan un papel clave en la autoagregación y adherencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Actinobacillus actinomycetemcomitans puede unirse a componentes de la matriz extracelular como son el colágeno y la fibronectina ⁽⁶⁾.

Otro gen, *impA*, codifica para una proteína de membrana interna, cuya inactivación resulta en cambios en la composición de proteínas de membrana externa conduciendo a la autoagregación bacterial. Existe un número de proteínas

de membrana externa predominantes en *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y probablemente juegan un papel en la adhesión ⁽⁶⁾.

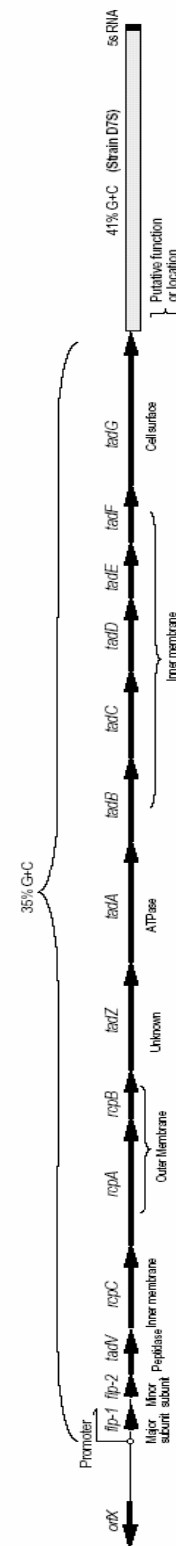


Fig. 15. Operón *flp* del *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. (Wang Y, Chen C. *Mutation analysis of the flp operon in Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Gene. 2005, p.p. 73)

Diversidad serológica

Actualmente son reconocidos seis serotipos distintos (a-f) y es sugerido que todos tienen potencial patogénico. Su clasificación es basada en polisacáridos de superficie, de alta masa molecular, localizados en el lado O de las cadenas del lipopolisacárido ^(6, 21, 22) **(Fig. 16)**

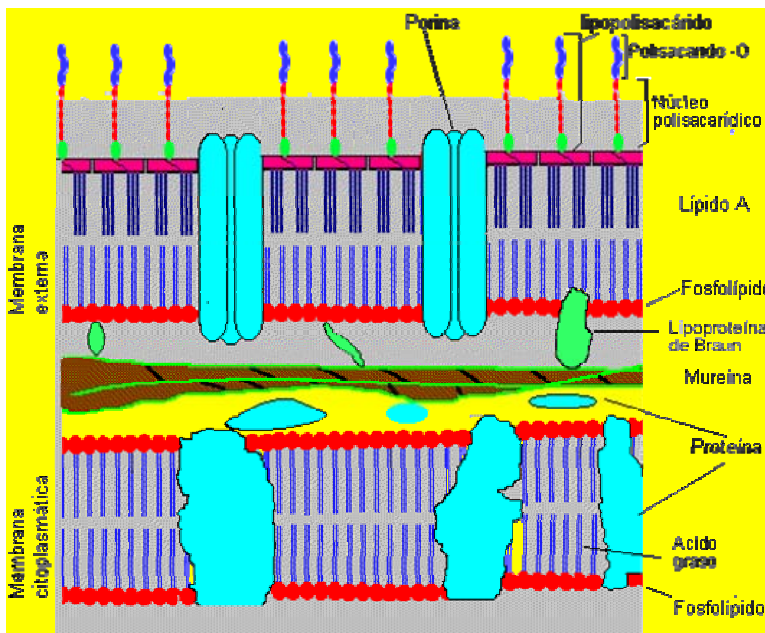


Fig. 16. Esquema de la membrana externa de las bacterias Gram- negativas y la localización del polisacárido-O.

<http://www.biologia.edu.ar/baterias/micro4.htm>

Las estructuras químicas de estos polisacáridos han sido caracterizadas y ha sido demostrado que consisten de repetición de unidades de disacáridos de O-acetil-6-desoxi-D-talosa y 6-desoxi-D-talosa (serotipo **a**); O-acetil-6-desoxi-L-talosa y 6-desoxi-L-talosa (serotipo **c**); 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y L-ramnosa (serotipo **e**), repetición de unidades de trisacáridos de L-ramnosa, D-fucosa y N-acetil-D-galactosamino (serotipo **b**); 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa y L-ramnosa (serotipo **f**) o repetición de unidades de tetrasacáridos de D-glucosa, D-manosa y L-ramnosa (serotipo **d**) ⁽²⁴⁾.

Los polisacáridos O de los serotipos b,c,e y f son el producto de grupos de genes homólogos que contienen entre 10 (serotipo e) y 16 (serotipo b) genes con grupos de genes altamente conservados en las terminaciones proximal y distal y genes centrales siendo únicos a cada grupo y conteniendo una materia de CG bajo. Los grupos de genes que codifican la síntesis de los serotipos a y d no están relacionados estructuralmente con los otros cuatro. El grupo de genes del serotipo d es un fragmento de 13.9 kb localizado a solo 2 kb debajo de los grupos de genes b, c, e y f. El serotipo a, esta codificado por un fragmento de 12.9 kb de ADN cromosomal localizado lejos de los otros sitios. El antígeno específico del serotipo a, consiste únicamente de 6-desoxihexosa, 6-desoxi- D- talosa, el cuál es único entre bacterias ⁽⁶⁾.

Estudios ⁽²⁵⁾ en la distribución de cepas serotipos a- e de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* mostraron que los serotipos a y b son frecuentemente aislados de pacientes con periodontitis agresiva localizada, cepas serotipo c son más comunes en infecciones no orales y en gente sana, y cepas serotipo d y e son raras en todas las poblaciones. El serotipo b también es encontrado en personas sin ninguna infección bucal.

Análisis en animales ⁽²⁴⁾ han demostrado que el serotipo b induce la citocina pro-inflamatoria la interleucina- 6 (IL-6) en células del bazo de múridos. Ha sido reportado ⁽²⁴⁾ que sobrenadantes de cultivos de serotipos b y a, pero no c, indujeron apoptosis en células HL-60. Esto es consistente con la virulencia de los serotipos (b>a>c) en modelos animales.

Invasión a la célula del hospedero

La invasión bacterial es un proceso complejo y activo que depende tanto de la bacteria como de la célula del hospedero. La mayoría de las bacterias emplean microfilamentos de actina y movimientos intracelulares para conducirse pero hay evidencia incrementada que los microtúbulos también son importantes.

El 25% de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* aislados son invasivos. La identificación del receptor de superficie de la célula del hospedero que se une a *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e inicia la invasión no está establecida firmemente ⁽⁶⁾. El receptor de transferrina en las células epiteliales es un posible receptor específico de invasión para *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Las integrinas (**Fig. 17**) de células epiteliales pueden ser otra ruta de entrada, aunque menor, para *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

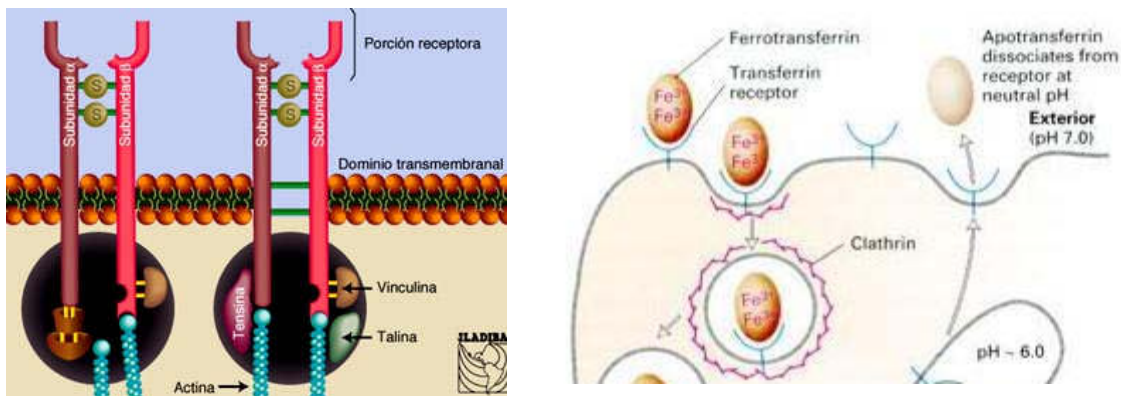


Fig. 17. A la izquierda un esquema que representa la estructura general de las integrinas y su integración con los elementos que hacen parte del citoesqueleto. (www.iladiba.com/revista/1997/06/arfon.asp). A la derecha un esquema del receptor de transferrina.

Las variantes de colonias lisas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* no se adhieren a células epiteliales tan ávidamente como las formas rugosas. Paradójicamente, ha sido demostrado que estas especies que muestran una morfología de colonia lisa son más invasivas. La interpretación más simple es que las fimbrias y pequeños filamentos pueden ser las adhesinas mayores para las células epiteliales pero no están relacionadas con el proceso de invasión.

Algunas especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* tienen moléculas de adhesión en su superficie que contienen fosfatidilcolina, una molécula que ha sido probada para mediar la invasividad del *Streptococcus pneumoniae* a través de receptores del factor de activación plaquetaria (PAF) de la célula endotelial. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* puede invadir células endoteliales usando el receptor de PAF y este es dependiente de la presencia de fosfatidilcolina en la superficie de la célula bacteriana.

Después de unirse a los receptores de la célula del hospedero, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dispara señales aún indefinidas a ésta y que producen el reclutamiento de actina de la periferia celular de la célula del hospedero a un punto focal debajo de la bacteria, conduciendo a la destrucción de microvellosidades y la formación de cráteres en la superficie de las células del hospedero. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* consigue entrar a la célula del hospedero por medio de estas aperturas tortuosas y es encerrado en una vacuola limitada por una membrana. Una vez internalizado, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* escapa del endosoma y entra al citoplasma. El escape del endosoma puede ser consecuencia de la acción de factores hemolíticos o causado por la activación de la fosfolipasa C producida por *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Una característica original de la invasión de células epiteliales por *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es que, una vez libre en el citoplasma, esta bacteria se replica en mucho menos de la mitad de tiempo (7.5 veces más rápido) que lo observado *in vitro*. Otro aspecto inusual de la invasión de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a células epiteliales es su rápida salida de la célula después de la invasión y su habilidad para moverse de una célula a otra, ambas acciones son dependientes de los microtúbulos de la célula del hospedero. La habilidad de moverse de una célula a otra es dependiente de la formación de protusiones celulares en la célula infectada. Estas protusiones albergan al

Actinobacillus actinomycetemcomitans y pueden interconectarse con células adyacentes y de este modo permitir la propagación celular. El destino final de las células epiteliales que han sido invadidas por *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la muerte celular por apoptosis.

La apoptosis de las células epiteliales invadidas puede estar involucrada en la progresión de la enfermedad periodontal ⁽⁶⁾.

Factores de virulencia

El tejido patológico de esta bacteria es responsable por inducir inflamación de las encías y destrucción del ligamento periodontal y hueso alveolar, los cuales unen los dientes a los maxilares. Los factores de virulencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* puede ser subdividido en los que:

- modulan la inflamación
- inducen destrucción del tejido
- inhiben la reparación del tejido.

Como es de esperarse muchos de los factores de virulencia individuales comparten acciones que coinciden.

Muchos factores de virulencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* aún permanecen sin ser identificados completamente como es el caso de los siguientes:

- Un péptido de 2 kDa, el cual indujo la síntesis de IL- 6 por fibroblastos gingivales humanos sin inducir también IL-1 β y TNF.
- Una glicoproteína inmunogénica secretada para estimular macrófagos para producir IL-1 β , IL-6 y TNF- α .
- Proteínas mitogénicas, incluyendo un mitógeno de célula B de 13 kDa.
- Un polisacárido capsular específico de serotipo de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ha sido reportado por estimular la formación de osteoclastos e inducir la apoptosis de una línea celular semejante a los osteoblastos ⁽²¹⁾.

A continuación se hace una revisión bibliográfica de los factores de virulencia más estudiados que produce *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: leucotoxina, toxina de distensión citoletal, lipopolisacárido, proteínas de choque térmico y proteínas de membrana externa.

Leucotoxina

Actinobacillus actinomycetemcomitans parece emplear múltiples productos genéticos para inactivar o evadir defensas inmunes. El producto genético más activamente estudiado en este organismo es una leucotoxina que es una proteína de 116 kDa. La leucotoxina de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (LtxA) es miembro de una familia de toxinas formadoras de poros, caracterizada por una serie de repeticiones ricas en glicina en la porción carboxilo terminal de la proteína, que participan en la unión de los cationes y parecen ser esenciales para la actividad de la toxina. A esta familia se le conoce como toxinas RTX (por *repeat in toxin*), y son producidas por varias especies Gram-negativas patógenas. Sus células blanco son los neutrófilos, monocitos, linfocitos y células HL-60 de humanos y de algunos primates ⁽⁶⁾. También se reportó que la leucotoxina de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* puede disparar la producción y secreción abundante de IL-1 β por macrófagos humanos, lo cual es mediado por la activación de caspasa-1. IL-1 β , una citocina proinflamatoria, parece ser el factor más importante para la resorción ósea liberada por macrófagos estimulados por la leucotoxina ⁽²⁶⁾.

La susceptibilidad de la célula blanco es el resultado de la expresión de la molécula de integrina β 2 en la superficie celular y del antígeno 1 asociado a la función linfocitaria (LFA-1), lo que hace pensar en un proceso mediado por receptores. La unión de la leucotoxina al LFA-1, la cual es expresada en todas las células inmunes, sugiere que facilita la inserción dentro de la membrana celular y formación de poros ^(5, 6).

Recientemente ha sido reportado que la histatina 5 sintética, un miembro de las histatinas catiónicas salivales, ricas en péptidos con actividad antimicrobiana, inhibe la habilidad de la leucotoxina de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* de matar a neutrófilos humanos ⁽⁶⁾.

La necrosis y la apoptosis son los dos mecanismos de muerte celular mediados por LtxA. Cuando las células blanco son expuestas a LtxA mueren en un periodo relativamente corto (de 7 a 45 minutos). Se cree que esta muerte celular resulta de la capacidad de la LtxA para formar poros en la membrana de las células blanco, lo cual conduce a la lisis osmótica causada por la entrada de agua a la célula. La exposición prolongada de linfocitos y células NK a la LtxA tiene como resultado la inducción de apoptosis (secuencia programada de alteración celular que avanza hacia la muerte celular)

Hay pruebas ^(6, 26) de que bajas concentraciones de LtxA producen apoptosis, mientras que altas concentraciones producen necrosis. Se piensa que en bajas concentraciones (<30 ng/ml) la toxina se une a proteínas específicas de la superficie celular en células susceptibles y forma poros de diámetro pequeño permitiendo el flujo incontrolado de Na⁺, degranulación de neutrófilos, rápida producción y secreción de citocinas proinflamatorias como IL-1 β , factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), la liberación de matriz metaloproteinasas-8 (MMP 8) y la activación de apoptosis ^(5, 6, 26) **(Fig. 18)**. También se supone que las moléculas de LtxA en concentración alta se fusionan para formar poros grandes en la membrana celular blanco permitiendo el rápido flujo de calcio (Ca²⁺) y pérdida de trifosfato de adenosina (ATP) ^(5, 24), lo cual da como resultado una destrucción necrótica más rápida. Las concentraciones locales de la toxina en tejidos periodontales no es conocida y los términos bajo y alto son solo relativos ⁽⁶⁾.



Fig. 18. A la izquierda imagen de necrosis. A la derecha imagen de apoptosis

<http://delaferriere0.tripod.com/Apoptosis.htm>

Hay una diferencia clave entre cepas no adherentes (lisas) y adherentes (rugosas); las primeras liberan LtxA, mientras que las últimas retienen la toxina en su superficie. El mecanismo de liberación de la LtxA es por medio de vesículas que esta bacteria libera desde su membrana externa ^(6, 21).

La LtxA es un antígeno citotóxico potente capaz de matar células inmunes, lo que da como resultado una mala respuesta inmune por parte del hospedero y la liberación de una variedad de enzimas y moléculas reactivas de células fagocíticas que puede resultar en daño tisular y promover la inflamación ⁽²⁴⁾.

El gen que codifica a la LtxA es el *ltxA* que forma parte de un operón de cuatro genes con la siguiente secuencia en orden de transcripción característica de la familia de toxinas RTX: *ltxC*, *ltxA*, *ltxB* y *ltxD*. Todos estos genes se relacionan con la función de la leucotoxina. El gen A codifica la leucotoxina, que es producida en un estado de "protoxina" inactiva. El producto del gen C, *ltxC*, es necesario para activar la protoxina. Las toxinas RTX son transportadas desde el citoplasma a la superficie celular por proteínas transportadoras codificadas por *rtxB* y *rtxD*, por lo tanto, los genes B y D participan en la secreción de leucotoxina por parte de la célula bacteriana. Ciertas cepas en sus fases de desarrollo temprano segregan una cantidad abundante de leucotoxina en el medio ^(6,21).

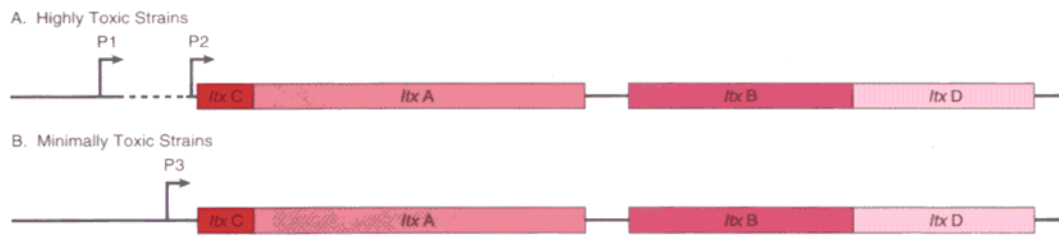


Fig. 19. Ilustración esquemática del operón de leucotoxina en cepas altamente y mínimamente tóxicas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. (Newman MG, Takei HH, Carranza FA. *Periodontología Clínica*. 9^a. ed. U.S.A. Ed. McGraw Hill Interamericana, 2002. Pp. 156).

Algunas cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* son muy tóxicas y producen concentraciones altas de leucotoxina, en tanto que otras cepas son débiles o muy poco tóxicas y producen concentraciones bajas de leucotoxina. Esto debido a una variación en la secuencia de DNA de la región promotora de leucotoxina. Los promotores bacterianos consisten en segmentos específicos de DNA que proporcionan un sitio de reconocimiento y unión para la enzima polimerasa de ácido ribonucleico (RNAPol), a la que se debe la síntesis de RNA. Los diferentes promotores varían en su nivel de transcripción, lo que produce diferencias en el nivel de RNA mensajero (mRNA) y las diferencias en la cantidad de producto proteico generado. La regulación de la expresión genética basada en la cantidad de mRNA producida se denomina control transcripcional. El estudio de la secuencia de DNA hacia arriba del gen *ltxC* reveló que las cepas muy tóxicas tienen una eliminación de 530 pares de bases (pb) de DNA en comparación con las cepas muy poco tóxicas. Análisis revelan la presencia de dos promotores (P1 y P2) que funcionan en las cepas tóxicas, pero en las cepas poco tóxicas un solo promotor (P3) es el que inicia la transcripción. Este último promotor reside dentro de la región de 530 pb que falta en las cepas muy tóxicas (**Fig. 19**).

El nivel presente de oxígeno durante el desarrollo bacteriano regula al promotor P3, con aumento de la expresión del RNA mensajero que codifica para la leucotoxina y un aumento de 3 a 4 veces en la toxicidad cuando la bacteria se

desarrolla en condiciones anaerobias. Las concentraciones de oxígeno no tienen efecto sobre los promotores P1 o P2. La cantidad de mRNA y de leucotoxina producida y la toxicidad resultante son sustancialmente mayores en las cepas muy tóxicas que usan a los promotores P1 y P2, sin importar las condiciones del ambiente, en comparación con las cepas muy poco tóxicas que usan al promotor P3. Durante la fase de crecimiento activa son producidos altos niveles de la toxina, pero los niveles descienden en la fase estacionaria o en condiciones aeróbicas. Altas concentraciones de fructuosa causan inhibición de producción la leucotoxina en cepas con una producción variable de la misma ⁽⁶⁾.

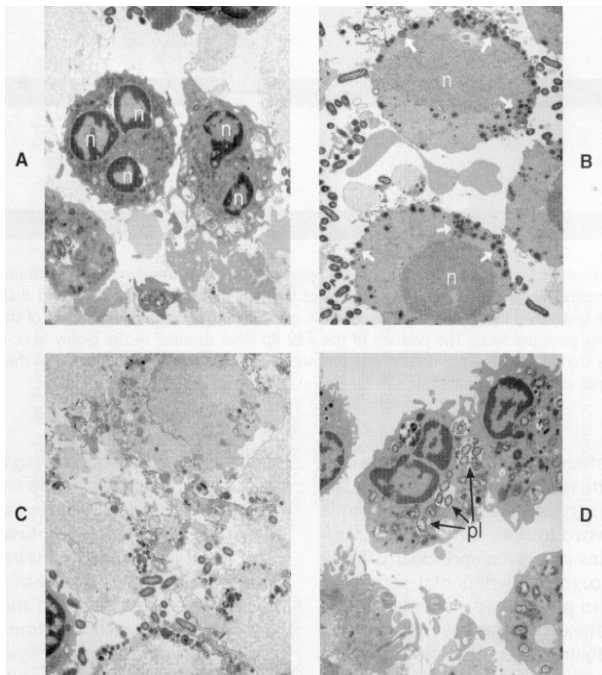


Fig. 20. Evasión del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* altamente leucotóxico de la fagocitosis por neutrófilos. Micrografías electrónicas de neutrófilos atacados con una cepa de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* altamente leucotóxica por **(A)** 0 minutos, **(B)** 7 minutos y **(C)** 45 minutos. En contraste, el ataque con una cepa mínimamente leucotóxica por 60 minutos **(D)** no produce alteraciones citopáticas de los neutrófilos. Núcleo (n), fagolisosoma (pl), gránulos de neutrófilos (flechas blancas). (Newman MG, Takei HH, Carranza FA. *Periodontología Clínica*. 9^a. ed. U.S.A. Ed. McGraw Hill Interamericana, 2002. P.p. 155)

La leucotoxina permite al microorganismo neutralizar los mecanismos de defensa del huésped. La cepa muy tóxica induce rápidamente cambios degenerativos y, luego, la lisis de los neutrófilos. La cepa muy poco tóxica no induce la lisis del neutrófilo, sino que las células bacterianas son fagocitadas y los fagolisosomas que contienen las células bacterianas son microscópicamente

evidentes (**Fig. 20**). La presencia de cepas muy leucotóxicas varía ampliamente en regiones geográficas diferentes, así como en grupos raciales distintos. Se ha reportado ⁽²⁵⁾ que cepas altamente leucotóxicas comprenden aproximadamente la mitad de las cepas aisladas de africanos y africo-americanos pero solo del 0 al 2% de las cepas aisladas de europeos y asiáticos.

Toxina de Distensión Citoletal

El mecanismo de acción por el cual *Actinobacillus actinomycetemcomitans* actúa para causar la enfermedad periodontal no es aún claro, este microorganismo es capaz de producir gran variedad de factores de virulencia capaces de facilitar la colonización, invasión y destrucción de los tejidos periodontales ^(27, 28).

Ha sido reportado que *Actinobacillus actinomycetemcomitans* produce un número, hasta ahora indefinido, de proteínas con actividad inhibitoria del ciclo celular causando arresto en la fase G2 (**Fig. 21**). Una proteína moduladora del ciclo celular con función inmunosupresiva que ha sido identificada recientemente y que es producida por *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la toxina de distensión citoletal (Cdt por cytolethal distending toxin).

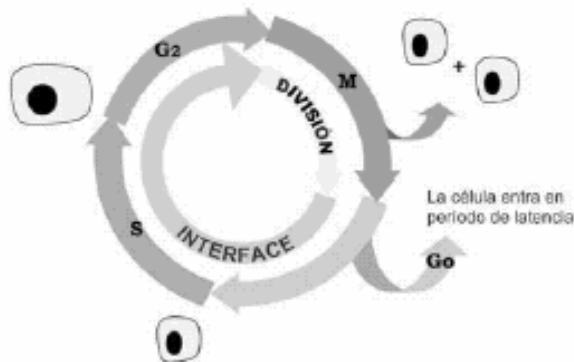


Fig. 21. Las cuatro fases sucesivas de una célula eucariota típica. <http://www.iladiba.com/revista/1997/04/avonc.asp>

Las Cdts son una familia de proteínas citotoxinas lábiles al calor que consisten de tres subunidades, CdtA, CdtB y CdtC que se unen por medio de su porción amino terminal ^(20,21). Aun son poco conocidos los roles precisos de CdtA y CdtC en la función de CDT. Evidencias recientes ⁽²⁷⁾ indican que las tres subunidades de la Cdt están presentes en la holotoxina, probablemente en una estequiometría de 1:1:1. Esta toxina es el producto de un operón de tres genes

(*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*) el cual también se encuentra en otras bacterias Gram- negativas como *Escherichia coli*, especies *Shigella.*, especies *Campylobacter*, especies *Helicobacter* y *Haemophilus ducreyi* ^(21,27,28,13). Análisis filogenéticos revelan que los genes *cdt* de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Haemophilus ducreyi* presentan una secuencia de amino-ácidos homóloga del 95%, y son los miembros relacionados más cercanamente en la familia de las Cdt ^(6, 13, 21). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la única bacteria oral conocida que produce esta toxina y cerca del 85% de sus especies poseen los genes *cdt* ^(13, 29).

Todas las demás bacterias que tienen la toxina de distensión citoletal requieren de las tres proteínas Cdt para causar la inhibición del ciclo celular. Las Cdt fueron caracterizadas primero por su habilidad para causar progresiva distensión celular y finalmente muerte en algunas líneas celulares ^(13, 28). Evidencia reciente demuestra que la distensión de las células intoxicadas por Cdt está asociada con el desarrollo de fibras de actina en el citoesqueleto, lo cual resulta de la activación del daño al DNA en los puntos de control ⁽¹³⁾.

La combinación de las tres proteínas estimula a los monocitos humanos para producir ciertas citocinas. Pero ha sido reportado que la CdtB purificada o recombinante de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es suficiente para bloquear la progresión del ciclo celular de linfocitos humanos y células Jurkat, puesto que esta es administrada en pequeñas cantidades directamente en el citosol de la célula blanco por microinyección; y aunque CdtB es la subunidad activa de la Cdt en *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, se sugiere que para producir la máxima toxicidad se requieren las tres proteínas ^(27, 28).

El mecanismo de acción de esta toxina es debido a la actividad nucleasa de la CdtB causando daños en el DNA nuclear y por medio de los puntos de control de la cinasas desencadena arresto en el ciclo celular en fase G2/M, distensión celular y alargamiento nuclear observado en células intoxicadas, así como apoptosis en líneas de células B y T cultivadas ^(13, 19, 27, 29). La población variada de

células en el periodonto responde de manera diferente a la Cdt de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Se ha observado que *Actinobacillus actinomycetemcomitans* causa un arresto del crecimiento bifásico en G1 y G2/M y alargamiento en las células del tejido conectivo periodontal (tejido conectivo gingival y tejido del ligamento periodontal) ⁽¹³⁾.

Se cree que la CdtA y la CdtC premezcladas facilitan la entrada de la CdtB a la célula del hospedero y posteriormente al núcleo para degradar el DNA cromosomal e inducir el arresto del ciclo celular. La coexistencia de las CdtA y CdtC es requerida para la unión de estas subunidades a la célula. Se ha encontrado ⁽²⁷⁾ que la combinación de la CdtB y la CdtC de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* induce el arresto del ciclo celular en células Hep-2. El gen *cdtA* expresa dos bandas CdtA inmunoreactivas, una de 25 y otra de 18 kDa; solo el fragmento de 18 kDa está asociado con el tripéptido Cdt asilado de *Escherichia coli* y de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ⁽²⁸⁾.

Se ha sugerido ⁽²⁷⁾ que la toxina entra a las células principalmente por endocitosis mediada por receptores, viajando primero en el citosol y después al núcleo de la célula blanco. Es conocido que muchas toxinas bacterianas usan glucoesfingolípidos (GSLs) neutrales, presentes en la membrana celular, como receptores. Investigaciones ⁽²⁰⁾ muestran resultados donde la Cdt recombinante puede usar el glucoesfingolípidos GM3 como un receptor de superficie celular; además, GM3 interactúa solo con la CdtA, la cual es considerada la subunidad más esencial para la unión de la Cdt a la célula. Esto indica que GM3 puede jugar un papel importante como receptor de la Cdt. Se sugiere que otros glucolípidos o materiales orgánicos pueden funcionar como receptores alternativos de la Cdt. Células tratadas con un inhibidor de la síntesis de GSLs, el 1-fenil-2-palmitoilamino-3-morfolina-1-propanol (PPMP), mostraron tolerancia a la toxicidad de Cdt y el arresto en G2/M es parcialmente suprimido. Existe la posibilidad de

evitar a la Cdt desde la unión a la celular y reducir la toxicidad de Cdt impidiendo la síntesis de GSL ⁽²⁷⁾.

Otro efecto de la Cdt de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la estimulación de la síntesis de IL-1 β , IL-6 e IL-8 por células mononucleares sanguíneas, aunque el tratamiento con calor (65° C por 30 minutos) de las preparaciones de la toxina neutraliza su capacidad para estimular la producción de IL-6. También se ha demostrado ^(19, 29) que *Actinobacillus actinomycetemcomitans* induce la expresión de RANKL e IL-6 en células del tejido conectivo periodontal, dos citocinas cruciales para la inducción de la formación de osteoclastos y resorción ósea. La Cdt es responsable por la inducción de la expresión de RANKL, y es posible que también tenga un papel en la producción de IL-6, aunque otros componentes de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* parecen ser más cruciales en este efecto. La Cdt de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* tienen una propiedad única para inducir la expresión de RANKL en una manera independiente de otros mediadores de la inflamación, y puede estar envuelta en la resorción ósea patológica que ocurre en la periodontitis agresiva localizada ⁽¹⁹⁾.

Lipopolisacárido

Se trata de una macromolécula exclusiva de la lámina externa de la membrana externa de bacterias Gram-negativas (**Fig. 22**), responsable de muchas de las propiedades biológicas de estas bacterias. Se le conoce también con el nombre de endotoxina (toxina termoestable, no difusible). Se trata de un glucolípido complejo, que podemos considerar compuesto de tres regiones o dominios:

- *Lípido A*, que es la porción más proximal, y de carácter hidrofóbico;
- Región intermedia, llamada *oligosacárido medular*,
- Región distal (cadena lateral específica, polisacarídica) a base de repeticiones de unos pocos azúcares. Es de carácter hidrofílico y constituye el *antígeno somático O* de las bacterias Gram-negativas.

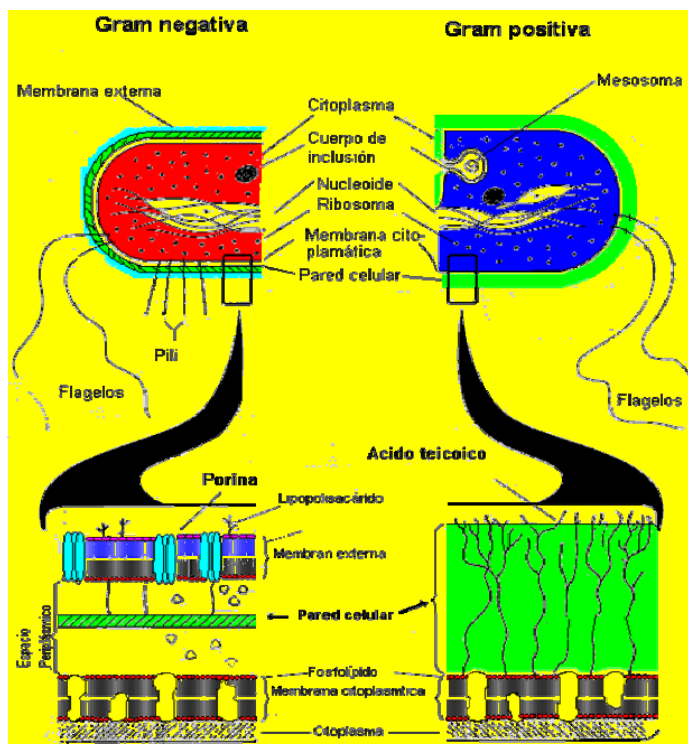


Fig. 22. Esquema comparativo entre membrana externa de bacterias Gram- negativas y bacterias Gram- positivas.

(<http://www.biologia.edu.ar/baterias/micro4.htm>)

EL LPS de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es un componente patogénico reconocido e importante en la iniciación y progreso de la enfermedad periodontal, puesto que estimula células del hospedero para producir citocinas inflamatorias e induce resorción ósea ⁽²⁹⁾. Se ha reportado que el lipopolisacárido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* promueve la diferenciación de osteoclastos *in vitro* en la presencia de 1,25- dihidroxivitamina D₃ y dexametasona. Otros estudios han revelado que esta diferenciación es debida a un incremento de interleucina 1 α (IL-1 α) y prostaglandina E₂ (PGE₂), puesto que células de la médula ósea estimuladas con lipopolisacárido del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* liberan IL-1 α y PGE₂. EL lipopolisacárido del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* favorece la sobrevivencia de osteoclastos por una sobrerregulación y producción de IL-1 α ⁽²⁴⁾.

El lipopolisacárido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* inyectado en la encía de ratones puede inducir la resorción ósea periodontal pero solo después de la transferencia del antígeno específico de células clones Th1, pero no después de la transferencia de células clones Th2 ⁽²⁴⁾.

Estudios previos han mostrado muerte celular por apoptosis en macrófagos infectados con *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y la posible implicación de CD14 y proteína cinasa C en esta apoptosis; pero hay pocos reportes concernientes al efecto regulatorio del LPS del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en la apoptosis causada a varias células del hospedero ⁽³⁰⁾.

En contraste al LPS enteropatogénico que muestra actividad osteolítica a concentraciones de nanogramos/mililitro, El LPS de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es activo a concentraciones de microgramos/ mililitro ⁽¹⁵⁾.

El efecto del LPS en la muerte celular por apoptosis difiere entre tipos celulares y líneas celulares, y múltiples mecanismos moleculares están

involucrados en su regulación. Ha sido reportado que el LPS inhibió la apoptosis de neutrófilos humanos a través de la activación de cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK), mientras la activación de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAP) p38 escasamente reguló la inhibición de la apoptosis de neutrófilos inducida por el LPS. El LPS también impidió la muerte celular apoptótica en monocitos humanos. Por el contrario, ha sido demostrado que la administración de LPS causa apoptosis en células B, linfocitos CD4⁺ 8⁺ y órganos linfoides. Además, el LPS indujo la muerte celular apoptótica en células endoteliales a través del reclutamiento del adaptador del dominio de muerte asociado a Fas. Se ha demostrado que la apoptosis de células endoteliales vasculares humanas inducida por LPS es mediada por el gen inhibidor de la progresión del ciclo celular p53, la proteína proapoptótica Bax, la caspasa-1 y la caspasa-3. En contraste, el LPS no causa apoptosis en la línea celular endotelial microvascular dermal humana, HMEC-1, pero si causa apoptosis en presencia de cicloheximida.

Reportes previos han demostrado que el LPS indujo apoptosis en macrófagos en presencia de cicloheximida (CHX), pero los mecanismos moleculares que envuelven este hecho no se conocen bien. La proteasa como caspasa-3 fue la enzima clave en la promoción de la apoptosis en células de la línea de los macrófagos tratados con LPS y CHX, y su activación fue dependiente de señales inducidas por LPS tempranamente así como la unión a LPS, fosforilación de la proteína tirosina y la actividad de la serina proteasa pero no de señales LPS tardías así como MAP cinasa cinasa o MAP cinasa.

Las células diferenciadas con 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetato (TPA) usualmente muestran resistencia a la apoptosis inducida por el LPS; sin embargo en presencia de CHX, el LPS estimuló la liberación de citocromo *c* sin la modificación de los niveles fijos de Bcl-2, Bcl-xL, Bax y Bak. El tratamiento con LPS en presencia de CHX también lleva a la activación de la caspasa-3 y

apoptosis vía, en parte por, CD14/ Receptor 4 semejante a Toll (TLR4). La inducción de la liberación del citocromo *c* puede haber sido debido a la desfosforilación de Akt y Bad, las cuales son inducidas por CHX y LPS. Los resultados enfatizan el posible papel importante de la vía apoptótica mitocondrial guiando la activación de la caspasa-3 en la apoptosis de macrófagos humanos inducida por LPS en presencia de CHX ⁽³⁰⁾.

El lipopolisacárido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* estimula la liberación de IL-1 β de leucocitos polimorfonucleares así como de otras citocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e interleucina 8 (IL-8). El lípido A y el lipopolisacárido del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo b induce la liberación de la citocina pro- inflamatoria interleucina 1(IL-1) en macrófagos peritoneales y células de la línea de los macrófagos ⁽²⁴⁾.

Análisis comparativos de la capacidad del LPS, proteínas asociadas al lípido A, y proteínas secretadas por *Actinobacillus actinomycetemcomitans* para estimular la síntesis de citocinas por monocitos humanos revelaron que el LPS fue el agonista más débil siendo más potentes y eficaces las proteínas secretadas ⁽⁶⁾.

Proteínas de choque térmico

La fisiología y propiedades patogénicas de los microorganismos están influenciadas por cambios en las condiciones ambientales que conducen a la síntesis de proteínas específicas conocidas como las proteínas de choque térmico (HSPs). Las HSPs son familias de proteínas altamente conservadas cuyo papel principal es permitir a los microorganismos sobrevivir bajo condiciones de estrés ^(4, 10). Las HSPs actúan como moléculas chaperonas en el ensamblaje y plegamiento de proteínas, y como proteasas cuando proteínas tóxicas o dañadas necesitan ser degradadas. Puesto que estas proteínas son antígenos inmunodominantes en muchos patógenos humanos, recientemente los estudios se han enfocado en las contribuciones potenciales de las HSPs a las enfermedades orales. La citotoxicidad de algunas HSPs bacteriales puede contribuir a la destrucción tisular, mientras que la presencia de epítopes comunes entre proteínas del hospedero y HSPs microbiales pueden conducir a respuestas autoinmunes ^(4, 10, 31).

Las HSPs comúnmente están agrupadas en familias basadas en su peso molecular: HSPs pequeñas, proteínas homólogas a GroES o HSP10 (~ 10 kDa), proteínas homólogas a DnaJ o HSP40 (~ 40 kDa), proteínas homólogas a GroEL o HSP60 (~ 60 kDa), proteínas homólogas a DnaK o HSP 70 (~ 70 kDa), proteínas homólogas a HptG o HSP90 (~ 90 kDa) y proteasas dependientes de ATP Clp ^(4, 10).

Células de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* pre-estresadas a 43° C fueron transitoriamente protegidas contra el estrés por una temperatura letal. Un estrés de pH subletal también protegió transitoriamente a la células de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* de un pH letal de 4.5. Esta respuesta involucró una sobreexpresión de proteínas homólogas a GroEL (**Figs. 23, 24**) y a

DnaK^(4, 15); aunque ha sido reportada previamente la producción de HSPs en *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en ausencia de estrés.

No se ha observado correlación entre la expresión de HSPs y el serotipo u origen (salud/ enfermedad, oral/ no oral) de las cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*^(10, 15). Aún así se ha publicado que la saliva de pacientes con gingivitis contiene más anticuerpos GroEL anti-micobacteriales que la saliva de sujetos sanos o pacientes con periodontitis. Pacientes estudiados con periodontitis juvenil localizada tuvieron títulos más altos de anticuerpos a material asociado a la superficie de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, el cual contiene GroEL, que los pacientes con periodontitis generalizada severa. También se demostró que pacientes con tejidos periodontales sanos tuvieron títulos más altos de anticuerpos a numerosas HSPs que los pacientes con periodontitis, lo cual sugiere el papel protector asociado con estos anticuerpos⁽⁴⁾.

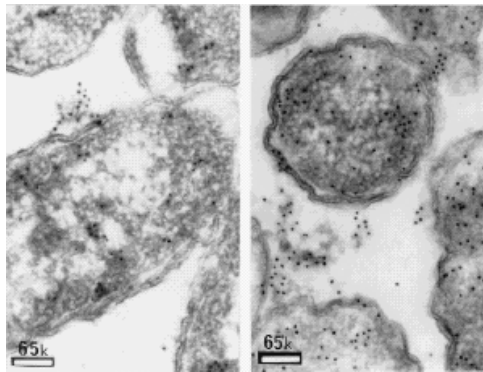


Fig. 23. Micrografías electrónicas mostrando detección con partículas de oro de proteína homóloga a GroEL en secciones ultradelgadas del *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. A 35°C (izquierda) o 43°C (derecha). (Goulhen F, Hafezi A, Uitto VJ, Hinode D, Nakamura R, Grenier D, Mayrand D. *Subcellular localization and cytotoxic activity of the GroEL-like protein isolated from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect. Immun. 1998; 66: 5307- 5313.)

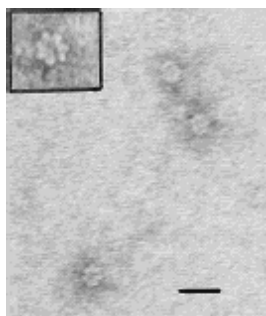


Fig. 24. Ultraestructura de la proteína homóloga a GroEL purificada. Está teñida con uranylacetato. (Goulhen F, Hafezi A, Uitto VJ, Hinode D, Nakamura R, Grenier D, Mayrand D. *Subcellular localization and cytotoxic activity of the GroEL-like protein isolated from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect. Immun. 1998; 66: 5307- 5313.)

Bajas concentraciones (0.1- 1 μ g de proteína por ml⁻¹) de GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* promueven la proliferación celular epitelial, mientras que altas concentraciones (10 μ g de proteína por ml⁻¹) producen efectos tóxicos. Al igual se reportó que el potencial para promover la proliferación de células epiteliales del ligamento periodontal está fuertemente correlacionado con altos niveles de GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en fracciones de la membrana ^(4, 15). La proliferación epitelial conduce a un incremento en la profundidad de la bolsa, y así, a un área grande para que crezcan las bacterias. La HSP homóloga a GroEL puede ser importante para la supervivencia bacterial en la bolsa periodontal y juega un papel importante en la patogénesis y progresión de la periodontitis al ejercer efectos de hiperproliferación y citotóxicos ⁽¹⁵⁾.

Se sugiere que la liberación de HSP60 exógena de la bacteria o células inflamatorias pueden promover la inhibición de la expresión de la integrina $\alpha 6\beta 4$, la cuál es una integrina epitelial esencial en la proteína estructural de los hemidesmosomas, y la migración de células epiteliales a través de la activación del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR), y de dos proteínas cinasas activadas por mitógenos, el ERK y p38 ⁽³²⁾.

El GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* puede inducir osteólisis ^(4, 15, 21) y además puede incrementar la proliferación de queratinocitos humanos (de la línea celular de HaCaT) a través de la activación sostenida de ERK1 y dos proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAP) ⁽⁴⁾.

Mediante microscopía electrónica de transmisión se observa que la proteína homóloga a GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* se encuentra localizada en la superficie celular, en material asociado a la superficie y en vesículas de membrana externa producidas por la bacteria, así como en el citoplasma y en el periplasma. La localización de HSPs en la superficie de la célula bacteriana permite la rápida expresión de HSP y hacer un rápido contacto

con posibles células humanas ⁽¹⁵⁾. La proteína homóloga a GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es una molécula cilíndrica de 14 meros, con un diámetro del alrededor de 12 nm que consiste en dos anillos heptaméricos apilados con subunidades de 64-kDa. (Fig. 25)

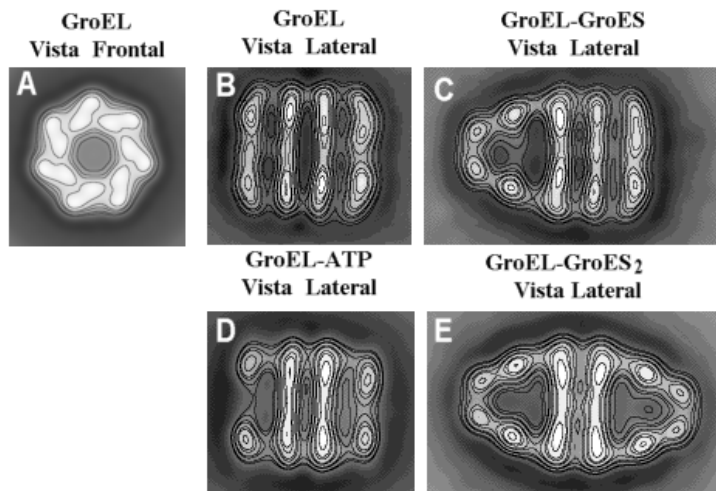


Fig. 25. Imágenes medias de GroEL, GroES y GroEL-GroES2. (Llorca O, Carrascosa JL, Valpuesta JM. *Las chaperoninas: Máquinas plegadoras de proteínas*. Ciencia al día. Internacional 2001; 4:)

Hasta la fecha, todos los GroELs interactúan con una proteína co-chaperona más pequeña con subunidades de 10- kDa (GroES). En *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, los genes que codifican a GroES y a GroEL están ordenados en un operón. Las proteínas homólogas a GroEL y a GroES de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* comparten, respectivamente, el 87% y el 85% de identidad con el con las proteínas homólogas a GroEL y a GroES de la bacteria *Escherichia coli*. Las secuencias de amino ácidos de la porción amino terminal de las proteínas GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tanerella forsythensis* comparten un alto grado de homología ⁽⁴⁾.

Se han caracterizado dos marcos de lectura abiertos (ORF) que codifican para DnaK (**Fig. 26**) y DnaJ en *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. El primer ORF codifica para un segmento de 633 aminoácidos que tiene un peso molecular aparente de 68.4 kDa y que comparte una homología del 84% con el DnaK de *Escherichia coli*. El segundo ORF codifica para un segmento de 376 aminoácidos que tiene un aparente peso molecular de 41.3 kDa y comparte una homología del 70% con el DnaJ del *Escherichia coli* ⁽⁴⁾. La proteína homóloga a Dna- K del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* está presente en el citoplasma y periplasma ⁽¹⁵⁾.

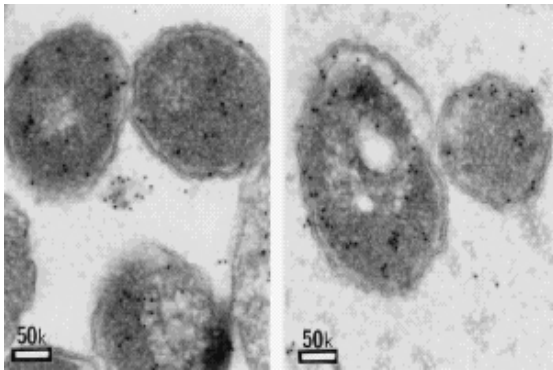


Fig. 26 Detección partículas de oro de proteína homóloga a DnaK en secciones ultradelgadas del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a 35° C (izquierda) o 43° C (derecha) (Goulhen F, Hafezi A, Uitto VJ, Hinode D, Nakamura R, Grenier D, Mayrand D. *Subcellular localization and cytotoxic activity of the GroEl- like protein isolated from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect. Immun. 1998; 66: 5307- 5313.)

Las HSP90 asociadas a la membrana pueden actuar como receptores o servir para estabilizar o transportar factores de virulencia bacterial. EL HtpG de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* comparte 83% de similitud con del HtpG del *Escherichia coli*.

Se ha sugerido que las HSPs bacteriales son producidas en los sitios periodontales y que éstas pueden formar inmunocomplejos con anticuerpos específicos. El sistema inmune puede evitar actuar contra las HSPs porque están altamente conservadas, pero debido a que la biosfera expresa HSPs, el sistema inmune pudiera ser engañado. Además, ya que las HSPs son muy abundantes durante condiciones de estrés y no son exclusivamente proteínas intracelulares,

como se demostró con *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, pueden ser presentados a macrófagos como antígenos extraños por los linfocitos ⁽⁴⁾.

Se ha mostrado que la proteína homóloga a GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es un antígeno inmunodominante en humanos ^(4, 10).

Las GroELs y, las aún menos extendidas, DnaKs de muchas bacterias patogénicas pueden convertirse en los mayores antígenos, puesto que son expresados fuertemente bajo condiciones estresantes. Estas HSPs son antigénicas, y el reconocimiento de epítopes específicos en tales antígenos pueden contribuir a una inmunidad protectora o pueden tener consecuencias autoinmunes patológicas ^(4, 31). Se ha reportado un análisis comparativo de las secuencias de aminoácidos de la proteína homóloga a GroEL de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y la fibronectina humana revelando cuatro secuencias de aminoácidos homólogas entre éstas dos proteínas ⁽³⁰⁾. Debido a las similitudes entre HSPs de mamíferos y microbiales, una respuesta humoral contra HSPs microbiales puede ser destructiva para el hospedero debido al mimetismo del antígeno que conduce a una respuesta autoinmune ^(4, 10).

Proteínas de membrana externa

Otro posible mecanismo de virulencia asociado con *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es la producción de proteínas de membrana externa (Omps), las cuales también se encuentran en muchas bacterias Gram- negativas. Algunas han sido identificadas como porinas, receptores de la porción Fc y también como factores de virulencia incluyendo adhesinas, invasinas y factores envueltos en la resistencia a la muerte y opsonización en suero. Como su nombre lo indica, están localizadas en la membrana externa ^(7, 9).

En un estudio ⁽¹⁹⁾ se descubrió que todas las células sonicadas investigadas en suero de pacientes con periodontitis agresiva localizada mostraron 13 bandas inmunoreactivas mayores con un rango de masa molecular de 14- 78 kDa .

En cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo b ⁽⁹⁾ se han identificado seis principales proteínas de membrana externa insolubles en sarcosil, y han sido designados como Omp100, Omp64, Omp39, Omp29, Omp18 y Omp16 de acuerdo con su masa molecular. Sin embargo, todas ellas están presentes en todas las cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ⁽⁹⁾. Esta proteína está presente como un homo- o heterocomplejo ⁽³³⁾.

El patrón de migración de la Omp 100 es diferente dependiendo de las concentraciones de gel de poliacrilamida, la masa molecular de Omp100 fue calculada en 100 kDa en un gel al 12%, de 85 kDa en un gel al 10%, y de 78 kDa en un gel al 7.5% ⁽⁹⁾.

La Omp 100 (**Fig. 27**) no mostró ninguna similitud en su totalidad con otras proteínas. Esta proteína tiene una región conservada en la porción carboxilo-terminal y muestra menos homología en la porción amino- terminal, una región asociada con la virulencia. Una región carboxilo- terminal bien conservada puede contribuir a la estructura común, exponiendo la región amino- terminal a la superficie celular. Las diferencias en la porción amino- terminal entre especies

puede revelar una variedad de características de virulencia potencial ⁽²⁷⁾. Muestra homología a una familia de proteínas con múltiples funciones incluyendo, adhesión, invasión y resistencia al suero, encontrada en algunas bacterias Gram-negativas. Un mutante al cual se eliminó la Omp100 mostró un decremento en la adhesión e invasión en un 60%, comparada con la especie natural. La Omp100 induce respuestas de las citocinas inflamatorias interleucina (IL)- 8, IL-6 y del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) en células epiteliales, e induce la producción IL-1 β y TNF- α en macrófagos de ratones, lo que demuestra que la Omp es un factor de virulencia versátil ⁽³³⁾.

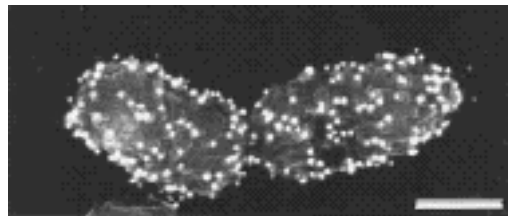


Fig. 27. Localización de Omp100 en la superficie celular de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* mediante microscopía electrónica. Se observan partículas de oro cuando suero anti-Omp 100 de conejo se usa como antisuero primario, puesto que ninguna partícula fue observada cuando fue usado suero de conejo preinmune.

La Omp64 comparte homología con varias proteínas reguladas por hierro en bacterias Gram- negativas, por lo que en *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, la Omp64 podría jugar un papel en la adquisición de hierro.

La Omp39 muestra similitud con las proteínas porinas que se encuentran en algunas bacterias Gram- negativas. Sin embargo, el suero sensibilizado con *Actinobacillus actinomycetemcomitans* no reacciona fuertemente con Omp39. La región expuesta a la superficie celular en Omp39 puede ser menos antigénica comparada con otras Omps.

Se sugiere ⁽⁷⁾ que la Omp18 y la Omp16 son el producto de un gen similar debido a sus secuencias idénticas de aminoácidos en la porción amino- terminal.

Pero, no se puede excluir por completo la posibilidad de que estas dos proteínas estén relacionadas muy cercanamente. El suero anti-Omp18 reacciona con ambas proteínas, pero el suero de pacientes solamente reaccionó con la proteína Omp16. La masa molecular predicha del producto del gen *omp18/16* eliminando una señal de secuencia es de 18 kDa, así se considera que Omp16 está modificada estructuralmente o es modificada con sacárido y/o lípido.

Ha sido identificada la principal proteína de unión a Fc de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotipo c como una proteína de membrana externa modificable con calor y ha sido llamada Omp34⁽⁷⁾. La molécula madura de la Omp34 tiene una masa molécula de 34,911 Da y el gene correspondiente ha sido llamado *omp34*. Es el blanco primordial para los anticuerpos de inmunoglobulina G en el suero de pacientes con LAP^(7, 8). Tiene una identidad significativa con los miembros de la familia de las proteínas OmpA de las bacterias Gram- negativas (**Fig. 28**). El pariente más cercano de la Omp34 identificado a la fecha es la proteína de membrana externa P5 (OmpP5) del *Haemophilus influenzae*; estas dos proteínas tienen una identidad del 67%⁽⁷⁾.

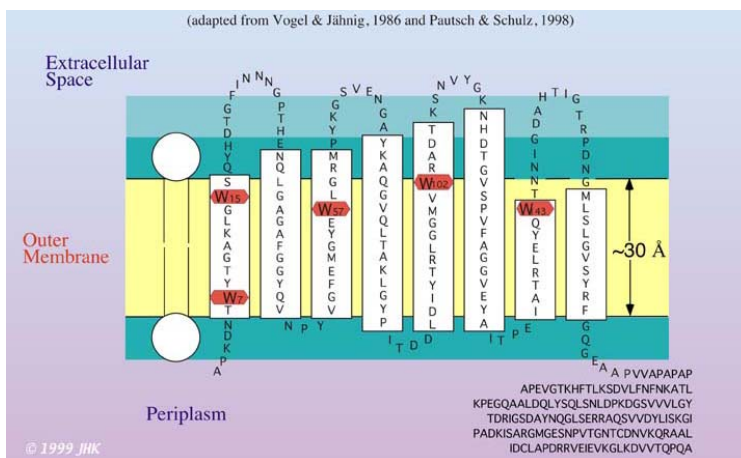


Fig. 28. Topología de la OmpA. (<http://www.biologie.uni-konstanz.de.html>)

Un posible papel de la Omp34 en la virulencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es señalado por su fuerte potencial inmunogénico y por sus propiedades de unión al Fc.

Se ha demostrado ⁽⁸⁾ que la Omp29 de un *Actinobacillus actinomycetemcomitans* del serotipo b es codificado también por el gen *omp34* que codifica a la proteína que produce el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* del serotipo c. Además la secuencia de aminoácidos concluida de la Omp29 de una cepa del serotipo b, coincide completamente (excepto en la posición 321 de la valina, comparada con la alanina en la misma posición de la cepa del serotipo c) con la secuencia de la Omp34 de la cepa del serotipo c.

La proteína Omp29 muestra una masa molecular aparente de 34 kDa cuando es calentada, pero de 29 kDa cuando no es calentada. Los hallazgos sugieren que la Omp29 de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* puede jugar un papel importante en la unión al endotelio o epitelio y/o por la invasión potencial a las células del hospedero ⁽⁸⁾.

Las Omp29 y 34 son las proteínas que reaccionan más intensamente con pacientes con periodontitis agresiva o con el suero de ratones inmunizados ⁽⁹⁾.

Fue reportado ⁽²⁴⁾ que el anticuerpo de subclase IgG3 en suero de pacientes con LAP se unió a un rango mayor de Omps de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* que IgG1 o IgG2. Sin embargo, un análisis de frecuencia en el suero de pacientes de unión a Omps antigénicas mostró que la distribución de subclases de IgG fue IgG2> IgG3>IgG1 >> IgG4. La distribución de subclases de IgG en suero de pacientes con LAP para proteínas de membrana externa de 29.0 y 16.6 kDa de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* fue de IgG2> IgG1 > IgG3. No fue detectado IgG4 para estas Omps ⁽²⁴⁾.

Actinobacillus actinomycetemcomitans tiene varias otras proteínas antigénicas de membrana externa mayores con masas moleculares de 110, 90, 80, 58, 48 y 31 kDa ⁽²⁴⁾, pero no hay suficientes reportes de ellas.

Se han monitoreado⁽¹⁹⁾ las respuestas de subclases de anticuerpos para una Omp de 110 kDa de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en pacientes con periodontitis después de 24 meses de recibir terapia total antimicrobial y/o disminución de la escala seguida por una terapia de soporte periodontal. Los pacientes con una alta respuesta a IgG4 a la proteína de 110 kDa incrementó significativamente el rango de supervivencia de los dientes. No fue encontrada una asociación significativa del resultado del tratamiento clínico para niveles en suero de antígenos específicos IgA, IgG1, IgG2 o IgG3, indicando que una respuesta del anticuerpo IgG4 a la proteína 110 kDa puede tener un efecto protector en la periodontitis asociada con *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

CONCLUSIONES

- Según las pautas propuestas por Sigmund Socransky para juzgar a gérmenes periodontales, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cumple con todos los puntos para ser considerado un patógeno periodontal.
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans* es un cocobacilo anaeróbico facultativo, Gram- negativo, inmóvil, capnofílico, no formador de esporas que crece individualmente, en pares o en grupos pequeños.
- Está implicado en la patogenia de varias enfermedades infecciosas, orales y no orales.
- Se encuentra en individuos con periodontitis (principalmente periodontitis agresiva localizada) y sanos, pero no en individuos edéntulos. Su mecanismo de acción en la enfermedad periodontal no es claro aún.
- Sus colonias pueden ser rugosas o lisas, y ocasionalmente la transición de una forma a otra hace que la célula sufra una fase intermedia. Esta transición depende de mutaciones al azar del un operón.
- La adhesión que muestran algunas cepas de este microorganismo es debido en parte a paquetes de fimbrias en su superficie. 14 genes que residen en el operón *flp* son los encargados de la biogénesis de estas fimbrias, pero este operón no está realmente distribuido entre todas las especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.
- Otros elementos secretados por *Actinobacillus actinomycetemcomitans* parecen contribuir a su agregación y adherencia como son los exopolímeros, vesículas y glicoconjugados; al igual que algunas proteínas de membrana externa e interna.
- Este microorganismo tiene seis serotipos distintos (a-f), cuya clasificación está basada en polisacáridos localizados en el lado O de las cadenas de lipopolisacárido.

- Se han identificado tres posibles receptores de la superficie de la célula blanco que se unen al *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: receptor de transferrina, integrinas o receptores del factor de activación plaquetaria.
- Las señales que dispara *Actinobacillus actinomycetemcomitans* después de unirse a los receptores de la célula del hospedero aún están indefinidas. Después de esta unión, esta bacteria destruye las microvellosidades y forma cráteres en la superficie de las células del hospedero.
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sale rápidamente de la célula después de la invasión y se mueve hábilmente de una célula a otra; ambas acciones son dependientes de los microtúbulos de la célula del hospedero.
- Es un microorganismo complejo y no todos los factores de virulencia de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* han sido identificados.
- La leucotoxina de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ataca a células inflamatorias, por lo que da como resultado una mala respuesta inmune e induce la producción de citocinas (TNF- α , IL-6) y MMP-8.
- Los 2 mecanismos de muerte celular mediados por la leucotoxina de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* son la necrosis y la apoptosis.
- La capacidad de las cepas de producir altas o bajas concentraciones de leucotoxina se debe a una variación en la secuencia de DNA de la región promotora.
- El 85% de las cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* producen la toxina de distensión citoletal (Cdt) que estimula monocitos para producir citocinas (IL-1 β , IL-6 e IL-8) e induce la expresión de RANKL e IL-6 en células del tejido conectivo periodontal. También causa arresto en el ciclo celular en las fases G1 y/o G2/M, distensión celular, alargamiento nuclear y/o apoptosis.
- Las distintas células del periodonto responden de manera diferente a la Cdt.
- Se necesitan de las tres unidades de la Cdt para producir su máxima toxicidad.

- La Cdt puede usar el glucoesfingolípido GM3, otros glucolípidos o materiales orgánicos como receptores de superficie celular.
- Hay pocos reporte acerca del mecanismo de acción del lipopolisacárido de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, pero se sabe que estimula células del hospedero para producir citocinas inflamatorias, induce resorción ósea y en algunos casos inhibe o causa apoptosis; aunque su efecto difiere entre tipos celulares y líneas celulares y múltiples mecanismos moleculares están implicados en su regulación.
- El lipopolisacárido con la cicloheximida aumenta el porcentaje de apoptosis en las células infectadas.
- *Actinobacillus actinomycetemcomitans* también tiene proteínas de choque térmico, las cuales tienen una homología muy alta con aquellas de la bacteria *Escherichia coli*.
- Las proteínas de choque térmico ejercen efectos de hiperproliferación y citotóxicos.
- Estas proteínas de choque térmico están altamente conservadas y el sistema inmune pudiera ser engañado.
- Se han identificado muchas proteínas de membrana externas en *Actinobacillus actinomycetemcomitans* como factores de virulencia pero falta más estudio de cada una de ellas.

ANEXOS

Glosario

Ácido desoxiribonucleico (DNA): El portador de la información genética en las células, compuesto por dos cadenas complementarias de nucleótidos arrolladas en una doble hélice; capaz de autoreplicarse y de codificar la síntesis de RNA.

Ácido ribonucleico (RNA): Clase de ácidos nucleicos caracterizada por la presencia del azúcar ribosa y la pirimidina uracilo, incluye mRNA, tRNA y rRNA. El RNA es el material genético de muchos virus.

Actina. Una proteína compuesta por subunidades globulares, que forma filamentos que se encuentran entre los componentes principales del citoesqueleto. También una de las dos proteínas principales del músculo.

Adenosina-5'-trifosfato (ATP). El nucleótido que suministra la moneda de corriente energética para el metabolismo celular; compuesto por adenina, ribosa y tres grupos fosfatos. Al hidrolizarse, el ATP pierde un grupo fosfato y un ion hidrógeno para transformarse en adenosina difosfato (ADP), liberando energía en el proceso.

Amino terminal: (también denominado N- terminal). El extremo de una cadena polipeptídica que contiene un grupo amino sin reaccionar. Un ribosoma sintetiza un polipéptido en la dirección que va del amino terminal al carboxilo terminal.

Anaeróbico: Célula u organismo que puede vivir en ausencia de oxígeno libre; los anaerobios obligados no pueden vivir en presencia de oxígeno; los facultativos pueden existir con oxígeno o sin él.

Anticuerpo monoclonal: Las células productoras de anticuerpos mueren, normalmente, después de unas pocas divisiones celulares de modo que una de ellas no puede cultivarse (clonarse) para producir una especie sola de anticuerpo en cantidades útiles. Estos anticuerpos monoclonales pueden

obtenerse por fusión de una célula productora de anticuerpo deseado con una célula de un sistema inmune de cáncer conocida como mieloma.

Anticuerpos: (también denominados inmunoglobulinas). Conjunto de proteínas relacionadas producidas por los linfocitos B que pueden unirse de manera específica con los antígenos. Algunos tipos se liberan a los líquidos corporales y se encargan de la inmunidad humoral; otros tipos se mantienen en la superficie de la célula B, o son captados y presentados por otros tipos celulares.

Antígeno: Es una molécula que genera una respuesta inmune (denominada también inmunógeno) y segundo, una molécula que reacciona con anticuerpos o linfocitos T imprimados, independientemente de su capacidad de generarlos.

Akt: Es una serina-treonina cinasa, es decir, una enzima perteneciente a las familias de las cinasas con funciones en la transducción de señales proliferativas y antiapoptóticas en las células T.

Apoptosis: Muerte celular genéticamente programada y altamente regulada. La pérdida de la estructura homogénea de la membrana, la condensación nuclear y la fragmentación del DNA son características que se observan en la vía apoptótica.

Bad: Inductor de muerte asociado a Bcl-2 (Bcl-2-associated death promoter). Es una proteína proapoptótica mediante el secuestro (por heterodimerización) de Bcl-2 y análogos, dejando libre Bax. Bad puede ser regulado por fosforilación. Es un vínculo entre la señalización por factores de crecimiento y la apoptosis.

Bax: Proteína X asociada a Bcl-2 (Bcl-2-associated X protein, X por desconocido en su momento). Su oligomerización en la membrana mitocondrial induce la formación del poro que permite la liberación de citocromo c. Es una proteína proapoptótica cuya actividad está limitada por heterodimerización con Bcl-2 y

otros análogos antiapoptóticos. Otros miembros de la familia Bax son : Bak, Bok, Bik, Bad y Bid.

Bcl-2. Proteína antiapoptótica identificada en un linfoma de células B (B cell lymphoma) resistente a la apoptosis. Es el prototipo de una amplia familia, dentro de la cual se encuentra otras proteínas como Bcl-XL, Bcl-w, Mcl-1, entre otras. La acción antiapoptótica de Bcl-2 se debe fundamentalmente al secuestro de BAX por heterodimerización y a la inhibición de Apaf-1.

Capnófilo: Significa que el desarrollo de la bacteria es mejor en presencia del anhídrido carbónico.

Carboxilo terminal: (también llamado C- terminal). El extremo de una cadena polipeptídica que contiene un grupo carboxilo sin reaccionar.

Caspasa: (cisteinil-aspartil acid proteinases). Son las primeras moléculas efectoras identificadas en las vías de apoptosis. Se encuentran en forma de zimógenos inactivos. Estas proenzimas son activadas por proteólisis.

CD: Determinante de agrupamiento. Lo producen los linfocitos y permite la unión de la célula con el tejido conectivo.

CD14: El antígeno CD14 es una glucoproteína con un peso molecular de 55 kD. Es expresado en células de la línea mielomonocítica incluyendo monocitos, macrófagos y células Langerhans. Es un receptor para productos bacterianos como lipopolisacárido de bacterias Gram- negativas, ácidos lipoteicoicos de bacterias Gram- positivas, glucolípidos micobacteriales y de la proteína de unión al lipopolisacárido (LPS).

Células Jurkat: Una línea de células T humanas leucémicas.

Células planctónicas: Son de pequeño tamaño (“ultramicrobacterias”), de aproximadamente 0,3µm de diámetro) y se encuentran en un estado fisiológico aletargado o “durmiente”. Las mismas células en una biopelícula son mayores, y tienen una vida activa. La vida planctónica constituye fundamentalmente la forma de dispersión.

Ceramida: Es el derivado amídico con un ácido graso de cadena larga de la esfingosina. La ceramida se sintetiza a partir de la deshidroesfingosina y una molécula de acil graso CoA de cadena larga en una reacción catalizada por un enzima microsomal con la dihidroceramida como intermedio que se oxida a continuación por deshidrogenación en los carbonos 4 y 5. La ceramida libre no es un componente de los lípidos de membrana sino que es un intermediario en la biosíntesis y catabolismo de los glucoesfingolípidos y de la esfingomielina.

Cerebrósidos: Son un grupo de ceramidas monohexasas. Los dos cerebrósidos más comunes son el galactocerebrósido y el glucocerebrósido.

Ciclo de división celular: Es el mecanismo a través del cual todos los seres vivos se propagan. Un ciclo celular típico se da en dos fases gigantes que son. La interfase que se divide en tres fases: G1, S y G2 y la mitosis que se divide en profase, prometafase, metafase, anafase, telofase y citocinesis. La fase G₀ corresponde a un estado de reposo especial característico de algunas células.

Cicloheximida: Inhibidor de la traducción, eficaz solamente en las células eucariotas. Inhibe la actividad peptidiltransferasa de los ribosomas eucariotas y se utiliza a menudo en estudios bioquímicos cuando han de estudiarse los procesos en ausencia de síntesis proteica.

Cinasas: Enzimas que catalizan reacciones de activación, en las que generalmente ocurre una fosforilación y el grupo fosfato es donado por el ATP.

Cinasa MAPK/ERK (MEK): (MAPK kinase/ERK kinase). Es una cinasa de doble especificidad (Ser/Thr y Tyr) que activa las MAPKs del tipo ERK fosforilándolas. A su vez las MEK son activadas por fosforilación en Ser/Thr por MEKKs.

Cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK): (Extracellular signal-regulated kinase). Sea trata de dos cinasas efectoras de la familia de las

MAPKs. Son MAPK1 y MAPK2, también conocidas como p42 y p44. Son activadas por fosforilación doble por MEK.

Citocinas: Incluyen el grupo denominado con anterioridad linfocinas, monocinas, interleucinas, factores estimulantes de colonias, factores de necrosis tumoral, interferones y otros. Son proteínas solubles de secreción de bajo peso molecular, por lo general del orden de 15 a 25 kDa, que regulan la amplitud y duración de las respuestas inflamatorias inmunitarias. Deben ser producidas en forma transitoria y reguladas muy estrechamente por la presencia de material extraño. Son muy potentes; por lo general son pleitrópicas (con efectos múltiples sobre el crecimiento y la diferenciación de numerosos tipos celulares) y existe considerable superposición y redundancia entre ellas. Actúan como moléculas mensajeras.

Codón: Serie de tres bases nitrogenadas (nucleótidos) en un polinucleótido de ADN o ARN, portadoras de la información genética específica trasladada a un solo aminoácido en la síntesis de proteína.

Dalton: Unidad arbitraria de masa, que es 1/12 de la masa de núcleo del carbono-12, equivalente a $1,657 \times 10^{-24}$ g. Símbolo D o Da.

Epítope. Porción específica del antígeno que reconoce un determinado anticuerpo o un receptor de célula T. Está en contacto con el parátipe.

Esfingolípidos: Son lípidos complejos cuya estructura central la proporciona el aminoalcohol de cadena larga esfingosina. Los esfingolípidos se encuentran en la sangre y en casi todos los tejidos de los seres humanos. No obstante, las concentraciones más elevadas de esfingolípidos se encuentran en la sustancia blanca del sistema nervioso central. Diversos esfingolípidos son componentes de la membrana plasmática de prácticamente todas las células. El bloque estructural fundamental de los esfingolípidos naturales es la ceramida.

Estequiometría: Es la parte de la química que tiene por objeto calcular las cantidades en masas y volumen de las sustancias reaccionantes y los

productos de una reacción química. Encontramos: composición porcentual y molar, nomenclatura, leyes químicas, reacciones químicas, balanceo de ecuaciones.

Factor de necrosis tumoral (FNT): Linfocina que al ser secretada induce la síntesis de moléculas de adhesión sobre células endoteliales vasculares adyacentes, con poder microbicida y capacidad de matar ciertas células. En un principio se descubrió su potencial citotóxico al emplear células tumorales como células blanco.

Factor nuclear κ B (NF- κ B). Factor de transcripción que se une al elemento de control κ B, identificado en los genes de las cadenas κ de inmunoglobulinas en linfocitos B. Es un mediador de la inducción de genes proinflamatorios en respuesta a interleucinas y otros agentes.

Fibrillas: Son proyecciones finas, de aspecto veloso en la superficie de las bacterias Gram-positivas y algunas Gram-negativas, involucradas en la adherencia. No satisfacen los criterios morfológicos de las fimbrias.

Fimbrias: Pilis superficiales. Sustancias proteicas.

Fragmento cristizable (Fc): Fragmento en la región constante del anticuerpo que carece de capacidad de ligar al antígeno. Receptor necesario para la función antimicrobiana de los anticuerpos.

Gangliósido: Se adoptó este nombre para la clase de glucoesfingolípidos que contienen ácido siálico y que están concentrados en gran cantidad en las células ganglionares del sistema nervioso central, especialmente en las terminaciones nerviosas. El ácido neuramínico está presente en los gangliósidos, glucoproteínas y mucinas. El grupo amino del neuramínico se halla frecuentemente en forma de derivado N-acetilo denominándose la estructura resultante ácido N-acetilneuramínico o ácido siálico, abreviado comúnmente NANA. Algunos gangliósidos son: G_{M3} , G_{M2} , G_{M1} , G_{D1a} , G_{D1b} , G_{T1a} , G_{T1b} , G_{Q1b} .

Glucoesfingolípidos: Son esfingolípidos que contienen glúcidos. Las principales clases de glucoesfingolípidos son los cerebrósidos, sulfátidos, globósidos y gangliósidos.

ICAM-1: Molécula 1 de adhesión intercelular. Ayuda a leucocitos a unirse a las vénulas postcapilares y ayudan a las células a dejar el vaso sanguíneo.

Inhibidor tisular de las metaloproteinasas de la matriz (TIMP): Bloquean la actividad proteolítica de MMPs. Los TIMPs son los principales reguladores endógenos de la actividad de MMP en el microambiente de los tejidos. Cuatro TIMPs homólogos ha sido caracterizados: TIMP-1,-2, -3, y -4. Los TIMPs. además de inhibir las MMPs, tienen la capacidad de estimular la proliferación celular, inducción o inhibición de la apoptosis, y la inducción dela expresión de MMPs *in vitro*.

Inmunoglobulina G (IgG): También denominada γ -*globulina*. Las moléculas de IgG son los anticuerpos circulantes más abundantes. Una variante de ellas se fija a las superficies de las células B. Las moléculas IgG están formadas por una sola unidad en forma de Y y pueden atravesar con bastante facilidad las paredes de los vasos sanguíneos; también traviesan la placenta y llevan parte de la protección inmunitaria materna al feto en desarrollo. Este paso está permitido por receptores específicos. La IgG desencadena también el sistema de complemento.

Interleucina (IL): Son miembros de las citocinas. Se involucran en la comunicación entre leucocitos y las otras células implicadas en los procesos inmunitarios e inflamatorios (epiteliales, endoteliales y fibroblastos).

Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa- β (RANKL): Miembro de la superfamilia de ligando del factor de necrosis tumoral (FNT). Se encuentra en la membrana de las células osteoblásticas. Activa al receptor RANK. Necesario para la activación y diferenciación osteoclástica.

Ligando: En general, una molécula pequeña que se une de manera específica a otra más grande; por ejemplo, una hormona que se une a un receptor.

Línea HeLa: Células tumorales epiteliales de cérvix humano, obtenidas por Jey en 1951.

Línea Hep- 2: Deriva de carcinoma de laringe humana, aislada por Moore en 1952.

Línea HL-60: Línea promielocítica.

Linfocitos colaboradores: Son linfocitos que regulan en los tejidos las respuestas inmunitarias humoral y de mediación celular por la vía de las citocinas. Son los Th1, Th2, Th3 y Th0.

Lipopolisacárido (LPS): Componente de la membrana externa en bacterias Gram-negativas. Se construye a partir de un lípido (conocido como lípido A) que se une a la porción hidrofóbica de la membrana externa. La porción que permanece fuera del lípido A consta de monómeros de polisacáridos conocidos como antígeno – O o polisacárido- O; este antígeno contiene glucosa, galactosa, N-acetilglucosamina, azúcares de ocho carbonos, KDO y heptosas (azúcares de siete carbonos).

MAP cinasas cinasas (MKK): (MAP kinase kinase). Se denomina así a una familia de proteína cinasas de especificidad dual capaces de fosforilar, presente en sus proteínas sustrato: las MAPKs. Cada tipo de MKK es específico para una de las 5 cascadas de MAPKs conocidas. MKK1/2 son más conocidas como MEK1/2.

Marco de lectura abierto (ORF): Región de DNA comprendida entre un codón de inicio y otro de terminación. Corresponde, por tanto, a la región del gen que codificará la proteína.

MD-2: Molécula que se asocia con la porción extracelular del TLR4 y aumenta la respuesta al lipopolisacárido.

Metaloproteinasas de la matriz (MMP): Son una familia de enzimas proteolíticas que degradan las moléculas de la matriz extracelular, como la colágena, la

gelatina y la elastina. Intervienen en la destrucción del tejido periodontal. Las MMP-1 y MMP-8 son colagenasas.

Necrosis: Muerte de células y tejido en el organismo vivo. Las causas pueden ser muy variadas: problemas de irrigación sanguínea o provocada por agentes físicos, químicos o bacteriológicos. Este proceso, además, induce alteraciones a las células circundantes ya que el contenido del citoplasma de una célula es vertido al medio.

Núclido: Especie atómica caracterizada por el número atómico, el número de masa y el estado cuántico de su núcleo y es capaz de existir durante un periodo de tiempo medible (aproximadamente 10^{10} segundos).

Operón: Un conjunto de genes estructurales procariotas continuas que se transcriben como una unidad, junto con los elementos reguladores adyacentes que controlan su expresión.

Osteoprotegerina (OPG): Miembro de la superfamilia de receptores del FNT. Secretado por osteoblastos no anclados a la membrana. Actúa como receptor señuelo, se une al RANKL y lo neutraliza.

Parátopo: Porción de las regiones hipervariable sobre el anticuerpo que hace contacto con el antígeno.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa. Técnica que se utiliza para amplificar el número de copias de una secuencia de DNA específica mediante ciclos repetidos de desnaturalización y replicación.

Polinucleótido: Polímero de mononucleótidos formado por una secuencia de nucleótidos de ADN o ARN donde la posición 3' del azúcar de un nucleótido se une por medio de un grupo fosfato a la posición 5' del azúcar del nucleótido adyacente.

Promotor: Secuencia de DNA que puede unirse a la RNA polimerasa, dando lugar a la iniciación de la transcripción,

Prostaglandinas: Son metabolitos del ácido araquidónico que generan las ciclooxigenasas (COX-1, COX-2). IL1/3, TNF α y el LPS bacteriano regulan positivamente la COX-2, la cual al parecer es la que genera la prostaglandina PGE₂, que se relaciona con inflamación. La PGE₂ induce MMP y la resorción ósea osteoclástica.

Proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK): (Mitogen-activated protein kinase). Una familia de Ser/Thr-proteína cinasas efectoras en la ruta de las tirosina cinasas. Estas cinasas se activan por doble fosforilación en un motivo por las cinasas duales MEK. Es una denominación general que se aplica más típicamente a ERK1/2, pero también comprende p38 SAPK, JNKs y otras cinasas. Como su nombre indica, participan en la activación de la proliferación celular.

Proteína cinasas C (PKCs): Son una familia de isoenzimas que están ampliamente distribuidas en tejidos y órganos de mamíferos. Esta familia de serina/treonina proteína cinasas está constituida por varias subfamilias que engloban distintas isoformas. Hasta el momento, se conocen 11 isoenzimas de PKC diferentes. Aunque todas las isoformas de PKC se activan mediante fosfolípidos, estas isoenzimas en particular se diferencian marcadamente en su sensibilidad hacia el calcio. Una vez activada, se transloca a la membrana celular donde en presencia de fosfolípidos ejerce su función de cinasa de proteínas en aminoácidos *serina* y *treonina*. La implicación de las PKCs en el transcurso de activación de células T ha sido bien establecida desde finales de los años 70.

Proteínas de choque térmico (Hsp): Proteínas producidas por las eucariotas en respuesta a las elevadas temperaturas. Su síntesis es regulada por el factor de transcripción de choque térmico (HSTF).

Proteínas G: Familia de proteínas asociadas a la membrana que transducen las señales recibidas por diversos receptores de la superficie celular. Se les llama proteínas G porque para su acción es esencial la unión de GTP y GDP.

Quimiocina: Abreviatura de la citocina quimiotáctica. Son más de 20, pero la más caracterizada es la IL-8. Reclutan células de defensa hacia áreas donde se les necesita. Importante en la respuesta de mediación celular.

Receptor activador del factor nuclear kappa- β (RANK): Proteína transmembrana expresada por osteoclastos. Su unión con RANKL conduce a la diferenciación y activación de osteoclastos.

Recombinación: Proceso que se produce en un organismo, por el cual dos moléculas de DNA de origen dan lugar a una molécula de DNA hija que combina segmentos procedentes de las dos moléculas originales. Puede comportar la integración de una molécula de DNA en la otra, la sustitución de un segmento de DNA por un segmento homólogo en otra molécula de DNA, o el intercambio de segmentos homólogos entre las dos moléculas de DNA.

Respuesta inmunitaria adquirida: Puede ser humoral y celular.

Respuesta inmunitaria celular: En esta respuesta, las células linfáticas, denominadas linfocitos T, que llevan moléculas similares a las inmunoglobulinas en sus superficies, identifican y destruyen a las células extrañas y aberrantes.

Respuesta inmunitaria humoral: En esta respuesta, las células linfáticas, denominadas linfocitos B, sintetizan moléculas de inmunoglobulina específicas que son secretadas de la célula y se unen a la sustancia invasora. Esta unión agrega la sustancia extraña y la marca para que sea destruida por las células denominadas macrófagos.

Respuesta inmunitaria innata: Respuesta que se produce sin contacto previo de la enfermedad. La conforman las barreras físicas de las superficies epiteliales

cutáneas y mucosas y los aspectos vascular y celular de las respuestas inflamatorias.

RNA mensajero (RNAm). RNA que contiene datos codificados y ordenados por DNA nuclear hacia el citoplasma. Es usado como molde en la síntesis de proteínas.

Sarcosil: Sol de sodio 97% $C_{15}H_{28}NO_3Na$. Tiene sabor dulce, se disuelve en agua y ligeramente soluble en alcohol. Es usado en la manufactura de surfactantes biodegradables y pastas dentales, así como en aplicaciones biológicas. Usado en lisis celular y así purificar RNA.

Serología: Se refiere al estudio del contenido de anticuerpos en el suero. En el laboratorio, los anticuerpos reaccionan con los antígenos de formas específicas, de tal manera que se pueden utilizar para confirmar la identidad del microorganismo en particular.

Tinción de Gram: Es una de las tinciones más comúnmente usadas, desarrollada por el histólogo Gram para diferenciar las bacterias dentro de un tejido, en dos grandes grupos. Aquellas bacterias que retienen cristal violeta se dice que son Gram- positivas, y aquellas que se decoloran durante la tinción se dice que son Gram- negativas.

TLR4: Receptor semejante a Toll 4. Es un componente crítico del receptor complejo heteromérico que transduce señales liberadas por el lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gram- negativas. El LPS se une a una proteína de unión a LPS (LBP) presente en suero. El complejo es luego reconocido por el receptor CD14. La estimulación por LPS va seguida de acercamiento físico CD14 y el complejo TLR4/MD-2.

Traducción: Segunda fase de la expresión genética que consiste en la síntesis de un polipéptido dirigida por un mRNA, de manera que la secuencia de nucleótidos del mRNA se “traduce” en una secuencia de aminoácidos de la proteína.

Transcripción: Síntesis de una molécula de RNA complementaria de una cadena de DNA, la información codificada en la secuencia de bases del DNA se “transcribe” pues a la versión de RNA molde de una sola cadena.

Transducción: Es la transferencia de DNA de una célula bacteriana a otra por medio de un virus, el bacteriófago o fago.

Vía Fas/ FasL: Es usada principalmente para regular la actividad de linfocitos y reactividad de granulocitos y para prevenir la sobre reactivación en ambos tipos de células.

Zimógenos: Moléculas que pasan a ser catalíticamente activas cuando sufren la ruptura. Los zimógenos deben romperse proteolíticamente en el intestino para producir las enzimas activas.

5', 3': Dirección en la que los nucleótidos se unen para formar a los polinucleótidos; el grupo fosfato en posición 5' de la pentosa se une por un enlace éster con el hidroxilo 3' de la pentosa del nucleótido vecino y así sucesivamente.

Tablas

Tabla. I Clasificación de las enfermedades periodontales y condiciones

- I. Enfermedades Gingivales
 - A. Enfermedades gingivales inducidas por placa dental
 1. Gingivitis asociada con placa dental solamente
 - a. sin otros factores locales contribuyentes
 - b. con otros factores locales contribuyentes (ver VII A)
 2. Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos
 - a. asociadas con el sistema endocrino
 - 1) gingivitis asociada a la pubertad
 - 2) gingivitis asociada al ciclo menstrual
 - 3) asociada al embarazo
 - a) gingivitis
 - b) granuloma piógeno
 - 4) diabetes mellitus asociada a gingivitis
 - b. asociadas con discracias sanguíneas
 - 1) gingivitis asociada a leucemia
 - 2) otras
 3. Enfermedades gingivales modificadas por medicamentos
 - a. enfermedades gingivales influenciadas por fármacos
 - 1) agrandamientos gingivales influenciados por fármacos
 - 2) gingivitis influenciada por fármacos
 - a) gingivitis asociada a anticonceptivos orales
 - b) otros
 4. Enfermedad gingival modificada por malnutrición
 - a. gingivitis por deficiencia del ácido ascórbico
 - b. otros
 - B. Lesiones gingivales no inducidas por placa
 1. Enfermedades gingivales de origen bacteriano específico
 - a. lesiones asociadas a la *Neisseria gonorrhoea*
 - b. lesiones asociadas al *Treponema pallidum*
 - c. lesiones asociadas a especies estreptocócicas
 - d. otras
 2. Enfermedades gingivales de origen viral
 - a. infecciones por herpesvirus
 - 1) gingivoestomatitis herpética primaria
 - 2) herpes oral recurrente
 - 3) infecciones por varicela- zoster
 - b. otros
 3. Enfermedades gingivales de origen micótico
 - a. infecciones por especies de *Cándida*
 - b. eritema linear gingival
 - c. histoplasmosis
 - d. otros
 4. Lesiones gingivales de origen genético
 - a. fibromatosis gingival hereditaria
 - b. otras
 5. Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas

- a. alteraciones mucocutáneas
 - 1) liquen plano
 - 2) penfigoide
 - 3) pénfigo vulgaris
 - 4) eritema multiforma
 - 5) lupus eritematoso
 - 6) inducido por fármacos
 - 7) otros
 - b. reacciones alérgicas
 - 1) materiales dentales restaurativos
 - a) mercurio
 - b) níquel
 - c) acrílico
 - d) otros
 - 2) reacciones atribuibles a:
 - a) pastas dentales/ dentríficos
 - b) enjuagues bucales/ lavados bucales
 - c) aditivos en la goma de mascar
 - d) alimentos y aditivos
 - 3) otros
 - 6. Lesiones traumáticas (artificiales, iatrogénicas, accidentales)
 - a. daño químico
 - b. daño físico
 - c. daño térmico
 - 7. Reacciones a cuerpo extraño
 - 8. Otros no especificados (ONE)
- II. Periodontitis Crónica
- A. Localizada
 - B. Generalizada
- III. Periodontitis Agresiva
- A. Localizada
 - B. Generalizada
- IV. Periodontitis como una Manifestación de Enfermedades Sistémicas
- A. Asociada con alteraciones hematológicas
 - 1. Neutropenia adquirida
 - 2. Leucemia
 - 3. Otros
 - B. Asociado a alteraciones genéticas
 - 1. Neutropenia familiar y cíclica
 - 2. Síndrome de Down
 - 3. Síndrome de deficiencia en la adhesión del leucocito
 - 4. Síndrome Papillón- Lefèbre
 - 5. Síndrome Chediak- Hagashi
 - 6. Síndromes Histocitosis
 - 7. Enfermedad de almacenamiento de glucógeno
 - 8. Agranulocitosis genética infantil
 - 9. Síndrome de Cohen
 - 10. Síndrome de Ehlers- Danlos (Tipos IV y VIII)
 - 11. Hipofosfatasa
 - 12. Otros
 - C. Otros no especificados (ONE)

- V. Enfermedades Periodontales Necrotizantes
 - A. Gingivitis ulcerosa necrozante (GUN)
 - B. Periodontitis ulcerosa necrozante (PUN)
- VI. Abscesos del Periodonto
 - A. Absceso gingival
 - B. Absceso periodontal
 - C. Absceso pericoronar
- VII. Periodontitis Asociada con Lesiones Endodóncicas
 - A. Lesiones combinadas periodóncicas- endodóncicas
- VIII. Deformidades y Condiciones del Desarrollo o Adquiridas
 - A. Factores relacionados el diente que modifican o predisponen las enfermedades gingivales inducidas por placa/ periodontitis
 - 1. Factores anatómicos dentarios
 - 2. Restauraciones /Aparatos dentarios
 - 3. Fracturas radiculares
 - 4. Resorción radicular cervical y perlas del cemento
 - B. Deformidades y condiciones mucogingivales alrededor de los dientes
 - 1. Recesión gingival/ tejido blando
 - a. superficies faciales o linguales
 - b. interproximal (papilar)
 - 2. Falta de encía queratinizada
 - 3. Profundidad del vestíbulo disminuido
 - 4. Posición aberrante del frenillo/ mascullo
 - 5. Exceso gingival
 - a. pseudobolsa
 - b. margen gingival inconsistente
 - c. excesiva muestra gingival
 - d. agrandamiento gingival (ver I. A. 3. y I. B. 4.)
 - 6. Color anormal
 - C. Deformidades y condiciones mucogingivales en rebordes edéntulos
 - 1. Deficiencia vertical y/o horizontal del reborde
 - 2. Falta de tejido gingival/ queratinizado
 - 3. Agrandamiento gingival/ tejido blando
 - 4. Posición aberrante del frenillo / músculo
 - 5. Profundidad del vestíbulo disminuida
 - 6. Color anormal
 - D. Trauma oclusal
 - 1. Trauma oclusal primario
 - 2. Trauma oclusal secundario

Armitage GC. *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions.* Northwest Dentistry 2000; 79(6): 31- 35.

Tabla II. Células del sistema inmunológico				
Leucocitos	Niveles normales en sangre (por mm³)	Propiedades notables (diámetro celular en sangre)	Receptores importantes en las interacciones con el antígeno	Funciones importantes en la inflamación
<u>Células mieloides</u>				
Neutrófilo	4 000 a 8 000	Termina de diferenciarse en sangre, citoplasma granular (9 a 10 μm)	CR1, CR3 (Mac-1) CR4 FcγRII C5aR(CD88) CR1, CR3 (Mac- 1)	Destrucción por fagocitosis de microorganismos
Monocito	200 a 800	Inmaduro en sangre (9 a 10μm)	CR4, CD1 FcγRI, FcγRII Clase II del MHC C5aR (CD88)	Puede diferenciarse y transformarse en macrófago, con diámetros > 20 μm Funciones en la fagocitosis y el proceso y presentación del antígeno
Célula dendrítica periférica	N/ A	Inmaduro en sangre (9 a 10 μm)	ICAM-1, LFA-1 Clase II del MHC CD1	Residente en el epitelio parabasal Funciona en el proceso y la presentación del antígeno
Eosinófilo	50 a 300	Termina de diferenciarse en sangre, citoplasma granular (9 a 10 μm)	FCεRII (baja afinidad) FCγRII C5aR (CD88) CD1, CR3 (Mac-1) CR4	Actividad antiparasitaria y antihelmíntica mediada por IgE
Basófilo	0 a 100	Termina de diferenciarse en sangre, citoplasma granular (9 a 10 μm)	FCεRI (alta afinidad) CR1, CR3, CR4 C5aR (CD88)	El perfil de receptores sugiere que las células pueden responder a las infecciones bacterianas y parasitarias.

Célula cebada	N/A	N/A	FcεRI (alta afinidad) C3aR C5aR (CD88) CR4	Residente en el tejido conectivo perivascular Efectos anafilácticos en respuesta a C3a y C5a Antígeno reconocido por IgE
<u>Células linfoides</u>				
Células CD4+	T 400 a 1600	(8 a 10 μm)	TCR, CD4	Examinan el antígeno que le presentan las células expertas presentadoras de antígeno En la inflamación, esto puede producir la expansión clonal de las células B y células T
Células CD8+	T 200 a 800	(8 a 10 μm)	TCR, CD8	Examinan el antígeno presentado por todas las células En la inflamación, esto puede producir la expansión clonal y la muerte de la célula presentadora de antígeno
Células B	200 a 800	(8 a 10 μm)	BCR Clase II del MHC	Unión a antígenos solubles, proceso y presentación del antígeno En la inflamación, esto puede producir expansión clonal y secreción de anticuerpos
Células NK	100 a 500	(8 a 15 μm)	KIR, KAR	Examen de los antígenos celulares, con muerte de la célula blanco si KAR examina el antígeno, sin muerte si FIR examina el antígeno
N/A- no aplicable. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. <i>Periodontología Clínica</i> . 9ª. ed. U.S.A. Ed. McGraw Hill Interamericana, 2002. Pp. 120.				

Tabla III. Citocinas: origen y función		
CITOCINA	FUENTE	FUNCIÓN ESTIMULADORA
INTERLEUCINAS		
IL-1: IL-1 α IL-1 β	Mo, fibroblastos, céls. cebadas, queratinocitos, céls. endoteliales, LPS bacteriano.	Proliferación de linfocitos B y T activados Inducción de PGE ₂ y citocinas por Mo Inducción de neutrófilos y moléculas de adhesión de T sobre células endoteliales Inducción de IL-6, IFN β 1 y GM-CSF Inducción de fiebre, proteínas de fase aguda, resorción ósea por osteoclastos.
IL-2	T	Crecimiento de linfocitos T y B activados; activación de linfocitos NK
IL-3	T, MC	Crecimiento y diferenciación de precursores hematopoyéticos. Crecimiento de mastocitos
IL-4	TCD4, MC, estroma de MO	Proliferación de B activados, t, mastocitos y precursores hematopoyéticos. Inducción de CMH clase II y Fc ϵ R en linfocitos B, p75 IL-2R en linfocitos T Modificación de isotipo a IgG1 e IgE Mo CPA y función citotóxica, fusión de Mo (inhibición de la migración)
IL-5	CD4 T, MC	Proliferación de linfocitos B activados; producción de IgM e IgA Proliferación de eosinófilo, expresión de p55 IL-2R
IL-6	TCD4, Mo, MC, fibroblastos	Crecimiento y diferenciación de efectores de linfocitos B y T, y precursores hematopoyéticos Proteínas de fase aguda
IL-7	Células del estroma de MO	Proliferación de linfocitos pre- β , linfocitos T CD4, CD8 y linfocitos T maduros activados
IL-8	Monocitos	Quimiotaxis y activación de neutrófilos Quimiotaxis de linfocitos T
FACTORES ESTIMULANTES DE COLONIAS		
GM-CSF	T, Mo, fibroblastos, MC, endotelio	Crecimiento de colonias de granulocitos y Mo Activación de Mo, neutrófilos y eosinófilos
G-CSF	Fibroblastos, endotelio	Crecimiento de granulocitos maduros
M-CSF	Fibroblastos, endotelio, epitelio	Crecimiento de colonias de macrófagos

FACTORES DE NECROSIS TUMORAL		
TNF- α	Mo, T	Citotoxicidad tumoral, inducción de producción de proteinazas y estimulación de osteoclastos;
TBF- β	TCD4	Inducción de proteínas de fase aguda Actividad anti-viral y anti-parasitaria Activación de células fagocíticas Inducción de IFN γ , TNF α , IL-1, GM-CSF e IL-6 Shock endotóxico
INTERFERONES		
IFN- α IFN- β INF- γ	Leucocitos Fibroblastos T (Mo?)	Anti-viral; expresión del CMH de clase I Anti- viral; activación de Mo Expresión de CMH de clase I y II en Mo y otras células Diferenciación de T citotóxicos Síntesis de IgG2a por B activados Antagonismo de varias acciones de IL-4
OTROS		
TGF- β	T, B	Inhibición de la regulación ascendente de IL-2R y proliferación de linfocitos T y B dependiente de IL-2 Inhibición (por TGF β 1) de IL-3 + hematopoyesis inducida por CSF Modificación de isotipo a IgA Reparación de heridas (quimiotaxina de fibroblastos) y angiogénesis Transformación neoplásica en ciertas células normales
CSIF LIF	TCD4 T	Inhibe la secreción de IFN γ Proliferación de stem cells embrionarias sin afectar la diferenciación, quimiatracción y activación de eosinófilos

Roit IM. *Inmunología. Fundamentos. 7a. ed.* España. Ed. Medica Panamericana, 1994, P.p. 138.

Mo- macrófago; MO- mastocito; BM- médula osea.

Tabla IV. Características diferenciales de especies <i>Actinobacillus</i>					
Características	1. <i>A. lignieresii</i>	2. <i>A. equuli</i>	3. <i>A. suis</i>	4. <i>A. capsulatus</i>	5. <i>A. Actinobacillus actinomyces cetemcomitans</i>
Hemólisis en agar sangre de borrego	-	d	+	-	-
Hidrólisis de: Hipurato de sodio Esculina	- -	+ -	+ +	(+) ^b	-
Fermentación de:					
Celobiosa	-	-	+		-
Lactosa	(+)	+	+	+	-
Manitol	+	+	-	+	d
Melibiosa	-	-	+	+	-
Trehalosa	-	+	+	+	-

Krieg NR, Holt HJ. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Volumen 1. Ed. Williams and Wilkins. USA. 1984

(+), reacción retardada

b Resultados con una sola cepa.

Tabla IVa. Otras características de especies *Actinobacillus*.

Características	1. <i>A. ligniteresii</i>	2. <i>A. equuli</i>	3. <i>A. suis</i>	4. <i>A. capsulatus</i>	5. <i>A. actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
Cápsulas formadas	-	-	-	+	-
Exudación extracelular presente en : Preparaciones húmedas	+	+	+	-	
Manchas decoloradas	-	+	+	-	
Crecimiento en agar MacConkey	+	+	+	+	-
Catalasa	d	d	+	+	+
Oxidasa	+	d	d	+	+
Fosfatasa	+	+	+	+	+
Gelatinasa	-	d	-	-	-
Hidrógeno de sulfuro producido	+	d	-	-	-
Prueba de rojo de metilo	-	-	-		
Prueba Voges-Proskauer	d	-	-		
Prueba de azul de metileno	+	d	d		
Gluconato de sodio oxidado	-	-	-		
Almidón sintetizado de:					
Glucosa	+	d	-		
Maltosa	+	d	-		
Lisina descarboxilasa	-	-	-	-	-
Ornitina descarboxilasa	-	-	-	-	-
Arginina dihidrolasa	-	-	-	-	-
Fermentación (ácido no gas) de:					
Adonitol	-	-	-	-	-
Arabinosa	d	d	+	-	-
Dextrina	+	+	+		v
Dulcitol	-	-	-	-	-
Fructosa	+	+	+	+	+
Galactosa	+	+	+	+	d
Glucosa	+	+	+	+	+
Glicerol	d	d	+		-
Inositol	-	-	-	-	-
Inulina	-	-	-		-
Maltosa	+	+	+	+	+
Manosa	+	+	+	+	+
Rafinosa	d	+	+	+	-
Ramnosa	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	d	-	+	-
Sorbosa	-	-	-	-	-
Almidón	-	d	d	-	d
Sucrosa	+	+	+	+	-
Xilosa	+	+	+	+	D

Krieg NR, Holt HJ. *Bergey's manual of Systematic Bacteriology*. Volumen 1. Ed. Williams and Wilkins. USA. 1984

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Jonson NW. *Periodontal diseases*. Lancet 2005; 366: 1809-1817
2. Johanson A, Buhlin K, Koski R, Gustafsson A. *The immunoreactivity of systemic antibodies to Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in adult periodontitis*. Eur. J. Oral Sci. 2005; 113: 197- 202.
3. Teng YA. *The role of acquired immunity and periodontal disease progression*. Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 2003; 14: 237- 252.
4. Goulhen F, Grenier D, Mayrand D. *Oral microbial heat-shock proteins and their potential contributions to infections*. Crit Rev Oral Biol Med 2003; 14: 399- 412.
5. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. *Periodontología Clínica*. 9^a. ed. U.S.A. Ed. McGraw Hill Interamericana, 2002. Pp. 99- 195.
6. Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. *Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Annu. Rev. Microbiol. 2003; 57: 29- 55.
7. White PA., Nair SP., KIM M., Wilson M., Henderson B. *Molecular characterization of an outer membrane protein of Actinobacillus actinomycetemcomitans belonging to the OmpA family*. Infect. Immun. 1998; 66: 369- 372.
8. Komatsuzawa h, Kawai t, Wilson MF, Taubman MA, Sugai M, Suginaka H. *Notes. Cloning of the gene encoding the Actinobacillus actinomycetemcomitans serotype b AmpA- Like outer membrane protein*. Infect. Immun. 1999; 67: 942- 945.
9. Komatsuzawa H, Asakawa R, Kawai T, Ochiai K, Fujiwara T, Taubman MA, Ohara M, Kurihara H, Sugai M. *Identification of six major outer membrane*

- proteins from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Gene 2002; 288: 195-201.
10. Goulhen F, Hafezi A, Uitto VJ, Hinode D, Nakamura R, Grenier D, Mayrand D. *Subcellular localization and cytotoxic activity of the GroEl- like protein isolated from Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Infect. Immun. 1998; 66: 5307- 5313.
 11. Malheiros Vde J, Avila-Campos MJ. *Detection of pathogens from periodontal lesions*. Rev. Saúde Pública 2004; 38: 723-728.
 12. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Savelkoul PHM. *Periodontal pathogens: A quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR*. FEMS Immunol and Med Microbiol 2005; 45: 191-199.
 13. Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y, Chen C, Mattsson A. *Cell cycle arrest of human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by Actinobacillus actinomycetemcomitans: involvement of the cytolethal distending toxin*. AMPIS 2004; 112: 674- 685.
 14. Armitage GC. *Development of a classification system for periodontal diseases and conditions*. Northwest Dentistry 2000; 79: 31- 35.
 15. Paju S, Goulhen F, Asikainen s, Grenier D, Mayrand D, Uitto V-J. *Localization of heat shock proteins in clinical Actinobacillus actinomycetemcomitans strains and their effects on epithelial cell proliferation*. FEMS Microbiology Letters 2000; 182: 231- 235.
 16. Pocolos DK, Lerche-Sehm J, Abron A, Fine JB, Papapanou PN. *Infection patterns in chronic and aggressive periodontitis*. J. Clin. Periodontol. 2005; 32: 1005- 1061.
 17. Ferrer J, Tovar I, Martinez P. *Osteoprotegerina y sistema RANKL/RANK: ¿el futuro del metabolismo óseo?* An Med Interna 2002; 19: 385- 388.
 18. Stejskal D, Bartek J, Pastorková R, Ruzicka V, Oral I, Horalík D. *Osteoprotegerin, RANK, RANKL*. Biomed Papers 2001; 145: 61- 64.

19. Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y, Chen C, Lagergard T, Kalfas S, Lerner UH. *Cytokine responses of human gingival fibroblasts to Actinobacillus actinomycetemcomitans cytolethal distending toxin*. *Cytokine* 2005, 30: 56- 63.
20. Wang Y, Goodman SD, Redfield RJ, Chen C. *Natural transformation and DNA uptake signal sequences in Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Bacteriol.* 2002; 184: 3442- 3449.
21. Herderson B, Wilson M, Sharp L, Ward JM. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Med. Microbiol.* 2002; 51: 1013-1020.
22. Wang Y, Liu A, Chen C. *Genetic basis for conversion of rough-to- smooth colony morphology in Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect. Immun.* 2005; 76: 3749- 3753.
23. Wang Y, Chen C. *Mutation analysis of the flp operon in Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Gene.* 2005: 61- 71
24. O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC. *Antigens of bacteria associated with periodontitis*. *Periodontology* 2000 2004; 35: 101- 104.
25. Kaplan JB, Scheiner HC, Furgang D, Fine DH. *Population structure and genetic diversity of Actinobacillus actinomycetemcomitans strains isolated from localized juvenile periodontitis patient*. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 1181- 1187.
26. Kelk P, Claesson R, Hänstrom L, Lerner UH, Kalfas S, Johansson A. *Abundant secretion of bioactive interleukin 1- β by human macrophages induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans leucotoxin*. *Infect. Immun.* 2005; 73: 453- 458.
27. Mise K, Akifusa S, Watarai S, Ansai T, Nishihara T, Takahara T. *Involvement of ganglioside GM3 in G₂/M cell cycle arrest of human*

- monocytic induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans citoletal distending toxin.* Infect. Immun. 2005; 73: 4846- 4852.
28. Shenker BJ, Besack D, McKay T, Pankoski L, Zekavat A, Demuth DR. *Actinobacillus actinomycetemcomitans citoletal distending toxin (Cdt): evidence that the holotoxin is composed of three subunits: CdtA, CdtB, and CdtC.* J Immunol. 2004, 172: 410- 417.
29. Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y, Chen C, Kalfas S, Lerner UH. *Infect. Immun.* 2005; 73: 342- 351.
30. Suzuki T, Kobayashi M, Isatsu K, Nishihara T, Aiuchi T, Nakaya K, Hasegawa K. *Mechanisms involved in apoptosis of human macrophages induced by lipopolysaccharide from Actinobacillus actinomycetemcomitans in the presence of cycloheximide.* Infect. Immun. 2004; 72: 1856- 1865.
31. Yoshioka M, Grenier D, Hinode D, Fukui M, Mayrand D. *Antigenic cross-reactivity and séquence homology between Actinobacillus actinomycetemcomitans GroEl protein and human fibronectin.* Oral Microbiol. 2004; 19: 124- 128.
32. Zhang L, Koivisto L, Heino J, Uitto V-J. *Bacterial heat shock protein 60 may increase epithelial cell migration through activation of MAP kinases and inhibition of $\alpha6\beta4$ integrin expression.* Biochem Biophys Res Commun. 2004, 329: 1088- 1095.
33. Asakawa R, Komarsuzawa H, Kawai T, Yamada S, Goncalves RB, Izumi S, Fujiwara T, Nakano Y, Suzuki N, Uchida Y, Ouhara K, Shiba H, Taubman MA, Kurihara H, Sugai M. *Outer membrane protein 100, a versatile virulence factor of Actinobacillus actinomycetemcomitans.* Mol Microbiol. 2003; 50: 1125- 1139.

Bibliografía complementaria:

1. Lomanto LD, Ortiz OL, Bretón CO, Gómez AI, Mesa VM. *El ciclo celular*. MEDUNAB 2003; 6: 21- 29.
2. Neely AL, Holford TR, Löe H, Anerud A, Boysen H. *The natural history of periodontal disease in humans: risk factors for tooth loss in caries-free subjects receiving no oral health care*. J. Clin. Periodontol. 2005; 32: 984-993.
3. Serrano H, Rangel C, Gómez JL, González M, García MD. *Apoptosis*. ContactoS. 2004; 54: 61- 66.
4. van Winkelhoff AJ. *Antibiotics in periodontics: are we getting somewhere?* J. Clin. Periodontol. 2005; 32: 1094- 1095.