



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EFFECTO DEL ÁCIDO LIPOTEICOICO SOBRE LA VÍA DE TRANSDUCCIÓN  
DE PI3K-AKT EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

**PATRICIA CARDOSO JIMÉNEZ**

**TUTORA: DRA. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis no representa un esfuerzo individual, debo decir que representa a personas, a situaciones, a momentos y claro que a instituciones.

Las personas mas importantes para mi: mi mamá, mi papá y mi hermano. La vida junto a ustedes ha sido un privilegio. Cada palabra de esta tesis está dedicada a ustedes por que son mi fuerza principal para hacer todo lo que hago.

A la UNAM. Mi segunda casa, la mejor universidad.

A mi tutora, la Dra. Gloria Gutiérrez Venegas, una mujer ejemplar. Gracias por todo el conocimiento que adquirí en el campo de la ciencia y sus enseñanzas de vida.

A Oscar, amigo, gracias por todo, se que la vida es sabia y que siempre pone todo en su lugar. Te quiero.

Emily, Cinthia, Ximena y Violeta. Excelentes personas y amigas, mis hermanas y confidentes. Les agradezco dejarme vivir cerca de ustedes este tiempo.

Y por último y no por eso menos importantes....a los muertos de mi felicidad...

PATTY

“...Hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos. Pero hay los que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles...”

Bertolt Brecht

## ÍNDICE

1. Resumen
2. Abreviaturas
3. Definición del problema
4. Justificación
5. Introducción
6. Antecedentes

### 7. Periodonto

Encía  
Ligamento Periodontal  
Cemento  
Hueso Alveolar

### 8. Enfermedad Periodontal

Etiología  
Placa Bacteriana  
Ecología de la microflora bucal  
Placa Supragingival  
Placa Subgingival  
Factores Predisponentes  
Clasificación de la Enfermedad Periodontal.  
Enfermedades Gingivales  
Enfermedades Periodontales  
Patogenia de la Enfermedad Periodontal  
Procesos destructivos microbianos  
Proceso Inflamatorio moléculas y células implicadas  
Inflamación aguda  
Inflamación crónica Mecanismos específicos de defensa  
Respuesta Inmune Humoral  
Respuesta Inmune Celular  
Anticuerpos Específicos

### 9. Acido Lipoteicoico.

Introducción  
Historia  
Definición y estructura  
Receptores  
Vías de Transducción de señales intracelulares  
Vía de PI3K-AKT  
Regulación negativa de la vía  
PI3K –AKT  
Blancos antiapoptóticos de la vía PI3K-AKT

## Expresión Génica Conexina-43

### Las endotoxinas y la activación de la vía de PI3K-AKT

10. Objetivo general
11. Objetivo específico
12. Hipótesis verdadera
13. Hipótesis falsa
14. Tipo de estudio
15. Material y Métodos

Población en estudio

Selección y tamaño de la muestra

Criterios de inclusión exclusión y eliminación

Cultivo de Fibroblastos Gingivales Humanos

Detección de la fosforilación de PI3K AKT GSK-3 y expresión de conexina por medio del ensayo Western Blot

Aislamiento de proteínas nucleares y citosólicas

Aislamiento de proteínas membranales y citosólicas

Material y equipo

Reactivos

14. Análisis de Datos y métodos estadísticos
15. Resultados
16. Discusión
17. Conclusiones
18. Referencias
19. Anexos

**Palabras clave:** periodontitis, citocinas, inflamación, vías de señalización, western blot, placa dentobacteriana

## 1. RESUMEN

Por mucho tiempo al LPS se le ha considerado como el agente causal que desencadena la respuesta inflamatoria presente en las etapas tempranas de la sepsis. Sin embargo, se ha comenzado a centrar la atención en dos componentes bacterianos tales como los peptidoglucanos y el LTA, además de sus efectos como moléculas promotoras de la inflamación y de inicio de sepsis (2).

Los peptidoglucanos y el LTA actúan como ligandos de los receptores TLR-2 y aunque ambos agentes inducen la expresión de moléculas proinflamatorias, se ha demostrado que estos ligandos producen respuestas biológicas diferentes (4,23).

Las infecciones bacterianas se caracterizan por las reacciones inflamatorias del hospedero a los agentes patógenos. Una posible explicación a este evento es la secreción de citocinas proinflamatorias por parte de las células del hospedero como respuesta a los componentes de la pared celular de bacterias Gram-positivas, en particular al ácido lipoteicoico (LTA). Durante las infecciones bacterianas, las células del hospedero reconocen al LTA a través de dos receptores: CD14 y el receptor tipo Toll 2 (TLR2). La unión del LTA al receptor TLR2 induce la activación de mecanismos de transducción y la secreción de citocinas como la interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), la Interleucina-6 (IL-6) y el Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (25).

Nuestros resultados muestran que los fibroblastos gingivales humanos tratados con LTA de *S. sanguis* producen como respuesta la producción de diferentes cinasas que regulan la respuesta inflamatoria desde un tiempo de 5 minutos de tratamiento. Mostramos que al tratamiento con LTA se produce la fosforilación de la PI3K desde una concentración de 1  $\mu$ g/ml alcanzando su máximo a una concentración de 25  $\mu$ g/ml. La activación de ésta molécula proapoptótica desencadena una serie de fosforilaciones de moléculas que se encuentran participando en la misma vía. En este estudio se caracterizó la vía de PI3K-AKT y se demostró que existe la fosforilación de las cinasas AKT y GSK-3. Además de la translocación de PDK-1 a la membrana celular y de  $\beta$ -catenina al núcleo, lo que permite la consecuente expresión del gen de conexina.

Como importancia clínica señalamos el aumento en la incidencia de enfermedad periodontal en la población actual mexicana (7), muertes por sepsis y choque séptico ante la presencia de bacterias Gram-positivas, las cuales contienen en su pared celular LTA. El LTA al ser liberado por la bacteria promueve el daño de órganos. En esta investigación se describen los receptores del hospedero a los que se asocia LTA y los mecanismos de transducción involucrados en la

expresión de citocinas proinflamatorias así como la expresión génica de conexina que todo esto conlleva.



## 2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es, sin lugar a dudas, uno de los principales problemas de salud bucal en la población adulta mexicana. Su prevención constituye uno de los mayores retos que enfrenta la Odontología moderna en México.

La carencia de programas de salud bucal que difundan información precisa, sencilla y concreta entre la población mexicana y el aumento en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas han sido razones importantes que han contribuido al mantenimiento y desarrollo de ésta enfermedad dentro de nuestra población (3).

La enfermedad periodontal es un padecimiento caracterizado por un grupo de reacciones inflamatorias e inmunes que afectan a los tejidos de sostén del diente como la encía, el ligamento periodontal, el cemento y el hueso alveolar. Todo esto como respuesta del hospedero ante la presencia de las toxinas liberadas por las bacterias presentes en la placa dentobacteriana.

La flora bucal normal es parte importante en la salud y enfermedad del individuo ya que contribuye a la resistencia para la colonización de microorganismos patógenos. Las enfermedades bucales asociadas a placa dentobacteriana aparecen ante un desequilibrio entre los microorganismos nativos de la boca lo que conlleva a la pérdida de la homeostasis y al desarrollo de la enfermedad gingival y periodontal.

*Streptococcus sanguis* es una bacteria Gram-positiva encontrada en la placa dentobacteriana. Una vez que el LTA de *S. sanguis* se une al receptor en los fibroblastos gingivales humanos (HGF) entonces se desencadenan diversas reacciones intracelulares como la de la vía de PI3-K que regula la producción de NF $\kappa$ -B y conexina así como la acumulación de  $\beta$ -catenina al núcleo celular resultando en la producción de citocinas inflamatorias las cuales van a jugar un papel determinante en el desarrollo de la enfermedad periodontal (2).

#### 4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.

Las infecciones bucales producidas por bacterias Gram-negativas y Gram-positivas representan un grave problema de salud pública en México. Estas bacterias se encuentran en la placa dentobacteriana que por mala higiene se acumula en las superficies bucales tanto duras como blandas. La placa dentobacteriana es una entidad que acompañada de otros factores (sistémicos y locales) desencadena una de las enfermedades de mayor prevalencia en la población adulta mexicana la cual conocemos como enfermedad periodontal.

Uno de los principales microorganismos que inicia la formación de la placa dentobacteriana supragingival es *Streptococcus sanguis*, a partir de su adherencia es posible la colonización de bacterias de mayor patogenicidad como *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y otros bacilos Gram-negativos que conllevan a la pérdida de las estructuras de soporte del diente. (1)

Estudios recientes han demostrado que son ciertos componentes de la pared bacteriana (el lipopolisacárido de bacterias Gram-negativas y ácido lipoteicoico de Gram-positivas) los que son responsables de la producción de citocinas pro y anti-inflamatorias por parte del hospedero, estas citocinas regulan el proceso inflamatorio que causa la enfermedad periodontal, proceso que es determinante en la pérdida de las estructuras de soporte del diente. Para que ésta producción de citocinas sea efectiva se necesita una serie de eventos intracelulares conocidos como vías de señalización que al ser activadas por la unión del lipopolisacárido o el ácido lipoteicoico a su respectivo receptor en la célula van a dar como resultado la activación de factores de transcripción los cuales son capaces de reconocer una región promotora del ácido desoxirribonucleico (ADN) y de regular la expresión génica en la célula estimulando así de manera continua la síntesis de proteínas cinasas reguladoras del proceso inflamatorio. (2)

En este trabajo de investigación se caracterizará en fibroblastos gingivales humanos una de las principales vías de señalización intracelular (vía de PI3-K-AKT) que se encuentra implicada en la producción de citocinas pro y antiinflamatorias durante la enfermedad periodontal.

#### **4. ANTECEDENTES**

Las últimas investigaciones han demostrado que padecimientos como la sepsis bacteriana y la muerte por choque séptico no son sólo causadas por las endotoxinas de bacterias Gram-negativas sino que la presencia de los componentes de la pared de las bacterias Gram-positivas específicamente ácido lipoteicoico y peptidoglucano son también determinantes para el desarrollo de ellos (4).

De igual manera, durante los primeros estadios de la enfermedad periodontal resulta trascendental la presencia de bacterias Gram-positivas ya que ellas van a ser las primeras colonizadoras de los tejidos bucales y van a dar lugar a las primeras formaciones de placa dentobacteriana supragingival; todo este proceso facilita la adhesión de otras bacterias de mayor virulencia para el hospedero como las del grupo de las Gram-negativas (1).

## 7. PERIODONTO

### 7.1. Encía

La encía es esa parte de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar y rodea la porción cervical de los dientes. La encía adquiere su forma y textura finales con la erupción de los dientes.

#### Anatomía macroscópica

Se pueden distinguir tres partes de la encía:

1. La encía marginal
2. La encía insertada
3. La encía interdentaria

#### Encía marginal

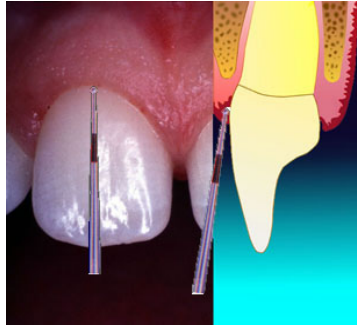
La encía libre es de color coral, tiene una superficie opaca y consistencia firme y comprende el tejido gingival y las zonas vestibular y lingual/palatino de los dientes. En vestibular y lingual de los dientes, la encía marginal se extiende por vestibular desde la cresta del margen gingival hasta el surco marginal que está ubicado en un nivel que corresponde al de la unión o límite cementoadamantina mientras que por la parte interna va hasta el epitelio del surco y el epitelio de unión. (Fig. 1). El surco marginal suele ser más acentuado en la zona vestibular de los dientes, con más frecuencia en las regiones incisiva y premolar de la mandíbula, y con menos frecuencia en las regiones mandibular molar y maxilar premolar (5).



**Fig. 1. Características Macroscópicas de la encía.** En esta fotografía se observan las características macroscópicas propias de la encía en el adulto; podemos observar el color rosa coral de la encía, su textura firme y su forma festoneada a nivel de la unión cementoadamantina.  
R.E. (1)

Cuando se inserta una sonda periodontal en esta invaginación apicalmente hacia el límite cemento-dentinario, el tejido gingival se aparta del diente y se abre una cavidad virtual o "surco gingival". Por esto, en la encía clínicamente sana no

hay en verdad un "surco gingival", sino que la encía está en el estrecho contacto con la superficie adamantina. Terminada la erupción dental, el margen gingival libre se ubica sobre la superficie adamantina aproximadamente 0.5-3 mm hacia oclusal o incisal del límite cemento-adamantino. (Fig. 2)



**Fig.2. Sondeo periodontal en una encía sana.** Parte esencial en el examen periodontal para determinar el nivel de inserción y dar un diagnóstico acertado. R.E. (2)

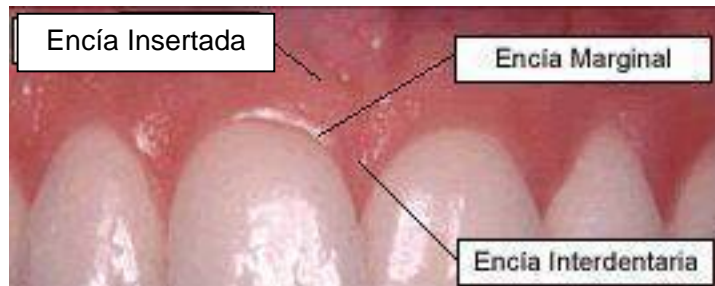
### Encía Interdentaria

La forma de la encía interdentaria está determinada por las relaciones de contacto entre los dientes, la anchura de las superficies dentarias proximales y el curso de la unión cemento-adamantina. En las regiones anteriores de la dentadura, la papila dental tiene forma piramidal, mientras que en las regiones molares las papilas suelen estar más aplastadas en sentido vestibulolingual. Debido a la presencia de las papilas interdentarias, el margen gingival sigue un curso festoneado, más o menos acentuado, a lo largo de los dientes.

En las regiones premolar/molar de la dentadura, los dientes tienen superficies de contacto, no puntos de contacto. Como la papila interdentaria tiene una forma acorde con el contorno de las superficies de contacto interdentarias, se establece en las regiones premolar y molar una concavidad. Así las papilas interdentarias en estas zonas suelen tener una porción vestibular y otra lingual o palatina separadas por la región de col (5).

### Encía Insertada

La encía insertada en sentido coronario, está señalada por el surco gingival libre o, cuando ese surco no está presente, por un plano horizontal ubicado en el nivel del límite cemento-adamantino. La encía insertada se extiende en dirección apical a la unión mucogingival, donde se continúa con la mucosa alveolar. (Fig. 3).



**Fig. 3. Encía. En esta fotografía se observa la clasificación macroscópica de la encía.** Se destacan las características propias de la encía insertada como el puntilleo en cáscara de naranja y la textura firme propias de ella. R.E. (3)

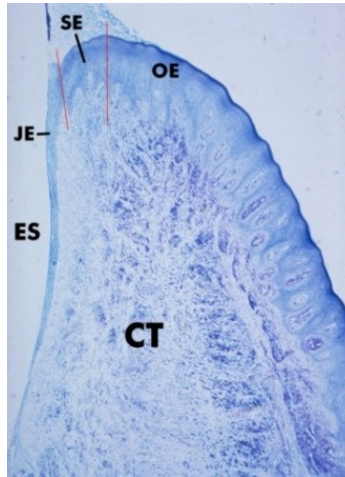
Además tiene una textura firme, rosa coral, y suele mostrar un punteado delicado que le da aspecto de cáscara de naranja (presente sólo en el 40% de los adultos).

Este tipo de mucosa está firmemente insertada en el hueso alveolar y cemento subyacentes por medio de fibras conectivas y es, por tanto, relativamente inmóvil en relación con el tejido subyacente. En el maxilar superior, la encía vestibular suele ser mas ancha en la zona de los incisivos y mas estrecha en la zona de los premolares. En el maxilar inferior, la encía del área lingual es particularmente estrecha en el área de los incisivos y ancha en la región molar (5).

### **Anatomía microscópica**

#### **Epitelio bucal**

La encía marginal comprende todas las estructuras tisulares ubicadas de forma coronal a la línea horizontal ubicada en el nivel del límite cementoadamantino. El epitelio que recubre la encía marginal puede diferenciarse así: epitelio bucal, que mira hacia la cavidad bucal; epitelio sulcular bucal, que mira hacia el diente sin ponerse en contacto con él; epitelio de unión, que permite la adherencia entre encía y diente. (Fig. 4).



**Fig. 4.** El epitelio que recubre la encía libre puede diferenciarse así: epitelio bucal (OE), que mira hacia la cavidad bucal; epitelio del surco (SE), que mira hacia el diente sin ponerse en contacto con él; epitelio de unión (JE).  
R.E. (4)

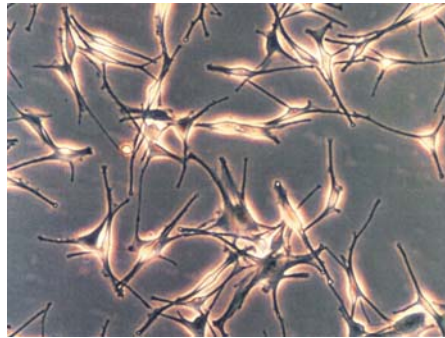
El límite entre el epitelio bucal y el tejido conectivo subyacente sigue un curso ondulado. Las porciones de tejido conectivo que se proyectan en el epitelio reciben el nombre de papilas conectivas y están separadas entre sí por las papilas dérmicas o crestas epiteliales. En la encía normal, no inflamada, las papilas conectivas y el plexo epitelial están ausentes en el límite entre el epitelio de unión y el tejido conectivo subyacente. Así, un rasgo morfológico característico del epitelio bucal y del epitelio sulcular es la presencia de las papilas dérmicas, en tanto que estas estructuras faltan en el epitelio de unión (5).

El epitelio bucal es un epitelio queratinizado, estratificado, escamoso que, según el grado de diferenciación de las células productoras de queratina, puede ser dividido en las siguientes capas celulares:

1. Capa basal
2. Capa espinocelular
3. Capa celular granulosa
4. Capa celular queratinizada.

Además de las células productoras de queratina, que comprenden alrededor del 90% del total de la población celular, el epitelio bucal contiene estos otros tres tipos de células:

1. Melanocitos. Son células sintetizadoras de pigmento

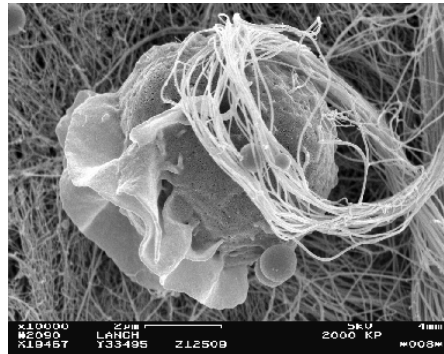


**Fig.5. Melanocitos.** Son células dendríticas con prolongaciones citoplásmicas que los ponen en contacto con queratinocitos. Cada melanocito tiene contacto con 32 queratinocitos aproximadamente. R.E. (5)

2. Células de Langerhans. Derivan de la médula ósea y tienen la función de presentación antigénica además están involucradas en una gran variedad de respuestas inmunes por medio de la activación de las células T (Fig. 6). Las células de Langerhans tienen una distribución muy constante en toda la piel y pueden detectarse por medio de la localización de diversos antígenos como la ATPasa, CD1, CD4, S100, HLA-DR, en el citoplasma las células contienen un gránulo característico que se observa en microscopía electrónica el cual presenta forma de gusano o raqueta conocido como gránulo de Birbeck . La célula de Langerhans es el principal efector de las reacciones inmunes epidérmicas. El contacto antigénico con la epidermis da lugar a una alteración de la homeostasis de las células de Langerhans, que se manifiesta por cambios fenotípicos y funcionales. Los antígenos captados por las células de Langerhans, se procesan en compartimentos especializados. Tras unas horas las células de Langerhans (procesadoras de antígenos) aumentan de tamaño, abandonan la epidermis, migran a través de la dermis y entran en los vasos linfáticos dérmicos y migran hacia las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos de drenaje, en donde presentan el antígeno a las células T dando lugar a una respuesta específica y productiva en estas células. Para llevar a término su función, las células T deben acumularse en las zonas cutáneas que acumulan el antígeno. Tras estímulos antigénicos repetidos de las células de Langerhans, las células T



sensibilizadas sufren una expansión clonal dando lugar a células o moléculas efectoras que eliminan el patógeno.



**Fig. 6. Célula de Langerhans.** Juegan un papel importante y esencial en el sistema inmunitario. Las dendríticas células de Langerhans proceden de la médula ósea. Pueblan la epidermis en forma de una red dispuesta de forma regular, con lo cual alcanzan una densidad de alrededor de 700 a 800 células por milímetro cuadrado.

R.E. (6)

### 3. Células inespecíficas (que no muestran las mismas características ultraestructurales de los otros dos tipos de células).

Las células de los tres tipos son estrelladas y tienen prolongaciones citoplásmicas de distintos tamaños y aspectos. A estas células también se les llama claras.

Los melanocitos, son los responsables de la producción del pigmento conocido como melanina. Los melanocitos están presentes en las personas con pigmentación acentuada de la mucosa bucal, así como en personas en las que no se aprecian clínicamente signos de pigmentación. A diferencia de los queratinocitos, estas células contienen gránulos de melanina y no tienen tonofilamentos ni hemidesmosomas.

En su travesía del epitelio, desde la capa basal hasta la superficie epitelial, los queratinocitos experimentan una diferenciación continua. Así una vez que el queratinocito abandona la membrana basal ya no puede dividirse, pero conserva la capacidad de producción de proteína (filamentos y gránulos de queratohialina). En la capa granulosa, el queratocito queda privado de su aparato productor de energía y proteínas (probablemente por degradación enzimática) y, abruptamente, se convierte en una célula llena de queratina que se descama desde la capa córnea de la superficie tisular.

## Epitelio dentogingival

Los componentes estructurales de la región dentogingival alcanzan sus características estructurales en conjunción con la erupción de los dientes. Entre estos cambios podemos nombrar las siguientes:

- a) Cuando el esmalte dentario alcanza su desarrollo pleno, los ameloblastos se acortan, producen una lámina basal y forman, junto con las células del epitelio del esmalte externo, el llamado epitelio reducido del esmalte. El epitelio reducido del esmalte rodea la corona del diente desde el momento en que el esmalte queda correctamente mineralizado hasta que el diente comienza a erupcionar.
- b) Al acercarse el diente a la erupción al epitelio bucal el epitelio reducido del esmalte es reemplazado gradualmente por un epitelio de unión.
- c) Cuando el diente ha penetrado en la cavidad bucal, el epitelio reducido del esmalte y el epitelio bucal se fusionan en el borde incisal del diente. Grandes porciones inmediatamente apicales al área incisal del esmalte quedan entonces cubiertas por el epitelio de unión que contiene sólo unas pocas capas de células. La región cervical del esmalte, sin embargo, aún está cubierta por ameloblastos y por las células externas del epitelio reducido del esmalte.
- d) Durante las últimas fases de la erupción del diente, todas las células del epitelio reducido del esmalte son reemplazadas por el epitelio de unión. Este epitelio se continúa con el epitelio bucal y participa en la adherencia entre el diente y la encía. (5)

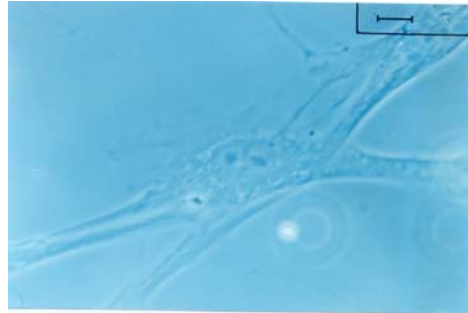
## Tejido Conectivo

El tejido predominante de la encía y el ligamento periodontal es conectivo. Los componentes principales del tejido conectivo son las fibras colágenas (60%), fibroblastos (5%), vasos, nervios y matriz (35%).

Células. Los diferentes tipos presentes en el tejido conectivo son:

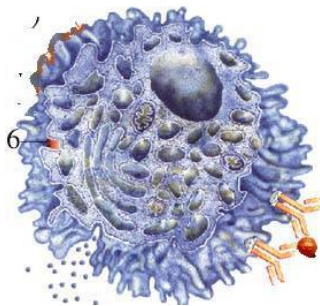
- 1) Fibroblastos. Célula del tejido conectivo que mas predomina (65%). Es una célula fusiforme o estrellada con núcleo de forma ovalada; su citoplasma contiene un retículo endoplásmico granuloso bien desarrollado con ribosomas. Está dedicado a la producción de diversos tipos de fibras

halladas en el tejido conectivo, pero además interviene en la síntesis de la matriz de este tejido. (Fig. 7)



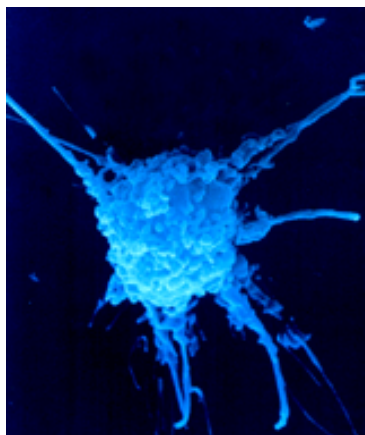
**Fig.7. Fibroblasto gingival humano.** El fibroblasto contiene varios complementos de Golgi y muchos perfiles de retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias y vesículas secretorias. Microscopía de interferencia de Nomarski. Aumento 100x. Imagen obtenida en el Laboratorio de Bioquímica. Facultad de Odontología, División de Estudios de Posgrado. U.N.A.M.

- 2) Mastocitos. Es responsable de la producción de ciertos componentes de la matriz. Esta célula produce asimismo sustancias vasoactivas, que pueden afectar la función del sistema microvascular y controlar el flujo de sangre a través del tejido. El citoplasma se caracteriza por tener gran cantidad de vesículas de tamaños variables que contienen enzimas proteolíticas, histamina y heparina. (Fig. 8)



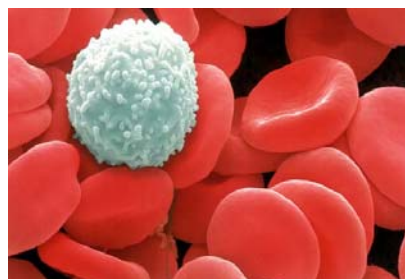
**Fig. 8. Esquema de Mastocito.** El mastocito contiene en el citoplasma gránulos con mediadores de la inflamación preformados. Cuando se activa, libera estos factores, junto con otros de carácter lipídico que son sintetizados de novo. El mastocito se detecta en casi todos los tejidos, siendo localizado principalmente alrededor de los pequeños vasos, sobre los que actuarán los mediadores una vez liberados. R.E. (7)

- 3) Macrófagos. Sus funciones son fagocíticas y sintéticas dentro del tejido. Abundan en especial en el tejido inflamado. Derivan de los monocitos sanguíneos migrados dentro del tejido (Fig. 9). A menudo se encuentran restos de material fagocitado en sus vesículas lisosómicas: fagosomas.



**Fig. 9. Macrófago.** Los macrófagos proceden de los monocitos. Estos se forman en la médula ósea procedentes de células pluripotenciales de la serie granulocítico-monocítica, gracias al factor de crecimiento GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) y otras citoquinas como la interleucina 3. R.E. (8)

- 4) Leucocitos Polimorfonucleares. El núcleo es lobulado y en el citoplasma se encuentran numerosos lisosomas. (Fig. 10)



**Fig. 10. Leucocito PMN.** son un conjunto heterogéneo de células sanguíneas que se desempeñan como los efectores celulares de la respuesta inmune. R.E. (9)

- 5) Linfocitos. Se caracterizan por presentar un núcleo esférico que contiene zonas localizadas de cromatina densa. (Fig. 11)



**Fig. 11. Linfocito saliendo de la médula.** Su tamaño es de 8 a 12 micrómetros, se presenta de 24 a 32% en la sangre. Presenta un núcleo esférico que se tiñe de violeta-azul, su citoplasma frecuentemente se observa como un anillo periférico de color azul.

R.E. (10)

- 6) Plasmocitos. Contienen un núcleo esférico ubicado excéntricamente con cromatina densa desplegada radialmente (Fig. 12).



**Fig. 12. Plasmocitos.** Célula derivada de los linfocitos, ausente de la sangre pero presente en el sistema linfático, que sintetiza las inmunoglobulinas

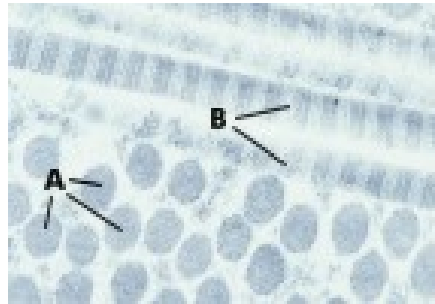
R.E. (11)

Fibras. Las fibras del tejido conectivo son producidas por los fibroblastos y se las puede dividir en:

- 1) Fibras colágenas. Las fibras colágenas predominan en el tejido conectivo y constituyen los componentes mas esenciales del periodonto. La unidad menor, la molécula de colágeno, suele ser conocida como tropocolágena que se compone de tres cadenas de polipéptidos entrelazadas para

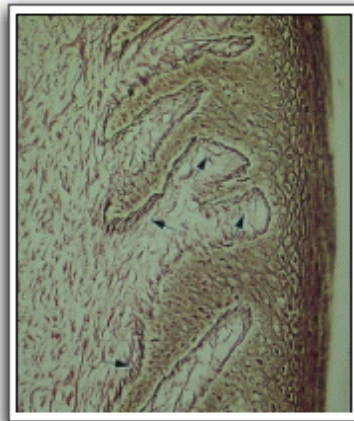
formar una hélice. Cada cadena contiene unos 1000 aminoácidos. Un tercio de ellos son glicina y alrededor del 20% prolina e hidroxiprolina. La síntesis del tropocolágeno se realiza dentro del fibroblasto, desde el cual

la molécula será secretada hacia el espacio extracelular. Primero las moléculas de tropocolágeno se agregan longitudinalmente para formar protofibrillas, que posteriormente se agregan lateralmente paralelas en fibrillas colágenas (Fig. 13).



**Fig. 13. Fibra de colágeno tipo I.** En A se observan secciones cruzadas y en B transversales. Microscopía de transmisión de electrones. R.E. (12)

2) Fibras de reticulina. Son numerosas en el tejido adyacente a la membrana basal. Sin embargo también aparecen fibras de reticulina en grandes cantidades en el tejido conectivo laxo que rodea a los vasos sanguíneos. De tal modo, las fibras de reticulina están presentes en las interfaces de los tejidos epitelio-conectivo y endotelio-conectivo (Fig.14).



**Fig. 14. Las fibras de reticulina,** como se ve en esta micrografía electrónica, presentan propiedades de tinción argirofílicas y son numerosas en el tejido adyacente a la membrana basal (flechas). (5)

- 3) Fibras oxitalánicas. Están presentes en la encía y en el ligamento periodontal y parecen estar compuestas por fibrillas finas y largas (Fig. 15).

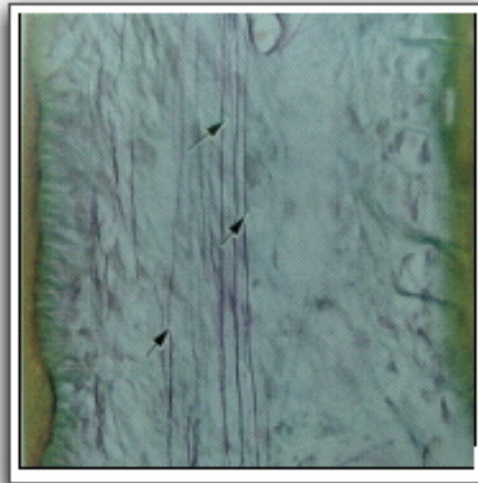


Fig. 15. La fotomicrografía ilustra las fibras oxitalánicas (flechas) en el ligamento periodontal donde siguen un curso principalmente paralelo al eje longitudinal del diente. (5)

- 4) Fibras elásticas. En el tejido conectivo de la encía y del ligamento periodontal sólo hay fibras elásticas en asociación con los vasos sanguíneos. Sin embargo son numerosas en el tejido conectivo de la mucosa alveolar.

Aunque muchas de las fibras colágenas en la encía y el ligamento periodontal están distribuidas irregularmente o aleatoriamente, la mayoría tienden a estar dispuestas en grupos de haces con una clara orientación. De acuerdo con su inserción y curso dentro de los tejidos los haces orientados en la encía pueden dividirse en los siguientes grupos:

- 1) Fibras circulares. Son haces de fibras que siguen un curso dentro de la encía libre y rodean al diente como un manguito o anillo.
- 2) Fibras dentogingivales. Están incluidas en el cemento de la porción supraalveolar de la raíz y se proyectan desde el cemento con una configuración de abanico hacia el tejido gingival libre de las superficies facial, lingual e interproximales.

- 3) Fibras dentoperiósticas. Están incluidas en la misma porción del cemento que las fibras dentogingivales, pero siguen un curso apical sobre la cresta ósea vestibular y lingual y terminan en el tejido de la encía adherida
- 4) Fibras transeptales. Las fibras transeptales corren a través del tabique interdentario y están incluidas en el cemento de dientes adyacentes. (5)

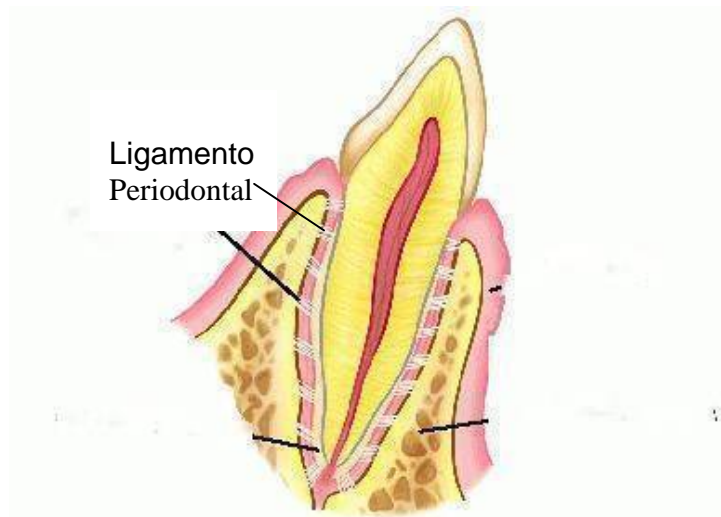
## Matriz

La matriz del tejido conectivo es producida primero por los fibroblastos, aunque algunos componentes son generados por los mastocitos y otros provienen de la sangre. La matriz es el medio en el cual están incluidas las células del tejido conectivo y es esencial para el mantenimiento de la función normal del tejido conectivo. De tal modo, el transporte de agua, electrolitos, de nutrientes, de metabolitos, etc. desde y hacia las células conectivas individuales se produce dentro de la matriz (5).



## 7.2. Ligamento Periodontal

El ligamento periodontal es un tejido conectivo que rodea la raíz del diente relacionándolo de forma directa con el hueso, éste se continúa con el tejido conectivo de la encía y se comunica con el hueso mediante los canales vasculares que se encuentran ubicados en los espacios medulares del mismo (Fig. 16).

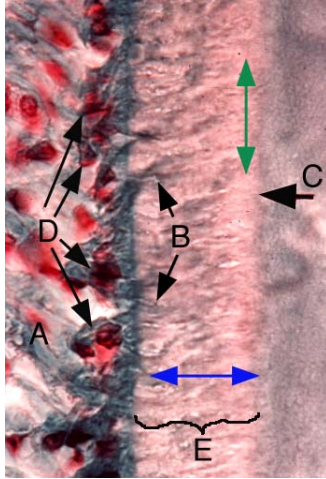


**Fig. 16. Ligamento periodontal. Esquema del diente y sus estructuras de soporte.** Se señala la ubicación del ligamento periodontal.

R.E. 13

### Fibras Periodontales

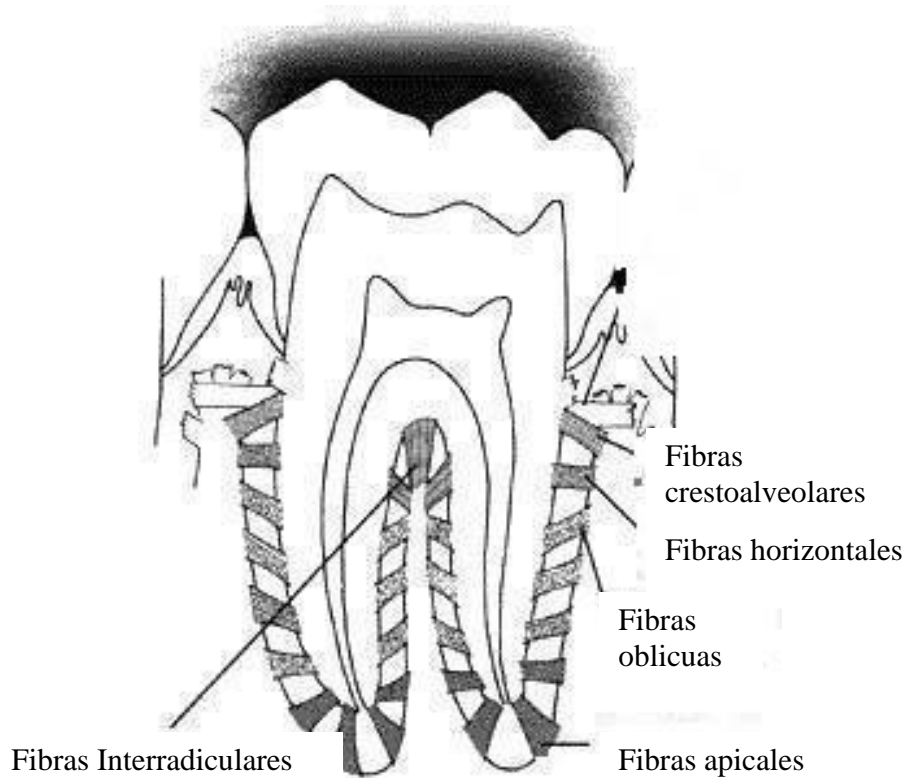
Las **fibras principales** del ligamento periodontal están compuestas de colágeno tipo I. La configuración molecular del colágeno les confiere fuerza tensible y flexibilidad a los tejidos que la contienen además se encuentran dispuestas a manera de hazes siguiendo un curso ondulado. Su porción terminal se inserta al cemento radicular y al hueso denominándose entonces fibras de Sharpey (Fig. 17).



**Figura 17. Fibras de Sharpey en cemento acelular.** Podemos ver en A. Fibras de ligamento periodontal. B. Fibras de Sharpey. C. Unión de dentina-cemento. D. Cementoblastos. E. Cemento acelular. R.E. (14)

Las fibras principales se dividen en 5 grupos (Fig 18):

1. Fibras Cresto-alveolares. Van del cemento que se encuentra justo debajo del epitelio a la cresta alveolar. Estas fibras también corren del cemento a través de la cresta alveolar hasta el estrato fibroso del periostio cubriendo el hueso alveolar. Sus funciones son prevenir la extrusión del diente y resistir los movimientos laterales.
2. Fibras Horizontales. Insertándose en el cemento corren por todo el eje longitudinal del diente hasta fijarse al hueso alveolar.
3. Fibras Oblicuas. Es el grupo más grande de fibras periodontales. Se insertan en el cemento y se dirigen en dirección coronal oblicua al hueso. Su función es resistir las fuerzas verticales de la masticación y transformarlas en tensión que absorberá el hueso alveolar.
4. Fibras apicales. Surgen del cemento de la zona del foramen apical y se insertan en el hueso. No están presentes en dientes con raíz incompleta.
5. Fibras Interradiculares. Se despliegan en abanico desde el cemento a la zona de la furca de dientes multirradiculares.



**Figura 18. Fibras del Ligamento Periodontal.** Esquema que representa la disposición de las fibras del ligamento periodontal.  
R.E. (15)

Existen otro tipo de fibras de colágena que se encuentran en el tejido conectivo intersticial y pasan a través de los grupos de fibras principales, éstas fibras contienen conductos sanguíneos, linfáticos y nervios (5).

También existen las fibras oxitalánicas las cuáles contienen dos formas inmaduras de elastina: oxitalano y eluanina. Ellas corren de manera paralela a la superficie radicular del diente y van en dirección vertical y se doblan para unirse al cemento. Se cree que estas fibras regulan el flujo sanguíneo.

Las fibras principales son remodeladas por las células del ligamento periodontal para adaptarse a las necesidades fisiológicas del diente y en respuesta a diferentes estímulos.

Además de todos estos tipos de fibras, existen pequeñas fibras de colágena asociadas a las fibras principales. Estas fibras corren en todas direcciones formando plexos llamados plexos de fibras indiferentes.

## Funciones del Ligamento Periodontal

Las funciones del Ligamento Periodontal se dividen en: físicas, formativas y remodelamiento, nutricionales y sensoriales.

### Funciones Físicas

1. Sirve para proteger los conductos sanguíneos y nervios de posibles daños de fuerzas mecánicas.
2. Transmiten las fuerzas oclusales hacia el hueso.
3. Adhieren el diente al hueso.
4. Mantienen los tejidos gingivales en relación con los dientes.
5. Resisten el impacto de las fuerzas oclusales.

Funciones formativas y de remodelación: las células del ligamento periodontal participan en la formación y resorción del cemento y hueso en situaciones de movimiento fisiológico de los dientes y participan también en la adaptación del periodonto a fuerzas oclusales.

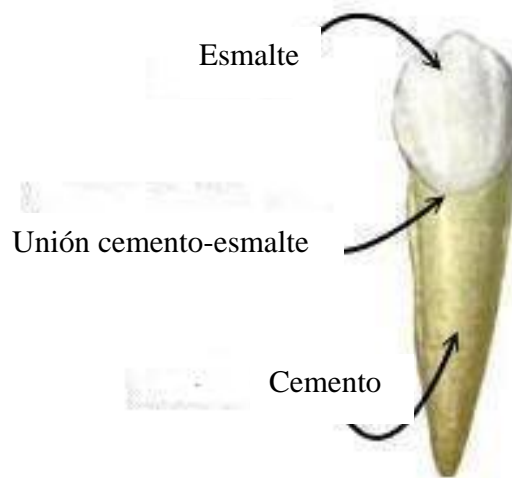
El ligamento periodontal se encuentra bajo constante remodelación. Los fibroblastos forman fibras de colágeno, y las células mesenquimales residuales se desarrollan en osteoblastos y cementoblastos (5).

Funciones Sensoriales y de nutrición: el ligamento periodontal le confiere drenaje linfático y riego de nutrientes al cemento, hueso y la encía. El ligamento periodontal se encuentra innervado con fibras sensoriales capaces de transmitir tacto, presión y dolor mediante las ramificaciones del trigémino. Los nervios pasan desde el área periapical hasta el ligamento periodontal y de ahí pasan a través de canales hacia el hueso alveolar para seguir el curso de los vasos sanguíneos. Los nervios se dividen en fibras sencillas mielinizadas las cuales en su parte final pierden la vaina mielínica para finalizar en una terminación neuronal que puede ser de 4 tipos (5):

1. Terminaciones Libres: tienen una configuración en forma de árbol y llevan sensaciones de dolor.
2. Mecanorreceptores de Ruffini: localizados principalmente en el área periapical.
3. Corpúsculos de Meissner: también son mecanorreceptores y se encuentran principalmente en el tercio medio de la raíz.
4. Terminaciones para sensaciones para presión y vibración que están rodeadas de una cápsula fibrosa y están localizadas principalmente en el ápice.

### 7.3. Cemento

El cemento es un tejido avascular, calcificado y mesenquimático que constituye la porción externa de la raíz anatómica (Fig. 19). El cemento cubre y protege la totalidad de la superficie radicular del diente desde el cuello anatómico hasta el ápice, aunque en ocasiones puede extenderse sobre el esmalte en la región cervical. Este tejido no está vascularizado y carece de inervación propia.



**Figura. 19. Esquema representativo donde se señala la ubicación del cemento.** En los dientes jóvenes el cemento forma una capa relativamente fina. El menor espesor se encuentra en el cuello del diente, donde tiene aproximadamente 20  $\mu\text{m}$  de ancho y por lo general termina en bisel, extendiéndose un breve trecho sobre el esmalte. En la región media de la raíz el espesor de cemento suele oscilar entre 50 y 80  $\mu\text{m}$ . En la zona apical el cemento puede alcanzar un espesor de 2 a 4 mm, debido a que es la zona más afectada por la deposición secundaria de cemento (7).

R.E. (16)

Kuttler (6) señala que el espesor de cemento disminuye de apical a coronal, que aumenta con la edad y que este aumento depende más de las fuerzas de masticación que del tiempo que el diente ha estado en oclusión.

El cemento proporciona un medio de retención por anclaje de las fibras colágenas del ligamento periodontal que fijan el diente al hueso alveolar, controla el ancho del espacio periodontal, permite la reorientación de fibras periodontales y conserva la inserción de dichas fibras durante el movimiento dentario, transmite las fuerzas oclusales a la membrana periodontal, repara la superficie radicular cuando se presentan fracturas o resorciones y compensa el desgaste del diente por atrición(7).

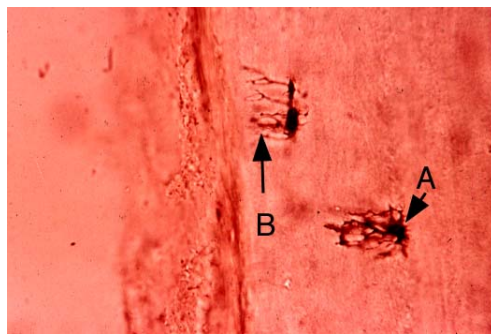
## Componentes estructurales.

El cemento está formado por células y por una matriz extracelular calcificada. Las principales células son los cementoblastos y los cementocitos. Los cementoblastos se encargan de sintetizar tropocolágeno que formará las fibras colágenas intrínsecas y los proteoglicanos o glucosaminoglicanos que formarán la matriz extracelular (7,8).

Los cementoblastos se encuentran adosados a la superficie del cemento del lado del ligamento periodontal. Si se presentan activos, se observan como células cúbicas muy basófilas. Por el contrario, si se encuentran inactivos, se observan aplanados con núcleos de heterocromatina.

En los dientes con raíces completamente formadas, los cementoblastos activos se encuentran solo a partir del tercio medio de la raíz o solo en el tercio apical, es decir, en las zonas donde hay deposición de cemento secundario. Entre los cementoblastos activos y el cemento mineralizado, existe una delgada capa de sustancia cementoide o cemento inmaduro, que representa la deposición más reciente de matriz orgánica donde aún no se han precipitado sales minerales(7).

Los cementocitos son aquellos cementoblastos que quedan incluidos en lagunas en el cemento mineralizado (Fig. 20). Estas células presentan entre 10 y 20 prolongaciones citoplasmáticas que emergen del cuerpo celular y se extienden hacia la superficie externa en dirección al periodonto, que representa su fuente de nutrición (7,9).



**Figura.20. Cementocitos en A y B.** Algunos cementoblastos se encuentran embebidos en el cemento celular, entonces se les llama cementocitos. Se encuentran en espacios en el cemento llamados lagunas.

R.E. (17)

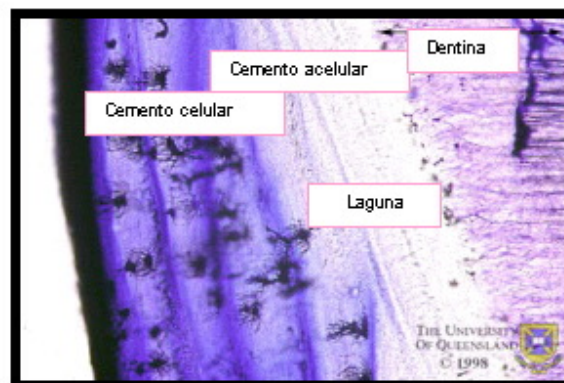
La matriz extracelular del cemento contiene aproximadamente de 46 a 50% de material inorgánico, 22% de material orgánico y 32% de agua. El principal componente inorgánico está representado por fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita, los cuales se alojan entre las fibras colágenas y

dentro de ellas. Además del fosfato de calcio, también se presenta carbonato de calcio y oligoelementos entre los que se pueden mencionar sodio, potasio, hierro, magnesio, azufre y fluoruro (7).

La matriz orgánica del cemento está formada por fibras de colágeno principalmente tipo I, que constituye el 90% de la fracción proteica de este tejido. Existen dos clases de fibras, las intrínsecas que están formadas por los cementoblastos y las extrínsecas que son haces de fibras del ligamento periodontal.

La sustancia fundamental está integrada por proteoglicanos, glucosaminoglicanos y glucoproteínas.

Existen dos tipos principales de cemento: acelular (primario) y celular (secundario) (Fig. 21). Ambos consisten en una matriz interfibrilar calcificada y fibras de colágeno (5).



**Fig. 21. Imagen histológica del cemento dentario**, donde se puede apreciar el cemento celular, el cemento acelular y las lagunas en las que quedan atrapados los cementoblastos R.E. (18)

Las dos fuentes de fibra de colágeno en el cemento son:

1. Las fibras de Sharpey (extrínsecas). Constituyen la porción embebida de las fibras principales del ligamento periodontal.
2. El formado por los fibroblastos, las fibras intrínsecas del cemento que son producidas por los cementoblastos.

Clasificación de Schroeder de cemento (5):

Cemento afibrilar acelular (AAC): no contiene células extrínsecas ni intrínsecas de colágeno. Es producto de los cementoblastos y se encuentra en la parte más coronal con un espesor de 1 a 15  $\mu\text{m}$ .

Cemento acelular de fibras extrínsecas (AEFC): se compone casi por completo de paquetes que se componen de fibras de Sharpey y carece de células. Es producto de los fibroblastos y cementoblastos y se encuentra en el tercio cervical de las raíces extendiéndose hasta apical. Su grosor es de 30 a 230  $\mu\text{m}$ .

Cemento estratificado celular mezclado (CMSC): está compuesto por fibras extrínsecas (Sharpey) y fibras intrínsecas, puede contener células. Es un producto de fibroblastos y cementoblastos y aparece principalmente en el tercio apical de las raíces, ápices y furca. Su espesor es de 100 a 1000  $\mu\text{m}$ .

Cemento celular de fibras intrínsecas (CIFC): contiene células pero no fibras extrínsecas de colágena. Es formado por los cementoblastos y rellenan las lagunas producidas por la resorción.

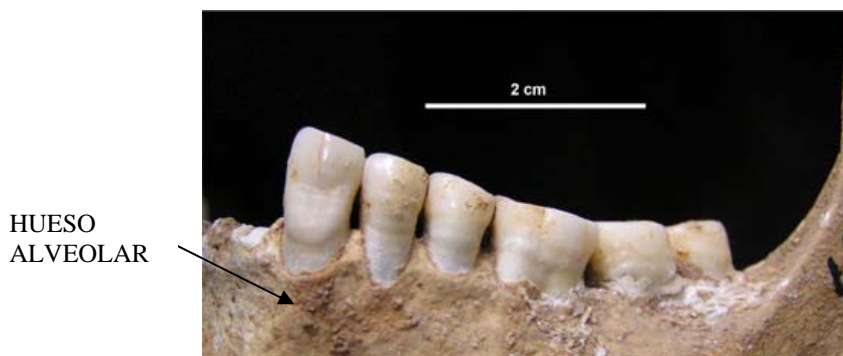
Cemento Intermedio: está cerca de la unión cementodentinaria. Contiene remanentes celulares de la vaina de Hertwig embebidas en una sustancia calcificada.

El contenido inorgánico de cemento (hidroxiapatita) es de 45% a 50%, el cual es menor que el del hueso (65%), esmalte (97%), o dentina (70%). Existen diferentes opiniones acerca de si la microdureza incrementa o disminuye con la edad, pero no se ha establecido ninguna relación entre la edad y el contenido mineral del cemento (5).



#### 7.4. Hueso Alveolar

El proceso alveolar es la porción del maxilar y mandíbula que forma y soporta los alvéolos dentales (Fig. 22). El proceso alveolar se forma cuando los dientes erupcionan y se reabsorbe gradualmente cuando los dientes se pierden. El hueso alveolar está formado en partes por células del folículo dentario (hueso alveolar propio) y por células que son independientes del desarrollo dentario. Junto con el cemento radicular y el ligamento periodontal, el hueso alveolar constituye el aparato de inserción de los dientes, cuya función principal es distribuir y reabsorber las fuerzas generadas, por ejemplo, por la masticación y por otros contactos dentarios (5).



**Fig.22. Fragmento de mandíbula humana donde señalamos el hueso alveolar.** Como se observa en la fotografía el hueso alveolar soporta a los alvéolos dentales y por lo tanto a las piezas dentales.  
R.E. (19)

Las paredes de los alvéolos están tapizadas por hueso compacto y el área entre los alvéolos, incluida la pared ósea compacta, está ocupada por hueso esponjoso.

El hueso esponjoso contiene trabéculas óseas, cuya arquitectura y tamaño están en parte determinados genéticamente y en parte son el resultado de las fuerzas a las cuales están expuestas los dientes durante la función.

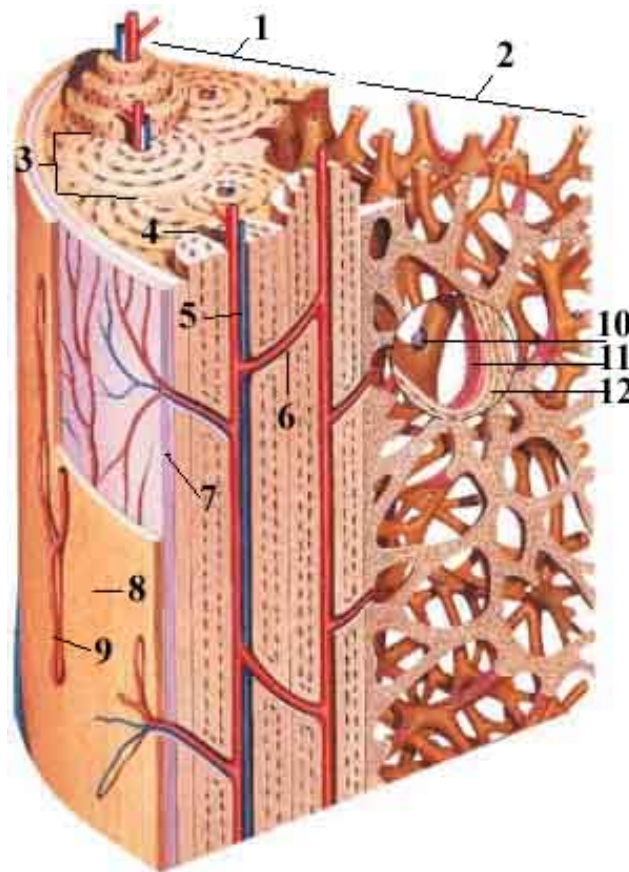
Las unidades estructurales básicas del hueso cortical son los osteones (o sistema haversiano), estructuras cilíndricas longitudinalmente orientadas construidas alrededor de los conductos vasculares (haversianos) (Fig. 23) (5,10).

Los osteoblastos formadores de hueso o en reposo, incluidos los odontoclastos, que son células multinucleadas que participan en la reabsorción ósea, están presentes en las siguientes áreas:

1. En la superficie de las trabéculas óseas del hueso esponjoso.
2. En la superficie externa del hueso cortical que conforma los maxilares.

3. En las paredes alveolares del lado del ligamento periodontal.
4. En la porción interna del hueso cortical del lado de los espacios medulares.

Los osteoblastos producen osteoide, constituido por fibras colágenas y una matriz que contiene principalmente proteoglucanos y glucoproteínas. Esta matriz ósea u osteoide experimenta una mineralización por depósito de minerales, como calcio y fosfato, que posteriormente se transforman en hidroxapatita. Durante el proceso de maduración y mineralización del osteoide, parte de los osteoblastos quedan atrapados en el osteoide. Las células presentes en el osteoide y, después, en el tejido óseo mineralizado, se denominan osteocitos (11).



**Fig. 23. Estructura Ósea.** 1. Hueso cortical .2. Hueso trabecular.3. Cada sistema haversiano tiene un canal central que contiene un paquete neurovascular.4. Colágeno. 5. Canal de Havers. 6. Canal de Volkmann. 7. Periostio. 8. Revestimiento óseo. 9. Vasos del periostio. 10. Osteoclasto. 11. Osteoblasto. 12. Osteocito  
R.E. (20)

La reabsorción del hueso está vinculada siempre a los osteoclastos. Estas son células gigantes especializadas en la degradación de la matriz mineralizada

(hueso, dentina, cemento) y, probablemente, se generan a partir de los monocitos vasculares. La osteólisis (es decir, la degradación del hueso) es un proceso celular activo ejercido por los osteoclastos. Los osteoclastos activos en la reabsorción se adhieren a la superficie del hueso y crean concavidades lacunares denominadas lagunas de Howship. Son móviles y capaces de migrar por la superficie ósea. Los osteoclastos están situados en las lagunas de Howship de la superficie ósea (Fig. 24), (10).



**Fig. 24. Laguna de Howship** con dos osteoclastos.  
R.E. (21)

Tanto el hueso cortical como el esponjoso experimentan continuamente un remodelado (es decir, reabsorción seguida de neoformación), en respuesta al desplazamiento de los dientes y a los cambios en las fuerzas funcionales que actúan sobre los dientes. Durante el crecimiento aposicional, se forman los osteones primarios, mientras que los osteones secundarios se generan durante el proceso de remodelado. Primero, los osteoclastos forman un conducto de reabsorción; después, los osteoblastos aparecen y comienzan a volver a llenar el conducto con laminillas concéntricas (10).

El remodelado de las trabéculas óseas se inicia con la reabsorción de la superficie ósea por los osteoclastos. Después de un breve periodo, los osteoblastos comienzan a depositar hueso nuevo y, finalmente, se forma un nuevo paquete (unidad estructural ósea), delimitada claramente por una línea de cemento.

Las fibras colágenas del ligamento periodontal están insertadas en el hueso mineralizado que tapiza la pared del alveolo dentario. Este hueso, que se denomina hueso fasciculado, tiene un alto ritmo de recambio. Las porciones de las fibras colágenas insertadas en el hueso fasciculado se llaman fibras de Sharpey. Estas fibras se mineralizan en su periferia, pero a menudo tienen un núcleo central no mineralizado. Los haces de fibras colágenas insertas en el hueso fasciculado tienen generalmente un diámetro mayor y son menos

numerosas que los haces de fibras correspondientes del cemento del lado opuesto del ligamento periodontal. Los haces individuales de fibras pueden ser seguidos desde el hueso alveolar hasta el cemento. Pero, a pesar de estar en el mismo haz de fibras, el colágeno adyacente al hueso es siempre algo menos maduro que el adyacente al cemento. El colágeno del lado dentario tiene un ritmo de recambio bajo. Así mientras el colágeno junto al hueso se renueva con relativa rapidez, el colágeno adyacente a la superficie radicular se renueva lentamente o nada (5).

## **8. ENFERMEDAD PERIODONTAL**

El término enfermedad periodontal, se refiere a un conjunto de enfermedades inflamatorias que afectan los tejidos de soporte del diente, encía, hueso y ligamento periodontal. Se considera el resultado del desequilibrio entre la interacción inmunológica del huésped y la flora de la placa dental marginal que coloniza el surco gingival (12).

### **8.1 . Etiología**

Durante siglos los libros de texto odontológicos recomendaban la higiene bucal correcta como mediada de prevención contra las enfermedades dentarias. Sin embargo la importancia de los depósitos dentarios para la generación de enfermedad periodontal careció de bases científicas hasta mediados del siglo pasado, cuando se realizaron estudios epidemiológicos bien trazados (1). A partir de tales estudios quedó establecido que la presencia de depósitos dentarios, mineralizados o no es sin duda el factor más importante en la generación de enfermedad periodontal (OMS 1961).

La evidencia definitiva para esta afirmación fue el producto de estudios clínicos en los que se inició gingivitis experimentalmente mediante la abolición de los procedimientos de higiene bucal (1). Cuando se reinstuyó un régimen correcto de higiene bucal, la inflamación gingival se resolvió en una semana con recuperación de la salud gingival.

La transición de la gingivitis a la enfermedad periodontal destructora no ha sido demostrada experimentalmente en el hombre. Pero en los perros la gingivitis, generada a partir de la acumulación de placa (1) si se mantiene por un periodo lo suficiente prolongado se produce la destrucción permanente de los tejidos de sostén típica de la enfermedad periodontal humana (1). Estos resultados indican que se puede producir enfermedad periodontal destructiva a partir de la gingivitis de larga duración.

Se ha extraído una evidencia adicional del papel de los depósitos dentarios en el hombre a partir de estudios en los cuales el progreso de la enfermedad periodontal se retrasó muchísimo mediante la introducción de las mediadas de higiene bucal (1). En personas altamente motivadas, el correcto control de placa puede prácticamente detener el progreso de la enfermedad periodontal y, tras la terapéutica, induce una considerable reparación ósea en pacientes que perdieron el sostén óseo a causa de la enfermedad periodontal (1). De tal modo, hay excelentes razones para afirmar que los depósitos de placa son el factor principal para el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad periodontal.

### 8.1.1. Placa Bacteriana

Se ha definido a la placa bacteriana ( o microbiana o dental) como agregados microbianos a los dientes u otras estructuras bucales sólidas. Otra definición distingue la placa microbiana de la materia alba; ésta última estaría constituida por agregados microbianos, leucocitos y células epiteliales bucales descamadas que se acumulan en una boca no limpia sobre la superficie de placas y dientes (1). Según esta definición, la distinción entre la placa microbiana y materia alba está determinada por la intensidad de la adhesión del depósito. Si la acción mecánica de un chorro fuerte de agua lo elimina, este material se denomina materia alba; si soporta el chorro de agua, se trata de placa microbiana.

Se puede apreciar clínicamente la placa supragingival cuando ya ha alcanzado cierto espesor y aparece entonces como una capa blancuzca, amarillenta, sobre todo a lo largo de los márgenes gingivales de los dientes (Fig. 22). Puede ser difícil identificar la placa cuando se halla presente en cantidades pequeñas. En este caso, se puede confirmar su presencia por raspado de la superficie dentaria a lo largo del margen gingival con el extremo de una sonda o mediante la utilización de una solución revelante. Ésta puede ser un colorante convencional, que pigmente la placa, o un colorante fluorescente que puede ser visto con iluminación con luz ultravioleta.



**Fig. 25. Placa Dentobacteriana supragingival.** Se observa de color blanco-amarillo y se encuentra generalmente en los márgenes gingivales de los dientes.  
R.E. (22)

La placa ubicada en subgingival no puede ser diagnosticada directamente *in situ* y como suele estar en capas delgadas, no es posible diagnosticar estos depósitos por inspección clínica. Se puede formar placa en cualquier punto de las estructuras sólidas de la boca, si el lugar está protegido de la acción de la limpieza mecánica normal por la lengua, los carrillos y los labios.

De tal modo, los depósitos de placa se encuentran irregularmente presentes en las fisuras de las caras oclusales, en las fosas e irregularidades, y aún en las

superficies dentales lisas, en obturaciones y coronas artificiales y sobre todo, en restauraciones mal adaptadas, bandas ortodóncicas, aparatos ortodóncicos y prótesis removibles y mal ajustadas (1), (Fig. 26).



**Fig. 26. La enfermedad Periodontal** por prótesis mal ajustadas se debe a la presencia de zonas retentivas de alimentos, dificultando la higiene oral y ocasionando oclusión traumática  
R.E. 23

#### **8.1.1.1. Ecología de la microflora bucal**

La cavidad bucal es estéril en el momento del nacimiento, pero entre las 6 y 10 horas se establece una flora principalmente aerobia. Los anaerobios aparecen en algunas bocas en los 10 primeros días, y se encuentran presentes en casi todas a los cinco meses de edad, antes de la erupción de los dientes y en 100% de las bocas cuando aparecen los incisivos. Con la edad, aumentan los anaerobios, pero los de tipo facultativo siguen predominando numéricamente. El cálculo microscópico en la saliva oscila de 43 millones a 5 500 millones de microorganismos por mililitro, con un promedio de 750 millones (Tabla I). En la tabla está un censo representativo de la población bacteriana de la saliva. Asimismo, en la boca hay hongos, incluso *Candida*, *Cryptococcus* y *Saccharomyces* y protozoos como *Entamoeba gingivalis* y *Trichomonas texas*. En algunos casos, en la cavidad oral se encuentran virus (1).

FLORA NATURAL DE LA SALIVA HUMANA		
Grupo Bacteriano	Aislados predominantes del grupo	Porcentaje
Cocos facultativos grampositivos	Los estreptococos representan 41% de todos los aislados y se componen de <i>S. salivarius</i> , <i>S. mitis</i> y pequeñas cantidades de enterococos; el resto son estafilococos	46.2
Cocos anaerobios gramnegativos	<i>Veillonella</i>	15.9
Cocos anaerobios grampositivos	<i>Peptostreptococcus</i> o peptococos	13
Bacterias facultativas grampositivas	<i>Difteroides</i> , <i>Actinomyces</i>	11.8
Bacterias anaerobias gramnegativas	<i>Campylobacter sputorum</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Fusobacterium</i>	4.8
Bacterias anaerobias grampositivas	Propionibacterias, <i>Actinomyces</i>	4.8
Bacterias facultativas gramnegativas	No identificadas	2.3
Cocos facultativos gramnegativos	No identificadas	1.2

La mayoría de las bacterias salivales provienen del dorso de la lengua, del cual son desprendidas por acción mecánica; cantidades menores vienen del resto de las mucosas bucales. El número de microorganismos aumenta temporalmente durante el sueño, y decrece después de las comidas y el cepillado (1).

#### 8.1.1.2. Placa Supragingival

Las superficies dentarias, tanto el esmalte como el cemento expuestos, están normalmente cubiertos por una delgada película adquirida de glucoproteínas. Si se retira, por ejemplo, mediante instrumentación mecánica, se vuelve a formar en pocos minutos. Se cree que la película desempeña un papel activo en la adhesión selectiva de las bacterias a la superficie dentaria.

En la zona supragingival, las bacterias vinculadas con la salud periodontal llegan a acumular hasta aproximadamente 12 células de espesor en la superficie dental, y son principalmente cocos y bacilos Gram-positivos (Fig. 27),(1).





PLACA  
SUPRAGINGIVAL

**Fig. 27. En esta fotografía se muestra la placa supragingival.** Está compuesta principalmente de microorganismos Gram positivos  
R.E. (24)

La colonización de la superficie dental por las bacterias de la placa supragingival parece ser bastante específica y dependería de la interacción de la superficie bacteriana con la glucoproteína salival de la película. Se comprobó que es *Streptococcus sanguis* (Fig. 28) y los bacillos Gram-positivos son los grupos principales de bacterias que inician la placa supragingival.



**Fig. 28. Microfotografía de *Streptococcus sanguis*.** Identificado como bacteria que inicia la formación de placa supragingival.  
R.E. (25)

Una vez iniciado el crecimiento de la placa supragingival, se produce el crecimiento secundario y maduración. Durante esta fase hay un desplazamiento de la población bacteriana. La proporción de microorganismos filamentosos y bacterias Gram-negativas aumenta.

En general, esta placa aparece más compacta. También son más evidentes las interacciones bacterianas adherentes.

Los microorganismos encontrados comúnmente en dichos sitios en adultos incluyen *Streptococcus mitis*, *S. sanguis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Rothia*

*dentocariosa*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* y a veces especies de *Neisseria* y *Veillonella* (1).

### 8.1.1.3. Placa Subgingival

Los mecanismos involucrados en la formación de la placa subgingival han sido parcialmente dilucidados. Una razón es la dificultad para obtener muestras con la placa subgingival conservada en su posición original entre los tejidos blandos de la encía y los tejidos del diente (1).

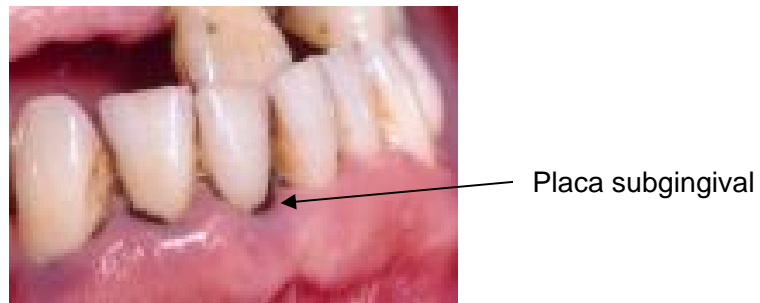


Fig. 29. La placa subgingival está asociada a la presencia microorganismos densamente apretados y se observa de color café oscuro  
R.E. (26)

La estructura de la placa subgingival tiene cierta similitud con la variedad supragingival, en particular cuando concierne a placa asociada a gingivitis sin formación de bolsas profundas (Fig. 29). Se observa un acúmulo de microorganismos densamente apretados adyacentes al material cuticular que recubre la superficie dentaria. Los microorganismos comprenden cocos y bacilos Gram-positivos y negativos y organismos filamentosos. También se pueden encontrar espiroquetas y diversas bacterias flageladas, en especial en la extensión apical de la placa. La capa superficial suele estar menos densamente apretada y hay leucocitos interpuestos regularmente entre la placa y el recubrimiento epitelial del surco gingival.

Cuando la enfermedad periodontal generó una bolsa patológica, el aspecto del depósito microbiano subgingival se torna mucho más variado. En este caso, la superficie dentaria puede representar el esmalte o el cemento del cual se desprende el tejido conectivo periodontal. La acumulación de placa en la porción del diente antes cubierta por los tejidos periodontales no difiere marcadamente de la observada en la gingivitis. En esta capa, predominan los microorganismos filamentosos, pero también existen cocos y bacilos. Sin embargo, en el fondo de la bolsa, se reduce el número de los organismos filamentosos y en la porción más apical están virtualmente ausentes.

Las capas superficiales de microorganismos de la bolsa periodontal que miran hacia el tejido blando son claramente diferentes de la capa adherente a la superficie dentaria, y no se aprecia una matriz intermicrobiana definida. Los

microorganismos comprenden una gran cantidad de espiroquetas y bacterias flageladas. También hay cocos y bacilos gramnegativos. La multitud de espiroquetas y organismos flagelados son bacterias con motilidad, y como no existe una matriz intermicrobiana entre ellos, es probable que esa parte externa del acúmulo microbiano se adhiera muy laxamente, con la pared del tejido blando de la bolsa como elemento responsable de su retención (1).

### **8.1.2. Factores Predisponentes**

#### **No reemplazo de dientes ausentes.**

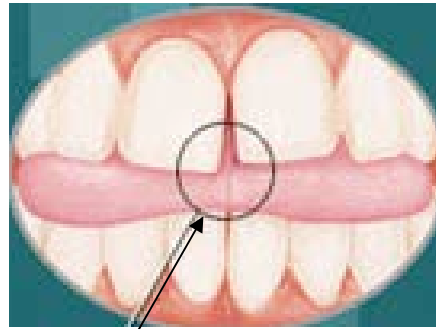
El no reemplazo de dientes extraídos desencadena una serie de cambios que producen diversos grados de enfermedad periodontal. En casos aislados, los espacios creados por extracciones dentarias no generan secuelas indeseables. Sin embargo, la frecuencia con que aparece la enfermedad periodontal debido a no subsistir un diente ausente o más, señala el valor profiláctico de la prótesis temprana. El no reemplazo de dientes ausentes acarrea la retención de alimentos, inflamación gingival y pérdida ósea en el área interproximal. La extrusión de molares favorece la pérdida ósea y formación de bolsa. Estas alteraciones son factores comunes en la etiología de la enfermedad periodontal (12).

#### **HÁBITOS**

Los hábitos son factores importantes en el comienzo y evolución de la enfermedad periodontal. Con frecuencia se revela la presencia de un hábito insospechado en casos que no respondían al tratamiento periodontal.

**Protrusión lingual.** Supone la presión persistente forzada de la lengua contra los dientes, en particular en la región anterior (Fig. 30). Éste hábito se suele establecer durante la infancia y se piensa también que nacen de la alimentación con biberón con pezón de diseño inadecuado. Asimismo, se han considerado las enfermedades nasofaríngeas y alérgicas como causas posibles de la protrusión lingual. Éste hábito ejerce una presión lateral excesiva, que puede ser traumatizante para el periodonto. Asimismo, produce diastemas e inclinación de los dientes anteriores, con mordida abierta en el sector anterior, posterior o zona de premolares. La inclinación alterada de los dientes anteriores superiores genera un cambio en la dirección de las fuerzas funcionales, de manera que aumenta la presión lateral sobre las coronas. Esto provoca el desplazamiento vestibular y las fuerzas de rotación vestibulolinguales poco favorables. El antagonismo entre las fuerzas que llevan el diente hacia vestibular y la presión hacia adentro que ejercen los labios puede producir movilidad dentaria. La inclinación alterada de los dientes asimismo pueden interferir en la eliminación de los alimentos y favorecer la acumulación de residuos de en el margen

gingival. La pérdida de contacto permite la retención de alimentos. La protrusión lingual es un importante factor que contribuye a la migración patológica (12).



Migración patológica

**Fig. 30.** La protrusión lingual es un hábito que comienza durante la infancia, ocasiona diastemas en la zona anterior generando así un cambio en la dirección de las fuerzas funcionales de los dientes  
R.E. 27

**Bruxismo.** Es el apretamiento o rechinar agresivo, repetido o continuo de los dientes durante el día o la noche, o durante ambos, es más frecuente en adultos, pero también existe en niños. El apretamiento es el cierre continuo o intermitente de los maxilares bajo presión y el golpeteo con contactos dentarios repetidos que se realizan sobre superficies dentarias aisladas o restauraciones dentarias. El bruxismo, el apretamiento y el golpeteo son diferentes hábitos oclusales que deberían ser considerados juntos por que su etiología es la misma y producen síntomas similares.

Por lo general, los pacientes no están concientes del hábito, pero se quejan de dolor o sensación de cansancio en maxilares o músculos, en particular al levantarse por la mañana, que se irradia a la cabeza y cuello, una sensación de ardor en los músculos o dolor de cabeza. El bruxismo produce atrición dentaria excesiva que se caracteriza por facetas en superficies dentarias que por lo general no son alcanzadas por los movimientos funcionales, y por facetas exageradas en áreas funcionales normales, ensanchamiento de las superficies oclusales, y en casos avanzados reducción de la dimensión vertical. El bruxismo no causa necesariamente destrucción alveolar. El periodonto suele responder favorablemente al aumento de función mediante el ensanchamiento del ligamento periodontal y la mayor densidad de hueso alveolar.

Sin embargo, el impacto repetido creado por el bruxismo y el apretamiento puede lesionar el periodonto al privarlo de periodos funcionales que necesita para la reparación normal. Al traumatizar el periodonto, los hábitos oclusales agravan la enfermedad periodontal existente y llevan a la movilidad dentaria. La

lesión periodontal es más intensa alrededor de dientes en contacto prematuro. Los hábitos de golpeteo que se concentran sobre un diente aislado o sectores del arco son más propensos a producir lesiones que los generalizados de bruxismo y apretamiento (13).

**Tabaco.** Por lo regular, el fumar no origina cambios notables en la encía. El calor y los productos de la combustión acumulados son irritantes locales particularmente indeseables en periodos posteriores al tratamiento. En los fumadores pueden aparecer los siguientes cambios bucales:

1. Depósitos parduzcos y cambio de color de la estructura dentaria.
2. Coloración grisácea difusa y leucoplasia gingival.
3. Estomatitis nicotínica
4. El mantenimiento de la pipa en un lugar fijo puede desgastar el diente y formar un espacio elíptico entre los dientes, producir la intrusión de los dientes y alteraciones traumáticas en los tejidos periodontales de soporte.

En fumadores se ha registrado una mayor frecuencia de gingivitis crónica y gingivitis ulceronecrosante, al igual que una mayor frecuencia y gravedad de enfermedad periodontal; además la acumulación de placa aumenta en los fumadores de pipa que en los de cigarrillo. Las células queratinizadas de la encía aumentan, pero en la mucosa bucal no es posible detectar otro cambio que no sea la alteración del consumo de oxígeno (12).

**Respiración bucal.** Es frecuente ver gingivitis asociada a respiración bucal. Las alteraciones gingivales incluyen eritema, edema, agrandamiento y un brillo superficial difuso en las áreas expuestas. La región anterior superior es el lugar más común de esta lesión. En muchos casos, la encía alterada se demarca nítidamente de la mucosa normal adyacente no expuesta. No se ha demostrado la forma exacta en que la respiración bucal afecta a los cambios gingivales. Su efecto deletéreo es atribuido a irritación por deshidratación de la superficie.

**Traumatismo del cepillado dentario.** Como consecuencia del enérgico cepillado horizontal o rotatorio aparecen en la encía alteraciones y abrasiones en los dientes. El efecto deletéreo del cepillado abusivo se acentúa cuando se usan dentríficos excesivamente abrasivos.

Los cambios gingivales atribuibles al traumatismo del cepillo de dientes pueden ser agudos o crónicos. Los cambios agudos son de aspecto y duración variables, e incluyen adelgazamiento de la superficie epitelial y denudación del tejido conectivo subyacente, para formar una hinchazón gingival dolorosa. Se producen lesiones puntiformes por penetración de las cerdas perpendiculares en la encía. También se ve formación de vesículas dolorosas en las áreas traumatizadas. Eritema difuso y denudación de la encía insertada de toda la

boca es la secuela más destacada del cepillado exagerado. Los cambios gingivales que nombramos son comunes cuando el paciente cambia de cepillo. El traumatismo crónico del cepillo tiene por consecuencia recesión gingival con denudación de la superficie pedicular. Es frecuente que el margen gingival se agrande y se presente “apilado”, como si estuviera moldeado con los golpes del cepillo. Pueden haber surcos lineales que se extienden desde el margen hasta la encía insertada. La encía de tales zonas es rosada y firme (12).

**El uso incorrecto del hilo dental, palillos o estimuladores dentales de madera.** La creación de espacios interproximales por destrucción de la encía a causa de cepillado exagerado favorece la acumulación de residuos y alteraciones inflamatorias.

**Irritación química.** La inflamación gingival aguda puede originarse en la irritación química o como consecuencia de sensibilidad o lesiones inespecíficas en los tejidos. En estados inflamatorios alérgicos, los cambios gingivales varían desde un simple eritema hasta formación de vesículas y úlceras. Sobre esta base se explican reacciones intensas a colutorios o dentríficos o materiales de prótesis. El uso indiscriminado de colutorios bucales fuertes, la aplicación de tabletas de aspirina para aliviar el dolor dentario, el uso imprudente de drogas escaróticas y el contacto accidental con drogas como fenol o nitrato de plata son ejemplos del modo en que por lo regular se produce la irritación química en la encía.

**Maloclusión.** Según su naturaleza, la maloclusión ejerce un efecto diferente en la etiología de la gingivitis y la enfermedad periodontal. La alineación irregular de los dientes lleva a la acumulación de residuos de alimentos irritantes y a la retención de alimentos. Hay recesión gingival en dientes desplazados hacia vestibular. Las desarmonías oclusales originadas por la maloclusión lesionan el periodonto. Por lo general, los bordes incisales de los dientes anteriores irritan la encía del maxilar antagonista en pacientes con overbite pronunciado. Las relaciones de mordida abierta conducen a cambios periodontales desfavorables causados por la acumulación de placa y ausencia de función o su disminución.

**Restauraciones dentales inadecuadas.** Las restauraciones dentales inadecuadas y las prótesis son causas comunes de gingivitis y periodontitis. Los márgenes desbordantes proporcionan localizaciones ideales para la acumulación de placa y la multiplicación de bacterias, que generan enzimas y otras sustancias lesivas. Las restauraciones que no reproducen el contorno de las superficies vestibulares de los molares desvían los alimentos hacia el margen gingival y producen inflamación. Contactos proximales inadecuados o localizados incorrectamente, y el no producir la anatomía protectora normal de los rebordes marginales oclusales y surcos de desarrollo lleva a la retención de alimentos. El hecho de no reestablecer adecuadamente los nichos interproximales favorece la acumulación de irritantes (12).

## **8.2. Clasificación de la Enfermedad Periodontal.**

Cada día la enfermedad periodontal tiene mayor importancia, no solamente para la salud oral, sino que se ha constituido como un factor de riesgo importante para la salud sistémica de la población.

Los sistemas de clasificación son necesarios en orden de proveer un marco el cual científicamente estudia la etiología, patogénesis y el tratamiento en una forma ordenada, además de proveer al clínico una vía organizada de las necesidades de cuidado para sus pacientes.

La Academia Americana de Periodoncia AAP, a finales de 1999 en la ciudad de Oak Brook, Illinois, realizó el taller sobre la clasificación de enfermedad periodontal, que fue publicado en los anales de periodoncia de diciembre de 1999, dándonos nuevos parámetros para unificar universalmente las diferentes entidades que se presentan en la enfermedad periodontal. Es importante que esta clasificación se adopte ya que podemos globalizar el conocimiento (13).

### **Clasificación general de la enfermedad periodontal**

#### **I. Enfermedades Gingivales**

##### **A. Enfermedad Gingival Inducida por Placa Dental.**

##### **1. Gingivitis asociada con Placa Dental únicamente.**

- a.** Sin otros factores locales asociados.
- b.** Con otros factores locales asociados (Ver VIII-A).

##### **2. Enfermedad Gingival Modificada por Factores Sistémicos.**

##### **a. Asociada con el Sistema Endocrino.**

- 1)** Gingivitis Asociada con la Pubertad.
- 2)** Gingivitis Asociada con el Ciclo Menstrual.
- 3)** Gingivitis Asociada con el Embarazo.

- a)** Gingivitis.
- b)** Granuloma Piógeno.

##### **4) Gingivitis Asociada a Diabetes Mellitus.**

##### **b. Asociada con Discrasias Sanguíneas.**

- 1)** Gingivitis Asociada con Leucemia.
- 2)** Otros.

**3. Enfermedad Gingival Modificada por Medicamentos.**

- a. Enfermedad Gingival Influenciada por Drogas.**
  - 1) Agrandamientos Gingivales Influenciados por Drogas.**
  - 2) Gingivitis Influenciada por Drogas.**
    - a) Gingivitis Asociada a Anticonceptivos Orales.**
    - b) Otras.**

**4. Enfermedad Gingival Modificada por Malnutrición.**

- a. Gingivitis Asociada a Deficiencia de Ácido Ascórbico.**
- b. Otras.**

**B. Lesiones Gingivales No Inducidas por Placa.**

**1. Enfermedad Gingival de Origen Bacteriano Específico.**

- a. Lesiones Asociadas con *Neisseria Gonorrhoeae*.**
- b. Lesiones asociadas con *Traponema Pallidum*.**
- c. Lesiones Asociadas a Especies *Streptocólicas*.**
- d. Otros.**

**2. Enfermedad Gingival de Origen Viral.**

- a. Infecciones por el Herpes Virus.**
  - 1) Gingivoestomatitis Herpética Primaria.**
  - 2) Herpes Oral Recurrente.**
  - 3) Infecciones por Varicela Zoster.**
- b. Otras.**

**3. Enfermedad Gingival de Origen Fúngico.**

- a. Infecciones por Especies de Candida.**
- b. Eritema Gingival Lineal.**
- c. Histoplasmosis.**
- d. Otras.**

**4. Lesiones Gingivales de Origen Genético.**

- a. Fibromatosis Gingival Hereditaria.**
- b. Otras.**

**5. Manifestaciones Gingivales de Condiciones Sistémicas.**

- a. Desórdenes Mucocutáneos.**



- 1) Liquen Plano.
- 2) Penfigoide.
- 3) Pénfigo Vulgar.
- 4) Eritema Multiforme.
- 5) Lupus Eritematoso.
- 6) Inducidas por Drogas.
- 7) Otras.

**b. Reacciones Alérgicas.**

1) Reacciones a los materiales restaurativos dentales.

- a) Mercurio.
- b) Níquel.
- c) Acrílico.
- d) Otros.

2) Reacciones atribuidas a

- a) Cremas Dentales.
- b) Enjuagues Dentales.
- c) Aditivos de Gomas de Mascar.
- d) Aditivos de los Alimentos.

3) Otras.

**6. Lesiones Traumáticas.**

- a. Lesiones Químicas.
- b. Lesiones Físicas.
- c. Lesiones Térmicas.

7. Reacciones a Cuerpo Extraño.

8. Otras no Específicas.

**II. Periodontitis Crónica.**

- A. Localizada.
- B. Generalizada.

**III. Periodontitis Agresiva**

- A. Localizada.
- B. Generalizada.

**IV. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas.**

**A. Asociada con Desórdenes Hematológicos.**

1. Neutropenia Adquirida.
2. Leucemia.
3. Otros.

**B. Asociada con Desórdenes Genéticos.**

1. Neutropenia Cíclica Familiar.
2. Síndrome de Down.
3. Síndromes de Deficiencia de Adhesión Leucocitaria.
4. Síndrome Papillon-Lefèvre.
5. Síndrome de Chediak-Higashi.
6. Histiocitosis.
7. Enfermedad de Almacenamiento de Glicógeno.
8. Agranulocitosis Genética Infantil.
9. Síndrome de Cohen.
10. Síndrome de Ehlers-Danlos.
11. Hipofosfatasa.
12. Otros.

**C. Otros no específicos.**

**V. Enfermedad Periodontal Necrotizante.**

**A. Gingivitis Ulceronecrotizante.**

**B. Periodontitis Ulceronecrotizante.**

**VI. Absceso Periodontal.**

**A. Absceso Gingival.**

**B. Absceso Periodontal.**

**C. Absceso Pericoronal.**

**VII. Periodontitis Asociada con Lesiones Endodónticas.**

**A. Lesiones Combinadas Endo-Periodontales.**

**VIII. Condiciones o deformidades del desarrollo o adquiridas**

**A. Factores Localizados Relacionados a los Dientes que Modifican o Predisponen a la Enfermedad Gingival Inducida por Placa o Periodontitis.**

1. Factores Anatómicos Dentales.
2. Aparatos y Restauraciones Dentales.
3. Fracturas Radiculares.
4. Reabsorción radicular cervical y Lágrimas de Cemento.

**B. Condiciones y Deformidades Mucogingivales Adyacentes a los Dientes.**

1. Resección de los Tejidos Gingivales Blandos.
  - a. Superficies Lingual o Vestibular.
  - b. Interproximal (Papilar).
2. Ausencia de Encía Queratinizada.
3. Profundidad Vestibular Disminuida.
4. Posición Aberrante de Músculos/Frenillo.
5. Exceso Gingival.
  - a. Seudobolsas.
  - b. Margen Gingival Inconsistente.
  - c. Gran exceso Gingival.
  - d. Agrandamiento Gingival.
6. Color Anormal.

**C. Condiciones y Deformidades Mucogingivales en Rebordes Edentulos.**

1. Deficiencia de Reborde Horizontal y/o Vertical.
2. Ausencia de Tejido Queratinizado/Encía.
3. Agrandamiento de Tejido Blando/Gingival.
4. Posición Aberrante de músculos/Frenillo.
5. Profundidad Vestibular Disminuida.
6. Color Anormal.

**D. Trauma Oclusal.**

1. Trauma Oclusal Primario.
2. Trauma Oclusal Secundario.

## **8.2.1. Enfermedades Gingivales**

### **A. Enfermedad gingival inducida por placa dental**

Las enfermedades gingivales son un grupo de entidades patológicas que se confinan en la encía y que son el resultado de una amplia variedad de etiologías.

La enfermedad gingival que requiere de la presencia de la placa bacteriana para iniciar el proceso se ha dividido en dos grupos: la enfermedad gingival inducida por placa, asociada a factores locales y la enfermedad gingival inducida por placa que está asociada a factores locales y modificada por factores sistémicos.

El diagnóstico del proceso se realiza teniendo en cuenta la sintomatología del paciente, historia médica y dental, estado actual de salud, examen clínico (niveles de inserción clínica periodontal, sondeo periodontal, extensión, distribución, duración y descripción física de las lesiones).

#### **Características clínicas de la enfermedad gingival**

- Signos y síntomas clínicos de inflamación (agrandamiento del contorno gingival, color entre rojo a rojo-azuloso, temperatura sulcular elevada, hemorragia al sondeo, eritema y aumento del exudado gingival).
- Signos y síntomas limitados a la encía.

Los signos y síntomas de la enfermedad ceden al retirar la etiología.

- Presencia de placa dental para iniciar y/o exacerbar la severidad de la lesión.
- No hay presencia de signos o síntomas que sugieran la pérdida de inserción clínica periodontal o pérdida ósea, además puede presentarse periodonto disminuido pero estable.
- Posible precursor de la pérdida de inserción periodontal alrededor del diente.
- Cambios histológicos.

#### **Enfermedad Gingival Asociada a Factores Locales Primarios**

##### **Gingivitis Inducida por Placa**

La enfermedad gingival es la enfermedad periodontal más común en todas las edades, y se da como resultado de la localización de placa bacteriana en el

margen gingival, por lo que la enfermedad comienza en este lugar.

En sus etapas iniciales la enfermedad no presenta signos y síntomas notorios por lo que puede progresar silenciosamente a formas más avanzadas y extenderse a través de toda la unidad gingival.

La intensidad severidad y localización de la enfermedad puede variar de acuerdo al individuo y suele verse afectada por la anatomía de los dientes, raíces y presencia de restauraciones defectuosas.

Los cambios histopatológicos presentes en esta enfermedad son: proliferación del epitelio basal, destrucción progresiva de las fibras de colágeno e infiltrado celular inflamatorio.

La enfermedad cede con la remoción de la placa.

### **Gingivitis Inducida por Placa sobre Periodonto Disminuido**

Se denomina periodonto disminuido a aquel que ha recuperado la salud luego de un tratamiento activo y que como consecuencia de la enfermedad permanece con reducción en la adhesión de tejido conectivo y en la altura de la cresta ósea.

La gingivitis está caracterizada por la reaparición de la inflamación en el margen gingival como consecuencia de la placa sin evidencia de pérdida de unión progresiva. Desaparece retirando el factor etiológico y comparte las mismas características clínicas de la enfermedad gingival inducida por placa.

### **Enfermedad Gingival Inducida por Placa y Modificada por Factores Sistémicos**

Son las manifestaciones generadas por factores sistémicos específicos de cada huésped sobre el tejido periodontal.

### **Enfermedad Gingival Asociada con el Sistema Endocrino**

La respuesta de los tejidos periodontales es modulada en algún momento por las hormonas esteroideas sexuales (andrógeno, estrógeno, progesterona), aunque la concentración de estas hormonas más la presencia de placa son necesarias para producir la enfermedad, la composición de la flora no es específica, la mayor cantidad de información al respecto se ha obtenido de las mujeres debido a la frecuencia de los cambios hormonales en su cuerpo.

### **Gingivitis Asociada a la Pubertad**

Respuesta inflamatoria pronunciada de la encía a la placa dental y a las hormonas durante el período circunpubertal.

La incidencia y severidad de la gingivitis en los adolescentes se ve influenciada por varios factores: 1. Niveles de placa dental; 2. Respiración oral; 3. Erupción dental y cantidad de dientes; 4. Elevación de las concentraciones de hormonas esteroideas que afecta la respuesta inflamatoria de la encía.

La inflamación gingival asociada a la pubertad presenta las mismas características clínicas mencionadas anteriormente, solo que desarrolla signos de inflamación con niveles de placa relativamente pequeños, la enfermedad desaparece después de la pubertad.

### **Gingivitis Asociada con el Ciclo Menstrual**

Respuesta inflamatoria gingival acrecentada por la producción de hormonas previa a la ovulación asociada a la presencia de placa dental, dicha respuesta no se presenta en todas las mujeres.

Los cambios hormonales alrededor de la ovulación pueden incrementar el fluido gingival hasta en un 20%, las características clínicas son las mismas que las descritas anteriormente, solo que las variaciones no son lo suficientemente notorias y las mujeres que desarrollan inflamación durante el ciclo presentan una forma muy leve de la enfermedad que desaparece con el paso de la ovulación y se presenta aun con niveles de placa muy bajos.

### **Gingivitis Asociada al Embarazo**

Es la respuesta gingival inflamatoria aumentada por la producción de hormonas durante el embarazo sumado a la presencia de placa, que se presenta generalmente durante el segundo y tercer trimestre del embarazo.

Se manifiesta con alguna frecuencia y no está relacionada con la cantidad de placa, las manifestaciones son las mismas mencionadas anteriormente y desaparece con el parto.

### **Granuloma Piógeno Asociado al Embarazo**

Respuesta inflamatoria exagerada a alguna irritación, se presenta con poca frecuencia (0.5-5%), es una masa gingival localizada, exofítica, protuberante y dolorosa unida al margen gingival o al espacio interproximal por una base sésil o pedunculada, esta respuesta se da como resultado de la concentración de hormonas durante el embarazo y la placa dental. Sangra con facilidad, se

presenta más comúnmente en el maxilar, aparece en cualquier momento del embarazo y desaparece con el parto.

### **Enfermedad Gingival Asociada con el Consumo de Medicamentos**

Respuesta inflamatoria gingival modificada por el consumo de medicamentos y relacionada con los niveles de placa dental.

### **Agrandamientos Gingivales Asociados a Drogas**

El consumo de algunos medicamentos tiene efectos no favorables sobre la configuración estética de la encía, produciendo agrandamientos gingivales. La respuesta está asociada principalmente con el consumo de: 1. Anticonvulsivantes como la fenitoína (en el 50% de los consumidores); 2. Inmunosupresores como Ciclosporina A (en el 25 - 30% de los usuarios); 3. Bloqueadores de los canales de calcio como Nifedipina, Verapamilo, Diltiazem y Valproato de Sodio (en el 20% de los usuarios). Esta respuesta no está asociada directamente con la cantidad de placa presente alrededor de los dientes, pero el control de la higiene oral puede limitar la severidad de la lesión.

#### **Características Clínicas:**

- La respuesta inflamatoria puede variar intrapaciente o interpaciente.
- Predilección por el sector anterior.
- alta prevalencia en niños.
- Aparición dentro de los tres meses siguientes al comienzo del consumo.
- Cambio en el contorno y tamaño gingival.
- El agrandamiento se observa primero en la papila interdental.
- Cambio en el color gingival.
- Incremento del exudado gingival.
- Tejido hemorrágico.
- Se presenta en tejidos con o sin pérdida ósea pero no está asociado a pérdida de inserción periodontal.

### **Gingivitis asociada a anticonceptivos orales**

Es un cambio en la respuesta inflamatoria gingival relacionado al uso de agentes anticonceptivos y placa dental.

Los cambios se han presentado con mayor frecuencia en mujeres premenopáusicas, el proceso desaparece con la disminución de la dosis o la interrupción del consumo. Las características clínicas son similares a las descritas para la enfermedad gingival producida por placa.

## **Enfermedad Gingival Asociada con Enfermedades Sistémicas**

### **Gingivitis asociada con diabetes mellitus**

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que se caracteriza por la alteración en la producción de insulina y el metabolismo de carbohidratos, lípidos, y proteínas relacionadas con el funcionamiento de los vasos sanguíneos.

Se conocen dos tipos de diabetes:

- Tipo 1, diabetes insulino dependiente, que aparece principalmente en la infancia.
- Tipo 2, diabetes no insulino dependiente, que aparece principalmente en la edad adulta.

Las manifestaciones orales son más frecuentes en niños sin control de la enfermedad diabética.

Las características clínicas son las mismas que para gingivitis inducida con placa con la diferencia que la severidad de la enfermedad gingival se limita más con el control de la enfermedad sistémica que con el control mismo de la placa.

### **Gingivitis asociada a leucemia**

Respuesta inflamatoria exagerada a la presencia de placa que se manifiesta con abundante hemorragia y agrandamiento gingival subsecuentes a leucemia. La leucemia es un trastorno hematológico, maligno y progresivo que se caracteriza por la proliferación anormal y desarrollo de leucocitos y precursores de leucocitos en sangre y médula ósea.

Las manifestaciones orales se dan con mayor frecuencia en las formas agudas y son:

- Adenopatías cervicales.
  - Petequias.
  - Úlceras de la mucosa y la encía.
- Inflamación y agrandamiento gingival.
- Hemorragia.
  - Respuesta inflamatoria pronunciada en relación a la placa presente, sin embargo, la placa no es pre-requisito para la formación de lesiones orales.



## **Enfermedad Gingival Asociada a Malnutrición**

### **Gingivitis asociada a la deficiencia de ácido ascórbico**

- Es una entidad poco frecuente, los signos clínicos intraorales son:
- Encía color rojo brillante.
- Inflamación de la encía.
- Presencia de úlceras.
- Susceptibilidad a la hemorragia.
- Lesiones bulbosas.
- Demás características de la enfermedad gingival inducida por placa.

### **Gingivitis asociada a otras deficiencias alimenticias**

Infamación gingival que se presenta como respuesta a la deficiencia de algún nutriente y que se expresa con la exacerbación de la reacción de la encía a las bacterias de la placa. Presentan las mismas características clínicas de la enfermedad gingival inducida por placa.

## **B.Lesiones gingivales no inducidas por placa**

Son todas aquellas lesiones de la encía no provocadas por la placa y las cuales no desaparecen con la remoción de ésta, aunque la severidad de las manifestaciones clínicas a menudo depende de la interacción de la causa con las bacterias presentes en la placa.

Estas lesiones se clasifican así:

### **Lesiones gingivales de origen bacteriano específico**

Son las condiciones inducidas por infecciones con bacterias exógenas diferentes a las comúnmente encontradas en la placa dental. Generalmente se presentan en huéspedes inmunocompetentes e inmunocomprometidos, en los cuales la virulencia de las bacterias llega a ser mayor que el sistema de defensa del huésped.

Las lesiones pueden manifestarse con ulceraciones rojas, edematosas y dolorosas, o como placas mucosas asintomáticas o encías altamente inflamadas atípicas y no ulceradas. Las lesiones orales pueden o no estar acompañadas por lesiones en otras partes del cuerpo.

### **Lesiones gingivales de origen viral**

Son manifestaciones agudas de la mucosa oral a infecciones virales

caracterizadas por:

- Lesiones vesiculares múltiples y enrojecidas que se rompen fácilmente y forman úlceras dolorosas cubiertas de fibrina que afectan la encía y demás superficies mucosas (lengua, paladar y encías).
- Fiebre.
- Malestar general.
- Linfadenopatía regional.

### **Herpes simple**

Usualmente es el que produce manifestaciones orales es el VHS-1, se presenta generalmente en niños.

La primera manifestación de infección con VHS-1 es la Gingivostomatitis Herpética (gingivitis severa y dolorosa que presenta ulceraciones y edema acompañada con estomatitis). Después de la infección primaria el virus puede reactivarse y provocar infecciones recurrentes formando lesiones ulceradas en los labios (20 a 40%). La reactivación puede producirse por fiebre, trauma, exposición a luz U.V. y lleva un curso menos severo que la infección primaria.

### **Varicela zoster**

Este virus produce la varicela que es la primera manifestación autolimitante de la infección. Aparece principalmente en niños y la reactivación del virus en la etapa adulta se conoce como Herpes Zoster.

Una de las principales características de la infección con varicela es el rash cutáneo además de las mismas manifestaciones antes mencionadas para las infecciones con virus.

El virus permanece latente en la raíz dorsal de algún ganglio desde donde puede reactivarse. La reactivación del virus desde el ganglio trigeminal puede producir además de las características antes mencionadas: parestesia, lesiones ulceradas unilaterales. En huéspedes inmunocomprometidos las lesiones pueden ser severas alcanzando destrucción de tejido, pérdida dental, y disminución en la altura del hueso alveolar.

### **Infecciones fúngicas**

Son las manifestaciones gingivales de infecciones de origen fúngico y que están caracterizadas por:

- Lesiones ulcerativas rojas o blancas que afectan la encía asociadas con varias condiciones predisponentes.

## **Candidiásis**

Infección oral producida por *Candida albicans*, que es la especie más común de candida en boca (3-48% de la flora oral).

La infección con *C. albicans* se considera oportunista, presentándose rara vez en individuos sanos, siendo muy común en pacientes inmunocomprometidos. Las infecciones por candida producen eritema de la encía adherida principalmente, pero se manifiesta con diferentes tipos de lesiones:

- Eritema gingival lineal: manifestación gingival de inmunosupresión, caracterizada por bandas eritematosas lineales limitadas al margen gingival.
- Candidiasis pseudomembranosa: se manifiesta como placas blandas que permiten ser fácilmente retiradas de la mucosa, dejando una superficie cruenta y sangrante.
- Candidiásis eritematosa: se manifiesta con lesiones rojas y dolorosas que pueden ubicarse en cualquier parte de la boca.
- Candidiásis tipo placa: formación de placas blanquecinas que no pueden ser removidas de la mucosa, no presenta sintomatología y es clínicamente igual a la leucoplasia.
- Candidiásis nodular: es poco frecuente en boca pero se presenta con la formación de pequeños nódulos color rojizo o blanco, levemente elevados.

El diagnóstico se realiza por medio de cultivo o biopsia.

## **Histoplasmosis**

Enfermedad granulomatosa producida por el *Histoplasma capsulatum*, hongo que se encuentra principalmente en las heces de pájaros y murciélagos.

Manifestaciones clínicas:

- El curso inicial en huésped sano es subclínico.
- Histoplasmosis pulmonar crónica o aguda.

Manifestaciones bucales:

- Lesiones nodulares o papilares que luego se convierten en úlceras dolorosas,

ubicadas en cualquier parte de la mucosa.

- Las lesiones orales algunas veces son de apariencia granulomatosa similar a un tumor maligno.

El diagnóstico se realiza con las manifestaciones clínicas y cultivo histopatológico.

### **Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas desórdenes mucocutáneos**

Las características generales de las manifestaciones orales de las enfermedades mucocutáneas son:

- Lesiones descamativas de apariencia eritematosa, blanca o estriada.
- Erosiones.
- Vesículas.
- Bulas.
- Úlceras dolorosas, cubiertas de fibrina.
- Pápulas.

### **Liquen plano**

Enfermedad mucocutánea que se presenta en el 0.1 - 4% de la población, aunque se puede manifestar en cualquier etapa de la vida es más frecuente en los adultos. Las manifestaciones orales son las mismas arriba enumeradas, con la diferencia de que pueden presentarse todas ellas al tiempo, las pápulas blancas y estriaciones blancas algunas veces forman patrones reticulares lo que es una clave diagnóstica (éstas pueden permanecer asintomáticas). Cuando se forman lesiones tipo placa no se puede distinguir clínicamente de la leucoplasia oral, también pueden permanecer asintomáticas.

En algunos casos en los que no hay claridad en el diagnóstico se han llamado a las manifestaciones orales lesiones orales liquenoides, dado su aspecto. Las más comunes son las lesiones orales en contacto con restauraciones, manifestaciones relacionadas con la ingesta de algunos medicamentos, la apariencia posquirúrgica del tejido injertado y lesiones asociadas a enfermedades sistémicas como la hepatitis C.

### **Penfigoide**

Es una enfermedad en la cual se generan auto-anticuerpos contra los componentes de la membrana basal provocando desprendimiento del tejido epitelial del conectivo adyacente. Se presenta principalmente en mujeres

alrededor de los 50 años.

Hay tres tipos de penfigoide que pueden manifestarse en la boca:

- Penfigoide buloso: afecta principalmente la piel pero también puede tener manifestaciones orales.
- Penfigoide benigno de la membrana mucosa: se denomina así cuando únicamente las membranas mucosas están afectadas, el primer sitio de manifestación es la boca comenzando con lesiones descamativas gingivales que pueden dar paso a la formación de bulas.
- Penfigoide cicatrizal, enfermedad bulosa subepitelial limitada a boca y ojos, las lesiones oculares pueden provocar ceguera.

Las características son las mismas mencionadas anteriormente pero las bulas pueden ser claras o amarillentas o pueden estar hemorrágicas, el rompimiento de las bulas permite la formación de úlceras cubiertas por fibrina.

### **Pénfigo vulgar**

Enfermedad autoinmune de predisposición genética, caracterizada por la formación de bulas intraepiteliales en piel y membranas mucosas las cuales pueden ser de gran extensión poniendo en peligro la vida. Las manifestaciones clínicas orales son las mismas mencionadas anteriormente, las úlceras sanan lentamente sin formación de escaras pero la enfermedad sigue un curso crónico con recurrencia en la formación de bulas.

### **Eritema multiforme**

Enfermedad vesiculobulosa aguda que afecta las membranas mucosas y la piel, se puede presentar en cualquier edad pero afecta principalmente a personas jóvenes. Compromete la mucosa oral en 25 a 60% de los casos, siendo algunas veces la única parte afectada. Se conocen dos formas de enfermedad:

- Forma moderada con compromiso moderado de las estructuras.
- Forma mayor con amplio compromiso de membranas mucosas y piel (Síndrome de Stevens-Jhoson).

Las principales características clínicas son:

- Inflamación de los labios.
- Formación de bulas que se rompen y forman úlceras, pueden presentarse en encía y mucosa bucal.
- Las lesiones en piel son bulas rodeadas por un halo blanco y zona eritematosa externa.
- Las lesiones sanan pero presentan recurrencia.

- Autolimitante.

## **Lupus eritematoso**

Enfermedad autoinmune del tejido conectivo en la cual se forman auto-anticuerpos contra varios componentes celulares. Se presenta en el 0.05% de la población.

Se conocen dos formas de la enfermedad:

- Lupus eritematoso discoide: forma crónica suave que compromete piel, membranas mucosas, algunas veces encía y otras partes de la mucosa oral.
- Lupus eritematoso sistémico: presenta lesiones ulceradas principalmente, una de las características más importantes es la presencia de lesiones en forma de mariposa ubicadas en la piel de la cara, formando un área fotosensible con máculas eritematosas en el puente de la nariz y las mejillas.
- La lesión típica es un área central atrófica con pequeños puntos blancos adyacentes, irradiando estrías blancas y periferia de telangiectasia. Algunas veces las lesiones pueden ser ulceradas o clínicamente idénticas a leucoplasia o liquen plano atrófico.

## **Reacciones alérgicas**

Son manifestaciones gingivales de respuestas de hipersensibilidad inmediata (respuesta mediada por IgE) o retardada (respuesta mediada por célula T). Este tipo de reacciones son poco comunes en la cavidad oral.

### **Alergia a materiales dentales restaurativos**

Es una respuesta alérgica tipo IV, que se caracteriza por la aparición de las manifestaciones de 12 a 48 horas después del contacto con el alérgeno, pero para que la reacción se lleve a cabo debe haber contacto previo con el material lo que produce sensibilización del huésped.

Estas lesiones se caracterizan por:

- Algunas veces son parecidas a las lesiones producidas por liquen plano o leucoplasia.
- Lesiones rojas o blancas algunas veces ulceradas vecinas o en contacto con el material.
- Desaparecen con la remoción del material causante.

### **Alergia a cremas dentales y enjuagues bucales**

Es una respuesta alérgica por contacto, relacionada a la presencia de saborizantes y preservativos, similares a los usados en la goma de mascar. Las características son:

- Gingivitis edematosa algunas veces con ulceraciones o lesiones blancas.
- La encía se torna muy roja.
- Lesiones ubicadas en la mucosa labial, bucal o lingual.
- Algunas veces puede haber queilitis.
- Desaparecen al abandonar el uso del alergen.

### **Alergias alimenticias**

Las alergias de tipo alimenticio presentan reacciones de hipersensibilidad Tipo I y IV.

Las características comunes a estas reacciones son:

- Inflamación severa.
- Gingivitis.
- Gingivoestomatitis.

### **Lesiones traumáticas**

Estas lesiones son autoinfrijidas, accidentales o iatrogénicas.

Pueden presentar:

- Resecciones gingivales localizadas.
- Abrasiones, ulceraciones y quemaduras localizadas.
- Edematosas.
- Eritematosas o blancas.

### **Lesiones gingivales inducidas por químicos**

Las reacciones gingivales tóxicas se deben a daño de los tejidos con sustancias tóxicas externas.

Ejemplos de estas reacciones son:

- Descamación de las mucosas por el uso de Clorhexidina.
- Erosión de mucosas por el uso de algunos dentríficos.
- Inflamación y necrosis gingival por el uso de formaldehído.

### **Lesiones físicas**

Estas lesiones traumáticas pueden ser accidentales o resultado de procedimientos de higiene oral inapropiados, restauraciones dentales inadecuadas, aparatos dentales mal diseñados incluyendo aparatología y

bandas ortodóncicas. Se caracteriza por:

- Laceraciones gingivales superficiales.
- Resección gingival.
  
- Abrasión de los cuellos dentales.
- Inflamación de las papilas dentales.

### **Trauma térmico**

Las quemaduras se encuentran con mayor frecuencia en la mucosa labial y palatina y algunas veces en la encía. El área es dolorosa, roja, pueden haber restos de tejido muerto, vesículas, petequias o erosiones.

### **Reacciones a cuerpo extraño**

Estas lesiones pueden presentarse como inflamaciones gingivales crónicas o agudas asociadas con cuerpos extraños. En algunos casos los cuerpos extraños pueden producir tatuajes. Las lesiones pueden ser supurativas y de color blanco o rojo.

## **8.2.2. Enfermedades Periodontales**

### **I. Periodontitis crónica**

La periodontitis es una entidad infecciosa crónica que produce inflamación en los tejidos de soporte dental, en cuya progresión produce pérdida de inserción periodontal debido a la destrucción del ligamento periodontal y disminución en la altura de la cresta ósea. Como lo muestra la clasificación, esta enfermedad se presenta en dos formas de acuerdo a la extensión, mostrando idénticas características:

#### **a. Periodontitis localizada**

Periodontitis en la cual solo máximo el 30% de las superficies dentales está afectada.

#### **b. Periodontitis generalizada**

Cuando el número de superficies dentales afectadas supera el 30%.

Además se pueden considerar tres categorías de severidad:

- Leve: se ha perdido 1-2 mm de inserción.
- Moderada: se han perdido 3-4 mm de inserción.



- Severa: cuando se han perdido 5 mm o más de inserción.

Características:

- Pérdida clínica de inserción.
- Pérdida de hueso alveolar.
- Presencia de bolsas periodontales.
- Inflamación gingival (edema, eritema, aumento de la temperatura del surco).
- Hemorragia a la presión.
- Movilidad dental, que puede llevar a exfoliación.
- Es más frecuente en adultos pero puede presentarse también en jóvenes y niños.
- La severidad de la enfermedad está directamente relacionada con la presencia de factores locales o factores locales predisponentes.
- Presencia de cálculos subgingivales.
- Asociado con un patrón microbiológico variable (*Porfiromona gingivalis*, *A. actinomicetecomitans*, *Bacteroides forsitus*, *Prevotella intermedia*, *Campilobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Treponema denticola*, *Streptococcus*, *Prevotella nigrecens*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, Espiroquetas).

Patrón de progresión lento a moderado, pero puede presentar períodos de progresión rápida.

Puede estar modificada o asociada con enfermedades sistémicas.

Puede estar asociada con otros factores como el estrés y consumo de cigarrillo.

La periodontitis recurrente es el retorno de la enfermedad al periodonto y no se clasifica como una entidad separada, de la misma manera que la enfermedad que no responde positivamente a los tratamientos y conocida como periodontitis refractaria, no se separa de la definición de periodontitis crónica.

## **II. Periodontitis agresiva**

La periodontitis agresiva es un tipo específico de periodontitis con características clínicas claramente diferentes de la periodontitis crónica. Estas entidades pueden o no estar, relacionadas con algunos desórdenes sistémicos que afectan la encía y guían a la pérdida dental, en cualquiera de las dos denticiones. El grado de destrucción periodontal puede estar relacionado con la virulencia bacteriana de la flora asociada y la susceptibilidad del huésped. En varios estudios bacteriológicos se han encontrado organismos Gram-Negativos en alto porcentaje. Los microorganismos más frecuentemente encontrados son:

*Actinomyces actinomycetecomitans*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*, bacilos anaeróbicos como *Campilobacter rectus* y Gram positivos como estreptococo, actinomices y peptoestreptoco, siendo el microorganismo más relevante el *A. actinomycetecomitans* ya que se ha reportado en el 90% de los

casos y se ha notado mayor respuesta al tratamiento cuando se controlan los niveles de esta bacteria, aunque la respuesta a la presencia de este patógeno puede variar de acuerdo a la susceptibilidad y además se ha encontrado un patrón de respuesta, étnico. Se ha hecho énfasis en la susceptibilidad del huésped debido a la relación desproporcionada entre la severidad de la destrucción periodontal y la cantidad de depósitos bacterianos, se han encontrado en algunos pacientes, quienes han desarrollado la enfermedad, que hay alteración en las funciones migratorias y antibacteriana de los leucocitos PMN, las anomalías de los PMN pueden ser resultado de un estado hiperinflamatorio, causado por la presencia de citocinas pro inflamatorias en el suero. Las respuestas inflamatorias locales se caracterizan por altos niveles de mediadores inflamatorios como PgE2, IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , posteriormente se ha sugerido que la alteración de los PMN sea de carácter genético. A este respecto se han realizado varios estudios ninguno concluyente, cuyos resultados muestran alta heterogeneidad en cuanto a los factores de susceptibilidad genética de la enfermedad. Se ha notado un patrón de distribución familiar, la cantidad de miembros de una misma familia afectados puede llegar a ser del 40-50%, que es la mayor sugerencia del patrón genético de la enfermedad, y análisis de segregación manifiestan un patrón autosómico dominante, también se han encontrado variaciones alélicas en el receptor Fc de la Ig G2 que disminuye la capacidad de respuesta ante el *A. actinomycetecomitans*.

Factores medioambientales como el cigarrillo, pueden modificar la capacidad de respuesta del huésped, se ha encontrado disminución en la producción de IgG2 en pacientes fumadores, también se ha visto asociado con el incremento de la extensión y severidad de las lesiones. En general la susceptibilidad a la enfermedad puede ser dada por factores endógenos y exógenos.

Una de las claves para determinar la enfermedad es la falta de respuesta a un tratamiento adecuado.

La periodontitis agresiva se subclasifica igual que la periodontitis crónica según la extensión de la enfermedad en generalizada y localizada.

Las características de la enfermedad no necesariamente deben presentarse todas para poder diagnosticar la patología, los hallazgos comunes de los dos tipos de enfermedad son:

- Los pacientes están clínicamente sanos, de no ser por la presencia de periodontitis.
- Enfermedad periodontal severa y de rápida progresión (pérdida ósea severa y

pérdida de adhesión).

- Agregación familiar.

Características secundarias:

- Cantidad de depósitos bacterianos no consistentes con la severidad de la enfermedad.
- Elevada cantidad de *A. actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.
- Anormalidades fagocíticas.
- La progresión de la enfermedad representada en la pérdida ósea y pérdida de adhesión, puede ser autodetenida.
- Fenotipo hiper-responsivo de macrófago, incluyendo elevados niveles de PGE2 e IL-1 $\beta$ .

A. Periodontitis agresiva localizada

Aparte de las características anteriores puede presentar:

- Aparición circumpubertal.
- Gran respuesta de anticuerpos séricos a agentes infecciosos.

Presentación localizada en los primeros molares y los incisivos (pérdida de unión interproximal).

Periodontitis agresiva generalizada

Presenta las mismas características arriba mencionadas y:

- Aparece cerca de los 30 años pero puede presentarse en personas mayores.
- Pobre respuesta de anticuerpos séricos a agentes infecciosos.
- Pérdida de unión interproximal y de altura de la cresta ósea generalizada que afecta por lo menos tres dientes diferentes a los primeros molares y los incisivos.

### **III. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas**

La placa dental es el factor iniciador de la enfermedad periodontal, sin embargo, la severidad y extensión de la enfermedad dependen de las respuestas del huésped a la agresión bacteriana. Esta clase de enfermedad periodontal contiene una lista de enfermedades sistémicas en las cuales la periodontitis es una manifestación frecuente, ya que su curso altera en la mayoría de los casos el sistema inmune e inflamatorio. Los factores sistémicos modifican las formas de presentación de la enfermedad principalmente a través de sus efectos sobre el sistema inmune e inflamatorio.

La siguiente es la clasificación de la enfermedad periodontal como manifestación de enfermedades sistémicas

#### **IV. Periodontitis asociada a desórdenes hematológicos**

**NEUTROPENIA:** Los pacientes con neutropenia maligna presentan ulceración y necrosis del margen gingival, presencia de sangrado, en ocasiones se asocia con pérdida de inserción periodontal.

**LEUCEMIAS:** La forma aguda de la enfermedad presenta manifestaciones periodontales con mayor frecuencia que la forma crónica, pero las manifestaciones son similares en ambas condiciones. Se presenta agrandamiento gingival, hemorragia gingival que también puede ser manifestación de trombocitopenia.

**OTROS:** Los desórdenes de las células rojas, plaquetas y alteraciones de la coagulación pueden influenciar el manejo de la enfermedad periodontal pero no hay evidencia de que estas condiciones incrementen la susceptibilidad a la enfermedad periodontal.

Periodontitis asociada a desórdenes genéticos

**NEUTROPENIA FAMILIAR Y CICLICA:** Las lesiones presentes en estas entidades son mucho más agresivas que las manifestaciones de la neutropenia maligna relacionándose con: bolsas periodontales profundas y extensas, pérdida de hueso generalizada, también asociada a la dentición permanente. En la neutropenia familiar no todos los individuos manifiestan la enfermedad.

**SÍNDROME DE DOWN:** Comparado con otras entidades similares la severidad de la enfermedad periodontal en individuos con Síndrome de Down es muy alta. La enfermedad periodontal está caracterizada por una periodontitis temprana generalizada, que comienza con la dentición decidua y termina con la dentición adulta, la progresión de la enfermedad es muy rápida. Los sitios más frecuentes de destrucción periodontal son alrededor de los incisivos y molares. Las raíces de los incisivos inferiores son cortas lo que facilita la pérdida prematura de estos dientes.

**SÍNDROMES DE DEFICIENCIA DE ADHESIÓN LEUCOCITARIA:** Enfermedad de origen autosómico recesivo, que altera el número de receptores superficiales de los neutrófilos incrementando la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. La enfermedad manifiesta enfermedad periodontal inflamatoria severa.

**SÍNDROME DE PAPILLON-LEFEVRE:** Enfermedad hereditaria autosómica

recesiva que se manifiesta con lesiones hiperqueratósicas en la piel, asociada con periodontitis generalizada, la que ocurre comúnmente antes de la pubertad con pérdida de los dientes deciduos y permanentes, los dientes se pierden en el orden de erupción.

**SÍNDROME CHEDIAK-HIGASHI:** Enfermedad de origen hereditario autosómica recesiva caracterizada por la alteración en la función quimiotáctica y bactericida de los neutrófilos, asociada con periodontitis severa.

**HISTICITOSIS:** Enfermedad que puede presentarse en cualquier etapa de la vida, se caracteriza por la presencia de úlceras necróticas, con gran cantidad de tejido de granulación y gran pérdida ósea, las lesiones pueden ser muy parecidas a periodontitis ulceronecrotizante. Se diagnóstica con biopsia y estudios hematológicos e inmunológicos.

**ENFERMEDAD DE ACUMULACIÓN DE GLICÓGENO:** Condición autosómica recesiva en la que hay alteración en el metabolismo de los carbohidratos, asociado con disminución del conteo de neutrófilos y enfermedad periodontal.

**AGRANULOCITOSIS GENÉTICA INFANTIL:** Desorden autosómico recesivo, caracterizado por neutropenia severa, asociado a enfermedad periodontal similar a periodontitis agresiva.

**SÍNDROME DE COHEN:** Enfermedad autosómica recesiva caracterizada por retraso psico-motor, obesidad, dismorfia y neutropenia, asociada a extensa pérdida de hueso alveolar.

**SÍNDROME DE EHLERS-DANLOS:** Enfermedad de carácter hereditaria autosómica dominante, del tejido conectivo caracterizada por alteración en la síntesis de colágeno, que afecta principalmente las articulaciones y la piel. Los tipos IV y VIII están asociados con fragilidad de la mucosa oral y vasos sanguíneos y periodontitis generalizada de características similares a la periodontitis agresiva, con pérdida prematura de los dientes.

**HIPOFOSFATASIA:** Entidad relacionada con la disminución de la fosfatasa alcalina sérica y pérdida severa de hueso alveolar, lo que lleva a pérdida prematura de los dientes, principalmente anteriores.

Además de las enfermedades anteriormente mencionadas hay factores sistémicos que modifican o predisponen la presentación de la enfermedad, tales como la Diabetes Mellitus que modifica significativamente todas las formas de periodontitis cuando ésta no es controlada.

Muchas drogas como fenitoína, nifedipina y ciclosporina producen crecimiento gingival y pueden modificar una enfermedad periodontal preexistente.

Las alteraciones hormonales que están asociadas a inflamación gingival en presencia de placa puede en huéspedes susceptibles presentar pérdida periodontal.

Pacientes inmunosuprimidos por terapia o por enfermedad también tienen alta predisposición a desarrollar enfermedad periodontal.

Personas fumadoras alteran el sistema de respuesta a agentes inflamatorios por lo que también son fácilmente atacados por la enfermedad.

El estrés y otras condiciones sicosomáticas tienen efecto antiinmune directo o indirecto sobre el sistema de defensa.

## **V. Enfermedad periodontal necrotizante**

La enfermedad periodontal necrotizante agrupa las dos entidades arriba mencionadas, ya que podrían ser estados diferentes de la misma enfermedad infecciosa y parecen estar relacionadas con una respuesta inmunológica disminuida a la infección bacteriana de los tejidos periodontales, además de que no comparten características etiológicas e histológicas con la periodontitis o la gingivitis. La única diferencia entre las dos entidades está dada por la extensión de la enfermedad, como ya se explicará más adelante.

Las características comunes a ambas entidades son:

- Necrosis gingival.
- Algunas veces la encía ulcerada se recubre con una pseudomembrana blanco-amarillenta o grisácea.
- Pérdida de tejido.
- Hemorragia espontánea.
- Halitosis.
- Dolor.
- Linfadenopatía.
- Fiebre.
- Malestar.

Puede estar asociada a:

- Estados de estrés psicológico.
- Inmunosupresión.
- Malnutrición.

### **A. Gingivitis ulceronecrotizante**

Es una enfermedad de aparición y progresión rápida que se manifiesta con intenso dolor gingival, necrosis de la papila interdental, pérdida de tejido, hemorragia a la estimulación o espontánea. Esta entidad cede después de

pocos días estabilizando los tejidos y algunas veces regenerando la papila y demás tejidos interdientales afectados; desaparece posterior al tratamiento que consiste en controlar la placa bacteriana, retirar los agentes infecciosos como los cálculos y tratamiento con antibióticos orales y enjuagues; generalmente presenta recidivas.

El desarrollo de la enfermedad es de origen bacteriano relacionado con bacterias fusiformes, *prevotella intermedia* y espiroquetas.

Los factores predisponentes a la enfermedad son aquellos que estimulan la actividad del eje adreno-pituitario-hipotalámico cuya activación genera inmunosupresión como se presume que sucede en personas fumadoras, mal nutridas, estresadas, o inmunosuprimidas como los pacientes VIH+; estas condiciones unidas a un alto nivel de placa o trauma dental puede aumentar la predisposición al desarrollo de la enfermedad, aunque la cantidad de placa no está directamente relacionada con la severidad de la enfermedad.

#### B. Periodontitis ulceronecrotizante

Enfermedad de aparición ocasional pero de alta severidad y rápida progresión que produce eritema y necrosis de la encía libre, encía adherida y mucosa alveolar, además de necrosis del ligamento periodontal y hueso alveolar. Presenta las mismas características clínicas que mencionamos arriba y que son comunes a la gingivitis ulceronecrotizante, la diferencia es que ésta presenta extensión a los tejidos de soporte dental. Aunque la enfermedad sea severa y agresiva no está relacionada con aumento en la profundidad de las bolsas periodontales. Puede haber recaídas en la enfermedad pero esto no significa que la enfermedad sea resistente al tratamiento.

### VI. Absceso periodontal

Son infecciones periodontales localizadas de origen bacteriano, de carácter purulento que pueden ser una característica clínica en pacientes que presentan enfermedad periodontal crónica moderada o severa, su aparición se da en pacientes sin tratamiento con él o incluso en quienes están en curso de tratamiento y pueden ser de corta o larga duración. El diagnóstico está de acuerdo a la localización de la enfermedad infecciosa.

La aparición de los abscesos está relacionada con la carga bacteriana, la microbiología de estas infecciones es muy similar a la de la enfermedad periodontal. A pesar de lo anterior hay factores que pueden aumentar la posibilidad de inicio del absceso como: cierre u oclusión de la bolsa periodontal, compromiso de furca, tratamiento sistémico con antibióticos, diabetes, trauma dental, perforaciones endodónticas laterales y anomalías dentales anatómicas.

El curso de la enfermedad está asociado con:

- Dolor.
- Inflamación.
- Cambio de color.
- Movilidad dental.
- Extrusión.
  
- Purulencia.
- Formación de tractos Sinuosos.
- Fiebre.
- Linfadenopatía.
- Radiolucidez que afecta el hueso alveolar.

#### A. Absceso gingival

Infección purulenta localizada de expansión rápida que afecta el margen gingival o la papila interdental, puede llegar a involucrar zonas previamente sanas. Es una respuesta tisular aguda en la que la encía marginal y papila suelen estar inflamadas, la superficie se torna brillante, roja y suave, después de 24 ó 48 horas la lesión cambia a fluctuante y punteada con un orificio que permita la salida del material purulento, en ocasiones puede producir sensibilidad pulpar. El principal objetivo del tratamiento es eliminar los signos y síntomas agudos lo más pronto posible.

#### B. Absceso periodontal

Infección purulenta localizada dentro de los tejidos adyacentes a la bolsa periodontal que pueden llevar a la destrucción del ligamento y del hueso alveolar. En su avance produce destrucción de las uniones colágenas, permitiendo la formación de bolsas tortuosas y defectos intraóseos, algunas veces compromete la furca de los dientes multiradiculares. El absceso periodontal puede tener una presentación aguda caracterizada por elevación ovoide de la encía a lo largo de la raíz afectada, la encía adquiere apariencia edematosa, roja con superficie suave y brillante. El material purulento sale por el surco al ejercer presión. Los síntomas pueden ser variados y van desde leve molestia e inflamación y dolor severos, además de presentar sensación de presión en la encía. La presentación crónica se caracteriza por desarrollarse durante un largo período de tiempo durante el cual la presencia de pus es intermitente. Usualmente es asintomático presentándose dolor muy leve y sensación de extrusión. El objetivo del tratamiento es aliviar los signos y síntomas, se debe establecer un drenaje y desbridar la placa, cálculos y demás irritantes de la bolsa. Debe complementarse con irrigación de la bolsa, ajuste oclusal limitado y terapia antimicrobiana. De acuerdo al nivel de destrucción periodontal y de las condiciones del paciente se pueden considerar la terapia quirúrgica o la exodoncia.

#### C. Absceso pericoronar



Infección purulenta localizada dentro de los tejidos que rodean la corona de un diente parcialmente erupcionado. Usualmente se presenta en el área de los terceros molares. La aleta de la encía que cubre el diente se torna roja e inflamada, la infección se puede extender a orofaringe y base de la lengua e involucrar nódulos linfáticos. El paciente presenta dificultad para tragar y trismus, esta infección está asociada principalmente a bacterias anaerobias Gram-negativas. El tratamiento está dirigido a aliviar prontamente los signos y síntomas de la infección por tanto se debe irrigar y desbridar la superficie interna de la encía pericoronar y se debe dar terapia antibiótica y recontornear el tejido. De acuerdo a las necesidades del paciente se debe considerar la extracción del diente en cuestión y/o su opuesto.

## VII. Periodontitis asociada con lesiones endodónticas

### A. Lesiones combinadas endoperiodontales

Se encuentran dentro de este grupo aquellas infecciones que pueden tener origen endodóntico primario y que llegan a ligamento periodontal a través del foramen apical o de los canales laterales o accesorios o lo contrario cuando una lesión de origen periodontal migra apicalmente y llega a la pulpa a través de las mismas vías, esta coalescencia de lesiones se denomina **Lesiones Combinadas Endo-Periodontales**, la clasificación no se basa en la etiología inicial de la enfermedad, las lesiones pueden ser causa una de otra o ambas se pudieron haber desarrollado independientemente; lesiones de este tipo también pueden presentarse cuando hay una fractura radicular, caso en el cual la entidad no desaparece al llevar a cabo el tratamiento endodóntico. En el caso contrario cuando la causa principal de la enfermedad es endodóntica la infección desaparece con el tratamiento. Los signos y síntomas son:

- Aumento de la profundidad de la bolsa adyacente a la superficie radicular.
- Mucosa gingival inflamada, suave y brillante.
- Hemorragia al sondeo.
- Presencia de fístula y supuración.
- Sensibilidad a la percusión.
- Aumento en la movilidad dental.
- Pérdida ósea angular.
- Dolor.
- Puede haber inflamación facial y celulitis.

El origen de la infección es polimicrobiano en el que se encuentran: Fusobacterias, Prevotellas, Porfiromonas, Peptoestreptococo, Estreptococos y Espiroquetas, en el caso de infecciones agudas.

En caso de agudización de un proceso crónico se encuentran principalmente bacterias anaerobias como *Porphyromonas gingivalis* y *Porphyromonas*

*endodontalis*. En caso de infección de origen pulpar se presentan Bacterias Negro Pigmentadas.

Un absceso periodontal puede llegar a formarse en periodontos sanos posterior a una terapia endodóntica en la que ha habido perforación radicular, caso en el cual se presenta formación de bolsa, supuración por el surco y pérdida de adherencia fibrosa.

Las fracturas radiculares se presentan generalmente en dientes tratados endodónticamente o en oclusión traumática y también son causa de formación de lesiones en las cuales se presenta dolor a la masticación, sensibilidad térmica, inflamación gingival y formación de tractos sinuosos.

El diagnóstico de estas lesiones es más difícil si no se dispone de una historia clínica completa, que contenga un monitoreo continuo del paciente, ya que las características radiográficas de la enfermedad de cualquiera de los orígenes es muy similar. Es importante realizar pruebas de vitalidad pulpar pero debe tenerse cuidado en dientes multirradiculares ya que puede haber necrosis parcial de la pulpa y se obtendrán resultados positivos, en una posible lesión combinada, se sugiere hacer el test cavitario pero éste tampoco es muy seguro.

### **VIII. Condiciones o deformidades del desarrollo o adquiridas**

A. Factores localizados relacionados a los dientes que modifican o predisponen a la enfermedad gingival inducida por placa o a periodontitis

Varias condiciones existen alrededor de los dientes que pueden predisponer y modificar el curso de la enfermedad periodontal. Estas situaciones pueden ocurrir como resultado de la condición o posición de los dientes es producido por un tratamiento dental. Estos factores relacionados a los dientes contribuyen al desarrollo de la enfermedad periodontal, pueden aumentar la acumulación bacteriana o permitir el ingreso de bacterias dentro del periodonto, pueden producir problemas localizados que requieren tratamiento; en un periodonto que de no ser por esta condición sería sano.

Estas condiciones se clasifican así:

#### **Factores anatómicos dentales**

Proyecciones cervicales del esmalte

Son depósitos ectópicos de esmalte apicales a la línea amelocementaria, estas proyecciones son planas y pueden llegar hasta el área de la furca. Usualmente tienen forma triangular o en llama. Esta característica está relacionada con el compromiso de la furca en la enfermedad periodontal ya que la presencia de

esmalte en esta área impide la adhesión de tejido conectivo lo que permite que haya daño del periodonto adyacente.

## PERLAS DEL ESMALTE

Depósitos ectópicos de esmalte alargados y de forma esferoidal que también pueden localizarse en la furca o en otras superficies radiculares de los molares. Por la misma razón que las proyecciones del esmalte estas perlas están asociadas al desarrollo de la enfermedad periodontal.

## POSICIÓN DENTAL

La posición o inclinación de los dientes pueden ser factores que predisponen a la inflamación periodontal ya que permiten la acumulación y empaquetamiento de placa, en pacientes en los que no hay o no se puede mantener un buen estado de higiene oral, se ve con mayor frecuencia que se desarrolla inflamación en pacientes menores en los que hay mal posición dental o apiñamiento. Se ha encontrado relación entre la pérdida de tejido periodontal y la inclinación dental tras un lugar edéntulo, la parte mesial del diente inclinado se hace difícil de limpiar lo que conlleva a la pérdida de tejido. Los dientes posicionados hacia vestibular del arco dental tienen mayor probabilidad de tener retracción gingival, ya que los dientes inclinados pueden tener menor cantidad de lámina ósea lo que los hace más sensibles al trauma o a la acumulación de placa.

## PROXIMIDAD RADICULAR

La proximidad es un gran factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad periodontal ya que puede presentar un impedimento para la remoción de placa, lo que obviamente aumenta la sensibilidad a la inflamación, debido a que la cantidad de tejido conectivo y óseo es reducido en estas áreas.

## CONTACTOS ABIERTOS

El contacto interproximal permite la remoción de la comida del espacio interdental, cuando el contacto no existe o hay un espacio entre los dientes hay impactación de comida interproximalmente. Los factores etiológicos para que los contactos abiertos existan son: desgaste oclusal, pérdida de hueso interproximal y pérdida de adhesión, sobre erupción dental, anomalías dentales y falta de contacto interproximal entre las restauraciones dentales.

## ESTRÍAS RADICULARES

Las estrías palatogingivales son anomalías del desarrollo. Estos defectos

comienzan cerca de la corona y se extienden apicalmente a varias distancias y direcciones. Se encuentran principalmente en el área de los centrales. Este defecto impide la remoción de la placa y permite a los microorganismos tener acceso al área subgingival, por tanto están asociadas al desarrollo de enfermedad, periodontal, pérdida de hueso y pérdida de adhesión.

### **Restauraciones y aparatos dentales**

Las restauraciones sobrecontorneadas o que atraviesan el margen gingival como onlays, coronas, bandas ortodónticas... etc. pueden influenciar negativamente la salud de los tejidos gingivales adyacentes, si estas restauraciones violan el ancho biológico producen una respuesta inflamatoria que termina en pérdida ósea y adhesión de tejido conectivo además de migración epitelial apical.

### **Fracturas radiculares**

Las fracturas radiculares pueden ser causadas por carga oclusal, por procedimientos restaurativos como postes u obturaciones del conducto radicular las fracturas radiculares pueden producir alteración periodontal, éstas pueden involucrar toda la longitud de la raíz o alguna porción a través de ésta.

### **Reabsorción radicular y lágrimas de cemento**

Las áreas de cemento radicular que se desprenden total o parcialmente posterior a una fractura se denominan lágrimas de cemento, la lesión periodontal que se desarrolla es el resultado del crecimiento de las bacterias de la cavidad oral o del surco dentro de la porción cervical de la línea de fractura o lágrima de cemento lo que genera daño periodontal. La reabsorción externa de las raíces tiene un alto potencial de daño periodontal sobre todo si están localizadas en un aspecto coronal de la raíz. Esto permite la comunicación entre la cavidad oral y el área de reabsorción, lo que produce inflamación y destrucción periodontal.

#### **A. Deformidades y condiciones mucogingivales adyacentes a los dientes**

El término mucogingival describe la porción de la mucosa oral que cubre el proceso alveolar incluyendo la encía y la mucosa alveolar adyacente por tanto esta parte de la clasificación se refiere a las desviaciones de la morfología y la dimensión normal de la encía y la mucosa alveolar. La anomalía puede estar asociada con una deformidad del hueso alveolar. Las deformidades mucogingivales se clasifican de acuerdo a criterios clínicos y morfológicos y pueden ser localizados o generalizados.

#### **B. Condiciones y deformidades mucogingivales en rebordes edéntulos**

Las condiciones mucogingivales más comunes son recesión, ausencia o

reducción de la encía queratinizada y profundidad de sondeo más allá de la unión mucogingival. Las variaciones anatómicas pueden complicar el manejo de estas condiciones incluyendo la posición dental, inserción del frenillo y profundidad vestibular. Las variaciones del reborde pueden estar asociadas con las alteraciones mucogingivales.

### C. Trauma oclusal

Se define como trauma oclusal las lesiones del aparato de unión a la carga oclusal excesiva; cuando esta supera la capacidad adaptativa reparativa del complejo periodontal. Las lesiones de trauma de la oclusión pueden ocurrir independientes o unidas a la enfermedad periodontal inflamatoria, aunque la influencia del trauma oclusal sobre los niveles de unión permanece en controversia. El trauma oclusal se subclasifica en: Trauma Oclusal Primario y Trauma Oclusal Secundario.

Características Clínicas y Radiográficas del Trauma Oclusal:

- Movilidad progresiva.
- Fremitus.
- Contactos oclusales prematuros.
- Facetas de desgaste en presencia de otros indicadores clínicos.
- Migración dental.
- Dientes fracturados.
- Sensibilidad térmica.
- Espacio aumentado del ligamento periodontal
- Pérdida ósea (en la furca o la cresta, en forma vertical o circunferencial).
- Reabsorción radicular.

1. Trauma Oclusal Primario: son los cambios en el tejido como resultado de la agresión de las fuerzas oclusales excesivas aplicadas sobre los dientes con periodonto normal. Esto ocurre en la presencia de: niveles óseos normales, niveles de adherencia normales y fuerzas oclusales excesivas.

2. Trauma Oclusal Secundario: cambios tisulares en respuesta a la agresión de fuerzas oclusales excesivas o normales sobre un diente con soporte periodontal reducido. Esta enfermedad se presenta bajo las siguientes condiciones: pérdida de hueso, pérdida de adherencia, fuerzas oclusales normales o excesivas (13).

### **8.3 Patogenia de la Enfermedad Periodontal.**

Los conceptos actuales sobre etiología y patogenia de la enfermedad periodontal derivan de los resultados de los estudios epidemiológicos, análisis de material de autopsia, experiencia clínicas y experimentación en animales. Tomados en conjunto, los datos de las investigaciones indican con claridad que la mayoría de las formas de enfermedad periodontal son trastornos asociados a la placa. Mas aún, hay razones para suponer que la mayoría, si no todos, los trastornos periodontales con placa se inician con una inflamación manifiesta de la encía. No tratada, la lesión se puede extender en sentido apical y terminar en pérdida de inserción del tejido conectivo y hueso alveolar de sostén (5).

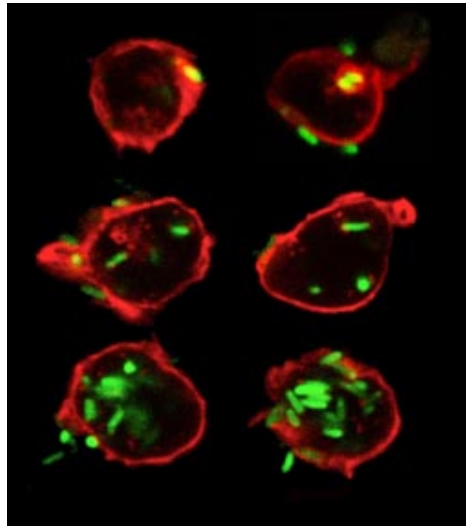
La acumulación de la placa microbiana en la superficie dentaria adyacente a los tejidos gingivales pone a las células epiteliales sulculares bucales y de inserción en contacto con los productos de desecho, enzimas y componentes superficiales de las bacterias colonizantes. Al aumentar la carga bacteriana, aumenta la irritación de los tejidos del hospedero por estas sustancias. Las sustancias microbianas estimulan a las células epiteliales para que produzcan citocinas proinflamatorias y otros mediadores químicos de la inflamación. Estos mediadores inician en el seno de los tejidos una respuesta inflamatoria que corresponde a la respuesta inflamatoria clásica. Se produce una tumefacción de los tejidos al acumular líquido y se genera la gingivitis clínica. En las primeras etapas, los neutrófilos PMN predominan debido a la movilidad y flexibilidad de estas células y a los efectos de las moléculas de adhesión sobre los vasos sanguíneos a los que preferentemente se unen los PMN en las etapas iniciales de la inflamación. Además se genera un gradiente quimiotáctico desde el surco hacia el tejido conectivo, y de esa forma, los PMN son atraídos hacia el surco gingival. Los factores quimiotácticos son proteínas y péptidos como la muy potente formil metionil leucil fenilalanina (FMLP) y factores quimiotácticos del huésped, como las quimioquinas (IL-8), moléculas producidas por neutrófilos, como leucotrieno B4 y moléculas derivadas del desencadenamiento del sistema del complemento. (C5a) (5).

De esta manera, los PMN son atraídos a la zona junto con otros leucocitos, como monocitos, macrófagos y linfocitos. Los macrófagos son probablemente el único tipo de célula aparte del neutrófilo que tiene una función útil en la surco, es decir, que pueden fagocitar PMN muertos y agonizantes y así retirarlos de la zona. Esto es muy útil para el hospedero, pues los PMN agonizantes o sobreactivados son capaces de degranular, es decir, liberar sus enzimas de

manera descontrolada, con lo cual causan mas daño e irritación a los tejidos del hospedero y una exacerbación posterior de la inflamación. Por lo tanto, la función de limpieza del macrófago es útil para bajar la inflamación. La otra función principal de esta célula, es decir, el papel de presentación del antígeno, no es operativa en el surco puesto que no puede regresar a los tejidos y

linfáticos del hospedero, donde completaría esa función. Esto nos lleva a la conclusión de que el papel de los macrófagos de presentación de los antígenos y las funciones inmunitarias de los linfocitos T y B tienen lugar dentro del tejido conectivo. Estas células inmunitarias pueden ser asociadas a los tejidos por la capacidad de las moléculas de adhesión, como la CD44, para que puedan funcionar allí y no se pierdan en el surco. Estas moléculas aumentan en número durante la inflamación por diversas citocinas proinflamatorias producidas por una variedad de células. No es sorprendente que los leucocitos que necesitan permanecer en el tejido conectivo para desempeñar sus funciones posean grandes cantidades de estas moléculas de adhesión a los tejidos, mientras que células como los PMN, que funcionan en estrecha proximidad con los microorganismos, tengan menos moléculas de adhesión.

Además el papel de la moléculas de adhesión específica, como ICAM-1, en el epitelio de unión puede ayudar a los movimientos de los PMN hacia la hendidura y de hecho, están regulados por la acción directa de los productos bacterianos y por las citocinas producidas por los PMN. Estos por lo tanto, llegan en grandes cantidades a el surco y comienzan su función de fagocitar bacterias, ayudados por los complementos y anticuerpos (opsoninas). La presencia de los correspondientes receptores Fc para estas moléculas de anticuerpos en los PMN es necesaria para la función antimicrobiana de los anticuerpos. Varios investigadores hallaron que las variaciones en los receptores Fc pueden predisponer a la enfermedad periodontal. Se ha demostrado claramente, que cualquier reducción en el número o función de los PMN será perjudicial para el periodonto. Otro factor variable relacionado con la acumulación de PMN en los tejidos es la cantidad de moléculas de adhesión endoteliales o leucocitarias. La importancia de éstas se manifiesta por la extensa destrucción periodontal observada en enfermedades como la Deficiencia de Adhesión Leucocitaria (LAD), donde los dientes literalmente son exfoliados al erupcionar y, aún cuando los vasos contengan grandes cantidades de PMN, su número es escaso en los tejidos y en el surco (5).



**31. Bacterias fagocitadas por un macrófago.** Se observa marcada en verde a la bacteria dentro del macrófago. En rojo se observa como el macrófago reorganiza su citoesqueleto para poder digerir a la bacteria  
R.E. (28)

Al aumentar la inflamación, el proceso inmunitario o se inicia (si ésta es la primera respuesta a los antígenos) o se reinicia (respuesta típica). En la iniciación de la respuesta inmunitaria, las células de Langerhans en el epitelio toman material antigénico derivado de los microorganismos y lo transportan al tejido linfoide, donde se produce la presentación de los antígenos a los linfocitos. Esta presentación tiene como resultado el compromiso de los linfocitos que vuelven al sitio de la exposición microbiana donde los linfocitos B se transforman en plasmocitos y producen anticuerpos o los linfocitos T ayudan a la respuesta humoral y desarrollan respuestas inmunitarias de mediación celular frente a esos microorganismos. Los anticuerpos pueden ser producidos local o sistemáticamente y actúan agregando o aglutinando los microorganismos y, junto con los PMN, permiten una fagocitosis eficiente (opsonización) (5).

La acumulación de PMN y su actividad en el surco gingival tiene como resultado la liberación de muchas enzimas que ocasionan efectos perjudiciales para los tejidos del hospedero, igual que para los microorganismos. Además la infiltración inmunitaria necesita espacio en el periodonto para comenzar su función y deben perderse componentes estructurales con el fin de crear el espacio físico para esos leucocitos infiltrados. Mas aún, las capas epiteliales son destruidas, el epitelio se reforma en una ubicación más apical y se forma la bolsa. Al



extenderse la infiltración, se reabsorbe el hueso con el fin de dejar más espacio para las células de defensa. Se forma tejido de granulación fuertemente vascularizado y lleno de plasmocitos productores de anticuerpos. Este tejido de granulación requiere más espacio y muchas de sus células producen enzimas degradantes de la matriz y citocinas que directa e indirectamente degradan aún

más el tejido conectivo y el hueso. Finalmente, si no se los reprime, los microorganismos continuarán generando productos perjudiciales para el huésped, éste continuará dando una respuesta fallida, la bolsa profundizará, el tejido de granulación se extenderá, se perderá hueso y ligamento y, finalmente, desaparecerán bastantes estructuras de sostén del diente originándose la exfoliación (5).

La patogenia de la enfermedad periodontal origina la destrucción de los tejidos de soporte del diente y es consecuencia de las acciones fallidas e ineficaces de los sistemas de defensa del hospedero en respuesta a la acumulación de placa. Este proceso patogénico difiere en extensión y gravedad de un individuo a otro y en el mismo individuo con razones multifactoriales (5).

### **8.3.1. Procesos destructivos microbianos.**

Los microorganismos producen una gran variedad de enzimas solubles con el fin de digerir las proteínas extracelulares del huésped y otras moléculas y así producir nutrientes para su desarrollo. También liberan numerosos productos metabólicos, como amoníaco, indol, anhídrido sulfúrico y ácido butírico. Entre las enzimas liberadas por las bacterias hay proteasas capaces de digerir colágeno, elastina, fibronectina, fibrina y otros componentes de la matriz intercelular de los tejidos epitelial y conectivo (5).

El efecto de los productos estructurales, enzimáticos y de desecho es estimular, probablemente de forma perjudicial, la producción de citocinas del hospedero. Las citocinas así producidas son predominantemente proinflamatorias y poseen efectos múltiples que sirven para reforzar la respuesta inflamatoria. También alientan la actividad de la metaloproteínasa de la matriz, aparte de reclutar leucocitos en esta zona.

Los lipopolisacáridos (LPS) endotoxinas de los microorganismos Gram-negativos son capaces de provocar tanto la respuesta inflamatoria e inmunitaria como de interactuar con las células del hospedero. Muchas de las funciones atribuidas a los LPS en el pasado eran debidas no sólo a sus acciones estimulantes de las citocinas, sino además a las muchas moléculas de la membrana externa, proteínas y enzimas unidas a las moléculas de LPS. También se demostró que los LPS tienen efectos profundos sobre el sistema de coagulación sanguíneo y el sistema de complemento, produciendo una alteración de la homeostasis y formación de péptidos proinflamatorios. Las propiedades de los LPS y de los ácidos lipoteicoicos (LTA) de los

microorganismos Gram-positivos son numerosas y, pueden deberse a las muchas moléculas asociadas con estas estructuras membranosas externas. Los LPS, LTA y proteínas o polisacáridos específicos producidos y liberados por los microorganismos subgingivales activan a los mediadores químicos de la inflamación para que produzcan permeabilidad vascular e induzcan, mediante

acciones quimiotácticas, a las células inflamatorias a que se muevan hacia los tejidos y provoquen que las células defensivas liberen sustancias proinflamatorias y citocinas. Las respuestas inmunitarias frente a los microorganismos estarán dirigidas principalmente contra las proteínas y polisacáridos de la membrana externa y contra las enzimas y toxinas liberadas extracelularmente. Estas reacciones inmunitarias tendrán como resultado una mayor liberación de citocinas y mediadores proinflamatorios, que a su vez aumentarán la inflamación y así serán más nocivas para el hospedero (5).

### **8.3.2. Proceso Inflamatorio: moléculas y células implicadas.**

La enfermedad periodontal origina degradación tisular, por lo cual las proteasas, del hospedero y microbianas son elementales en los procesos destructivos. Las proteinasas, como su nombre lo indica, son aquellas moléculas que dividen las proteínas por hidrólisis de las uniones peptídicas. Estas enzimas proteolíticas pueden dividirse en dos clases principales: a) endopeptidasas (proteinasas) y b) exopeptidasas, de acuerdo con la localización de la actividad de la enzima en el sustrato. Las enzimas de la primera categoría dividen las uniones en su sustrato dentro de la cadena polipeptídica, mientras que las exopeptidasas dividen el sustrato solo en uno o dos residuos del extremo de la cadena de polipéptidos.

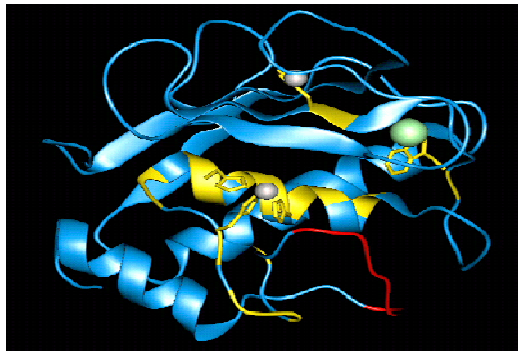
La liberación de proteasas en las encías y en la zona del surco promueve reacciones inflamatorias y contribuye al daño del tejido conectivo por distintas vías. Por el contrario, los inhibidores de proteasa sirven como moduladores de la función proteasa en el área y dificultan el proceso inflamatorio. Todas las endopeptidasas provenientes del huésped, de las cuales se sabe que se liberan en el surco, pueden ser inhibidas por la función combinada de la  $\alpha$ -1-antitripsina ( $\alpha$ 1-AT). De hecho, se ha demostrado la inhibición de la colagenasa gingival por la  $\alpha$ 2-M y la colagenasa leucocitaria polimorfonuclear (PMN) es además inhibida por la  $\alpha$ 1-AT. Las colagenasas bacterianas también pueden ser inhibidas por inhibidores de proteinasa humana, pero también hay posibilidades de que potentes proteinasas, como la que posee *P. gingivalis* sean capaces de degradar a estos inhibidores (5,1).

Metaloproteinasas de la matriz (MMP)

Poco después del descubrimiento de la colagenasa a principios de la década de los sesenta, se introdujo una nueva línea de investigación en el campo periodontal. Se demostró que tanto las células epiteliales como el tejido

conectivo gingival inflamado son capaces de producir colagenasa en cultivos de tejidos. Una de las metaloproteínas de la matriz que fueron objeto de mucha atención es la colagenasa de neutrófilos (PMN), que se encuentra en concentraciones más elevadas en muestras gingivales inflamadas que en las encías clínicamente sanas. La presencia de colagenasa fue demostrada en

homogeneizados de encía obtenidos de pacientes con periodontitis, midiendo la actividad de la colagenasa. La inmunolocalización de los tejidos con colagenasa demostró que las biopsias gingivales tomadas de los pacientes con enfermedad periodontal presentaban algo de enzima, mientras que las muestras gingivales obtenidas de los sujetos tratados no tenían la enzima. El aumento de estas enzimas MMP en sitios enfermos en comparación con los sanos, su incremento durante la gingivitis experimental y su reducción después del tratamiento periodontal sugieren que las mmp participan en la degradación del tejido periodontal. Entre las MMP, tanto la colagenasa fibroblástica (Fig. 32) como la de PMN tienen la singular capacidad, no compartida por los otros miembros de la familia, de dividir la triple hélice de los colágenos de tipo I, II y III, iniciando así la degradación de la matriz extracelular (5,12).



**Fig.32. Representación de la Metaloproteínasa fibroblástica.** En rojo sitio activo, en amarillo región inhabilitada por la unión del inhibidor.  
R.E. (29)

### Leucocitos Polimorfonucleares (PMN)

El PMN es el leucocito predominante en el surco gingival, tanto en estado de salud como en enfermedad. Los PMN de la circulación son atraídos al área por la vía de los estímulos quimiotácticos evocados desde la placa dental e, histológicamente, se puede ver a los PMN atravesando el tejido conectivo gingival en la inflamación. Sin embargo, también se encuentran PMN en la encía clínicamente sana y son reclutados en respuesta a los factores quimiotácticos en la región de el surco gingival.

Los números de PMN aumentan en el surco gingival con el desarrollo de la gingivitis y se encuentran más PMN en los sitios de periodontitis si se compara con los de gingivitis, aunque su viabilidad y función están disminuidos en la

primera. Como en otros tejidos, la migración de los leucocitos hacia el tejido conectivo gingival, y a través del epitelio de unión hacia el surco gingival, está controlada por la vía de las moléculas de adhesión, Moughal y cols. (1992), en un estudio en el cuál se pidió a los voluntarios que interrumpieran las prácticas normales de higiene bucal durante varias semanas (estudio de gingivitis

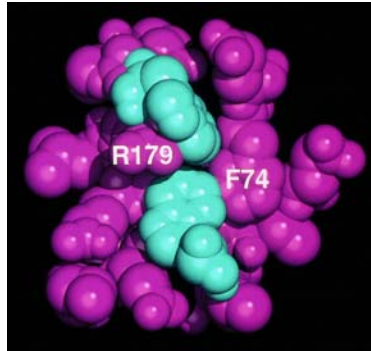
experimental), demostraron que los vasos en el tejido conectivo gingival expresan ELAM-1 e ICAM-1 en estado de salud y de inflamación gingival y se encontraron PMN en mayor abundancia en las áreas que expresan tinción intensa de ELAM-1 e ICAM-1. Además, el epitelio del surco y de unión se tiñó positivamente para ICAM-1, lo que sugirió la importancia de esta molécula de adhesión para permitir la migración de los PMN a través del epitelio hacia el surco (1,5,12).

## **CITOCINAS**

Las citocinas son proteínas solubles, segregadas por células, que actúan como moléculas mensajeras que transmiten señales a las otras células. Desempeñan numerosas acciones, como la iniciación y el mantenimiento de las respuestas inmunitarias e inflamatoria y la regulación del desarrollo y la diferenciación de las células. Las interleucinas son miembros importantes del grupo de las citocinas y participan fundamentalmente en la comunicación entre los leucocitos y las otras células implicadas en los procesos inmunitarios e inflamatorios, como las epiteliales, las endoteliales y los fibroblastos. Estas moléculas son liberadas en pequeñas cantidades y ejercen diversas acciones sobre las células portadoras del receptor específico de esta citocina. Las citocinas son numerosas, muchas tienen funciones que se superponen y están ligadas entre sí formando una red activa que controla la respuesta del hospedero. El control de la liberación y acción de la citocina es complejo y depende de inhibidores y receptores. Muchas citocinas son capaces de actuar sobre la célula que las produjo, de manera que autorregulan su propia producción y la producción de otras citocinas (1,5,12).

### **Citocinas proinflamatorias**

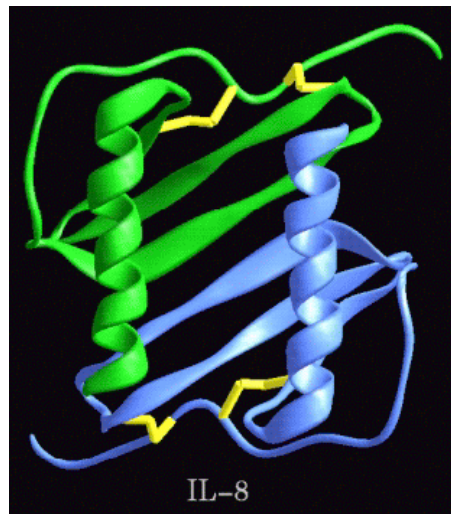
Las citocinas IL-1, IL-6 (Fig. 33) y Factor de Necrosis tumoral (TNF) estimulan la reabsorción e inhiben la formación ósea *in vitro* e *in vivo*. Los estudios del mecanismo de acción de IL-1 sobre los fibroblastos *in Vitro* sugieren que la IL-1 puede actuar sobre los fibroblastos para promover la reparación o destrucción de la matriz celular (5).



**Fig. 33. Esquema representativo de IL-6.** En R (arginina) y en F (fenilalanina). R.E. 30

### Citocinas quimiotácticas

Ha sido identificada una serie de más de 20 moléculas entre las cuáles la más famosa y mejor caracterizada es la interleucina-8 (IL-8) (Fig.34), que tiene poderosas funciones quimiotácticas para los leucocitos, particularmente para los neutrófilos, pero también para los linfocitos y macrófagos. Estas moléculas actúan reclutando células de defensa en zonas donde se necesita y son importantes en las respuestas con mediación celular. Se utiliza el término quimioquina para describir estas moléculas y es una forma abreviada de citocina quimiotáctica.



**Fig. 34. Representación de IL-8.** En la figura observamos que cada monómero está formado por una estructura secundaria consistente en una alfa-hélice y dos beta plegadas paralelas.  
R.E. 30

## **Citocinas señaladoras de linfocitos**

Los linfocitos T colaboradores (helper) (TH1 y TH2) son linfocitos que regulan en los tejidos las respuestas inmunitarias humoral y de mediación celular por la vía de las citocinas. La respuesta inmunitaria humoral es promovida por TH2, que produce citocinas características, a saber: IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Los linfocitos TH liberan IL-2 e interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) que refuerzan las respuestas de mediación celular. Estas citocinas constituyen un mecanismo preciso para el control de la respuesta inmunitaria, de modo que sea suficiente para enfrentarse al patógeno. Las citocinas pueden influir sobre la respuesta inmunitaria determinando la clase de inmunoglobulina producida, lo que puede tener un efecto profundo sobre la función de los anticuerpos. Por ejemplo, las moléculas IgM son más eficaces para la bacteriolisis y las moléculas IgG para la opsonización.

Las células TH2 refuerzan la respuesta inmunitaria humoral antes que las respuestas mediadas por células y esto confirma que estas lesiones son dominadas por plasmocitos y que la respuesta inmunitaria humoral es más notable que la respuesta de mediación celular en la periodontitis crónica (1,5,12).

## **Prostaglandinas**

Las prostaglandinas, derivadas del ácido araquidónico, son mediadores importantes de la inflamación. No es sorprendente, por lo tanto, que hayan sido implicadas en la patogenia de la enfermedad periodontal. Las citocinas proinflamatorias son capaces de estimular a los macrófagos y a otras células para producir cantidades elevadas de prostaglandinas, en particular PGE<sub>2</sub> que son vasodilatadores potentes e inductores de la producción de citocinas por diversas células.

Esta prostaglandina actúa sobre los fibroblastos y osteoclastos, junto con las citocinas para inducir la producción de MMP de la matriz, lo cual es relevante para el recambio tisular y para el proceso destructivo periodontal (1,5,12).

## **Proteína C-Reactiva (CRP)**

Se sabe que la Proteína C Reactiva (PCR) se produce en el hígado cuando hay una infección o inflamación aguda en el cuerpo, sin embargo nuevas investigaciones indican que los adipocitos también pueden liberarla en respuesta a citocinas inflamatorias.

La PCR es una proteína de fase aguda y se incrementa en el suero ante un proceso inflamatorio o infeccioso como la enfermedad periodontal y desaparece en la etapa de recuperación (solamente aumenta en la fase activa del proceso). Se le reconocen efectos proinflamatorios y esta catalogada como factor de riesgo cardiovascular por la Asociación Americana del Corazón (15).

Un gran número de estudios han reportado cierta asociación entre la enfermedad periodontal y las condiciones cardíacas. Las evidencias sugieren que los efectos sistémicos de la infección con patógenos periodontales son comunes durante la progresión de la enfermedad cardíaca coronaria. Por ejemplo, los estudios de los mecanismos que implican a *P. gingivalis* han mostrado que este organismo es capaz de causar agregación plaquetaria, incremento de lípidos, aumento en la formación de ateromas e incremento de calcificaciones.

El Dr. Robert Genco, de la Universidad de Buffalo, Departamento de Biología Oral ha reportado (15) el papel de los mediadores de la inflamación en asociaciones perio-cardíacas. El mediador de la inflamación conocido como

Proteína C-Reactiva (CRP), incrementa unas 500 veces o más durante un proceso severo de inflamación. Bioquímicamente juega un papel importante en la coagulación, incrementa los niveles de colesterol y se une a los lípidos de las membranas celulares para reparar los tejidos dañados.

### **Proceso Inflamatorio**

Las lesiones inflamatorias producidas en la encía no difieren de lesiones similares en otros tejidos. La ubicación, extensión y composición de las lesiones inflamatorias gingivales están influenciadas empero la morfología y fisiología de los tejidos de la región dentogingival.

La reacción inflamatoria aguda puede ser considerada la primera línea de defensa del tejido tras la irritación o daño, en tanto que la reacción inflamatoria llamada crónica puede ser vista como una segunda línea de defensa. Las características de ambas líneas de defensa servirán para ilustrar los mecanismos que operan cuando la encía sana se convierte en tejido inflamado y, subsiguientemente, cuando la lesión gingival manifiesta progresa a lesión asociada con pérdida de inserción de tejido conectivo y hueso alveolar, es decir enfermedad periodontal destructiva (1,5,12).

#### **8.3.3. Inflamación Aguda**

La reacción inflamatoria aguda se inicia en el tejido conectivo tras una irritación o lesión, de origen microbiano, químico, térmico o mecánico. La reacción inflamatoria es caracterizada por la presencia de alteraciones vasculares y celulares bien definidas y predecibles resultantes en lesiones transitorias o permanentes de los componentes tisulares normales (células, fibras, matriz), con el siguiente impedimento o pérdida de la función normal del tejido afectado.

La curación es un rasgo importante de la reacción inflamatoria aguda. La curación va a continuación cuando el agente iniciador de la respuesta inflamatoria ha sido eliminado o parcialmente inactivado.

El objetivo principal de la reacción inflamatoria local es proteger el tejido expuesto contra la penetración de sustancias (o lesiones) nocivas, así como para establecer condiciones favorables para la regeneración o reparación de las estructuras tisulares dañadas por ese combate. La reacción inflamatoria local, por tanto, debe ser contemplada como beneficiosa en el sentido de que aísla las sustancias lesivas y, con ello, protege las partes más distantes del cuerpo (5).

Aún cuando la reacción inflamatoria aguda tenga un curso comparativamente "estereotipado", a menudo se ven variaciones en la intensidad de la respuesta local. Esas variaciones pueden estar relacionadas con las diferencias entre las personas o los tejidos en su capacidad para responder al irritante. Factores

como la vascularización del tejido y el recambio de los diferentes componentes tisulares en el punto inflamado influyen también en la intensidad de la reacción inflamatoria aguda. Mas aún, la naturaleza del factor dañante (microbiano, químico, térmico, mecánico) puede influir sobre el curso y duración de la reacción inflamatoria aguda. Finalmente, la duración de la exposición a la irritación también influye sobre el carácter de la reacción tisular (5).

### **Reacciones vasculares.**

Las reacciones vasculares se generan muy rápidamente después de la lesión; su propósito es proporcionar al área dañada las proteínas y líquidos plasmáticos necesarios para un pronto aislamiento tanto del irritante como el tejido dañado. Asimismo, aportan velozmente tanto sustancias antimicrobianas como mediadores del proceso inflamatorio hacia el punto dañado. Las reacciones vasculares pueden ser contempladas como una parte de la reacción defensiva inicial (primera línea de defensa) del tejido y se caracterizan por la dilatación vascular y una reducción de la velocidad del flujo sanguíneo en todo el sistema microvascular de la parte afectada del tejido (5, 12, 16).

Concomitantemente con las alteraciones dimensionales del sistema microvascular, aumenta la permeabilidad de los vasos. Primero se aprecia este cambio en las vénulas poscapilares del sistema microvascular del área afectada. Durante la función normal, hay transporte libre (pinocitosis; por un sistema de vesículas pinocitósicas en las células endoteliales) de agua, electrolitos, y sustancias de bajo peso molecular entre el sistema vascular y el tejido conectivo circundante, en tanto se impide la penetración de las moléculas mayores. La permeabilidad vascular incrementada en la inflamación aguda es el resultado en parte de la presión hidrostática incrementada en el sistema microvascular y en parte de la contracción de las células endoteliales ubicadas en los aspectos interiores de las paredes de las vénulas poscapilares. En este último proceso las



uniones entre las células endoteliales se abren y las macromoléculas pueden dejar el sistema vascular y entrar en el tejido circundante (5, 12, 16).

La permeabilidad vascular alterada suele ser mediada por sustancias bioquímicamente activas (mediadores). Las aminas vasoactivas, la histamina y la serotonina, son las responsables primarias de la incrementada permeabilidad durante la fase primera o "rápida" de la reacción inflamatoria aguda. Existen precursores inactivos de esos mediadores en la matriz del tejido conectivo y en los gránulos de los mastocitos. Tras la exposición del tejido a un irritante, se liberan aminas vasoactivas de los mastocitos. Otras sustancias que pueden incrementar la permeabilidad vascular en la inflamación aguda son las prostaglandinas. Estas sustancias están presentes en el plasma, pero también pueden ser producidas por las células del tejido conectivo. Los mediadores de la permeabilidad incrementada también son liberados durante el proceso de coagulación y de los sistemas de complementos. Además, las células

inflamatorias, los leucocitos, contienen y producen sustancias que, cuando son liberadas, pueden inducir alteraciones en la permeabilidad vascular (5, 12, 16).

Los diferentes mediadores involucrados en el proceso de incremento de la permeabilidad vascular cooperan, y en una fase dada pueden estar activos uno o más. Se puede producir una mayor permeabilidad vascular sin esos mediadores, por ejemplo, tras un traumatismo tisular se verá inducido mecánica o térmicamente con daño directo al sistema vascular. Por lo tanto los mecanismos responsables de la permeabilidad vascular incrementada en la inflamación aguda están relacionadas con la naturaleza e intensidad del irritante.

Se puede captar un aumento inmediato de la permeabilidad vascular unos segundos o minutos después de la exposición del tejido a la irritación o traumatismos y prosigue por unos 15-30 minutos. Este tipo de reacción vascular afecta sobre todo las vénulas poscapilares de un diámetro de menos de 100 micrones. Los mediadores responsables de la llamada "fase rápida" de la reacción inflamatoria aguda suelen ser liberados de los mastocitos o de la matriz tisular lesionada (5, 12, 16).

Después de la lesión directa del sistema vascular se produce un incremento inmediato pero prolongado de la permeabilidad. Persiste varios días y no desaparece antes del bloqueo del vaso lesionado, por ejemplo, por coagulación. Este tipo de daño vascular ocurre con frecuencia cuando se exponen los tejidos a un calor intenso (quemadura).

### **Reacciones Celulares**

La reacción inflamatoria aguda causa que los leucocitos, granulocitos, neutrófilos y monocitos dejen el sistema vascular y entren en el tejido conectivo adyacente. En el proceso de migración, los leucocitos se adhieren primero a las paredes de las vénulas del sistema microvascular; después de la adhesión, migran a través

de las uniones de las células endoteliales. Es importante comprender que esta migración no es el resultado ni la causa de permeabilidad vascular aumentada.

La migración de los leucocitos se inicia y mantiene por la presencia de los llamados factores quimiotácticos, que atraen las células, ubicados se cree en las uniones de las células endoteliales así como en los compartimentos extravasculares. Los leucocitos adheridos a la pared vascular son quimiotácticamente estimulados para que pasen a través de las uniones endoteliales (5, 12, 16).

Cuando los tejidos reciben una irritación relativamente leve, la migración de los granulocitos neutrófilos alcanza el máximo aproximadamente 4-6 hrs después de la lesión y declina a continuación. Los leucocitos mononucleares (monocitos) comienzan a migrar desde los vasos alrededor de 4 hrs. después del daño, con un pico a las 18-24 hrs.

Como se ha mencionado, la migración de los granulocitos neutrófilos y las células mononucleares es el resultado de una estimulación quimiotáctica. En la primera fase de la reacción inflamatoria, los granulocitos neutrófilos son responsables de la fagocitosis de cuerpos extraños, material nocivo y microorganismos. Estas células contienen en su citoplasma numerosos gránulos (lisosomas) que encierran enzimas y sustancias antimicrobianas así como mediadores de la inflamación. También contienen los neutrófilos grandes cantidades de glucógeno, lo cual significa que por glucólisis pueden funcionar en medios de baja tensión de oxígeno (5, 12, 16).

La fagocitosis de los microorganismos por los granulocitos es fásica. Primero el microorganismo se adhiere a la membrana celular. Ésta se invagina y, por fusión de pseudópodos, se produce un fagosoma, el microorganismo es transportado hasta su contacto con los lisosomas. La membrana del fagosoma y las membranas de uno o varios lisosomas se fusionan. Las enzimas lisosómicas se vacían en el fagosoma y se forma un fagolisosoma. Después de la fagocitosis y la exposición a las enzimas lisosómicas, la mayoría de los gérmenes resultan inactivados y después se desintegran (16).

Una deficiencia en la cantidad o función de los granulocitos neutrófilos reduce la capacidad para combatir la infección y pueden generarse situaciones potencialmente letales. Son ejemplos de situaciones así: neutropenia, agranulocitosis y/o ciertas formas de leucemia.

La presencia en el tejido de anticuerpos humorales contra los microorganismos invasores estimula y alienta el proceso de fagocitosis. La superficie del granulocito neutrófilo alberga receptores específicos (receptores Fc) para las moléculas de anticuerpos. Por estos receptores Fc el microorganismo queda firmemente adherido al leucocito, con lo cual facilita la fagocitosis (12,16).

Durante y después del proceso de fagocitosis, parte del material lisosómico del leucocito es liberado hacia el tejido huésped. Así, la fagocitosis no sólo contrarresta al irritante (por ejemplo, la infección) en el tejido huésped, pero el material lisosómico pueden causar nuevos daños tisulares.

Los monocitos y su forma transmutada, los macrófagos (formados cuando aquellos son estimulados durante la reacción inflamatoria local), son células en general de funciones similares a las de los granulocitos neutrófilos. Así, contienen grandes cantidades de lisosomas y participan en la fagocitosis de microorganismos y material nocivo. También participan los macrófagos de la primera fase de un proceso que conduce a una reacción inmunitaria. Los antígenos fagocitados por los macrófagos son alterados por procesos activos en la célula y cambiados a una forma molecular que pueda ser reconocida por las células del sistema inmunitario, los linfocitos.

Cuando el exudado y la fagocitosis, es decir la inflamación aguda, sean eficaces para eliminar el irritante, pronto se inicia la curación. Durante la cicatrización de las lesiones del tejido conectivo, se liberan sustancias que median una proliferación y actividad metabólica incrementada de los fibroblastos (5,12,16).

#### **8.3.4. Inflamación Crónica. Mecanismos Específicos de Defensa.**

Cuando la reacción inflamatoria local es insuficiente para eliminar el material infeccioso (antígenos), se puede suscitar una respuesta inmunitaria. El propósito principal de ésta es identificar y fijar el agente nocivo (antígeno) y activar los fagocitos (granulocitos, neutrófilos, macrófagos). Por estas funciones, segunda línea de defensa, se neutraliza y descompone el antígeno y se protege al huésped. Monocitos/macrófagos, linfocitos y plasmocitos se acumulan localmente en el tejido en el punto de depósito del antígeno. Una sustancia de propiedades no antigénicas causará una reacción por cuerpo extraño caracterizada por la acumulación de macrófagos en el punto de reacción. Las reacciones inmunitarias así como la reacción inflamatoria aguda deben ser contempladas como mecanismos de defensa que limitan la posibilidad de las sustancias nocivas o las bacterias de penetrar más en el tejido. Las reacciones inmunitarias tienen dos partes principales e incluyen:

1. Producción de anticuerpos (reacción humoral)
2. Participación de ciertos linfocitos (reacción celular)

En la mayoría de las situaciones ambas reacciones se producen simultáneamente pero una u otra predominan según el carácter del antígeno al que está expuesto el tejido (5,12).

### 8.3.5. Respuesta Inmune Humoral

Reacción antígeno-anticuerpo.

Los anticuerpos son el producto de los plasmocitos que se generan a partir de linfocitos pertenecientes a la serie linfocitaria B. Por la influencia de esta estructura, los linfocitos diferenciados tienen la capacidad de reaccionar con un antígeno para la producción de anticuerpos. La generación de linfocitos B por la vía de un estadio de blastos hacia plasmocitos maduros se produce en distintas etapas. Se ha demostrado que los linfocitos también pueden producir ciertas linfocinas (5,12).

Los anticuerpos son producidos por plasmocitos presentes ya en el lugar de la reacción y/o en el tejido linfoide (ganglios linfáticos, amígdalas, bazo, placas de Peyer en el intestino). Los anticuerpos contra algunos antígenos pueden ser

sintetizados por plasmocitos sin la participación de células T. En muchos casos, no obstante el plasmocito requiere ayuda de la célula T. Los plasmocitos liberan anticuerpos y se depositan ya en los tejidos del punto de reacción, ya en el ganglio linfático desde el cual entran en circulación. Los plasmocitos producen anticuerpos, inmunoglobulinas (IG) de una sola especificidad, y la mayoría de las células producen inmunoglobulinas de la clase IgG o IgM. Comparativamente, pocos plasmocitos contienen IgD e IgE. Algunos plasmocitos próximos a las mucosas producen anticuerpos IgA. Las inmunoglobulinas del tipo IgA son importantes en la protección del recubrimiento mucoso (5,12).

Las moléculas de anticuerpos y antígenos se combinan en un complejo inmunitario. Así resulta fijado el antígeno y su efecto biológico, en muchos casos, es neutralizado.

Los complejos inmunitarios desempeñan un papel importante en la producción y mantenimiento de la reacción inflamatoria local. La activación del sistema de complemento es un resultado muy importante de la formación de complejos inmunitarios. El sistema de complemento es una serie de por lo menos 9 proteínas diferentes presentes en plasma. Durante la fase temprana de la reacción inflamatoria aguda, las proteínas plasmáticas, incluidos los componentes del sistema de complemento, se acumulan fuera de los vasos. Las proteínas del sistema de complemento, después del contacto con la mayoría de los complejos antígeno-anticuerpo, se transforman en sustancias biológicamente activas (la forma clásica de activación del complemento) (5,12).

Los componentes del sistema de complemento pueden ser descritos mejor como enzimas activadas en una secuencia predeterminada. La activación del

complemento da por resultado la formación de mediadores para la reacción inflamatoria local. Los factores liberados por la inactivación del tercer componente del complemento, C3, inducen una permeabilidad vascular incrementada y refuerzan la fagocitosis de los granulocitos neutrófilos y macrófagos. Un factor de propiedades similares es producto de la activación de C5. Mas aún, una combinación de componentes C5, C6 y C7 también es quimiotáctica para los neutrófilos. Además se liberan productos similares a las mismas que inducen una permeabilidad vascular incrementada (5,12).

A parte de la inducción de la reacción inflamatoria local, el complemento activado, aunque sea una defensa activa contra las bacterias, también puede inducir lesiones de las membranas celulares cuando la activación se produce en las membranas fibroblásticas del tejido huésped.

Así por la producción de anticuerpos se identifica y neutraliza la sustancia antigénica, y el sistema de complemento se activa por el complejo antígeno-anticuerpo. El complejo inmunitario es posteriormente eliminado por la reacción

inflamatoria aguda (exudado y fagocitosis) iniciada y mantenida por los componentes activados del complemento.

Las enzimas microbianas y las enzimas lisosómicas de los granulocitos neutrófilos pueden, sin la participación de los complejos inmunitarios, también activar el sistema de complemento así como la endotoxina de las bacterias gramnegativas. Así se generan factores quimiotácticos para leucocitos y sustancias vasoactivas generadas por la vía alternativa de la activación de complemento. También puede ser activado el sistema de complemento por factores involucrados en el proceso de coagulación. Es importante comprender que por la activación del sistema de complemento, por la vía de los complejos inmunitarios o por las reacciones inespecíficas, se liberan mediadores que son importantes para los dos procesos fundamentales de la reacción inflamatoria aguda: permeabilidad vascular incrementada, y la activación y migración de neutrófilos y macrófagos (5,12).

### **8.3 .6. Respuesta Inmune Celular**

La reacción inmunitaria celular se cumple por células pertenecientes a la serie linfocitaria T (las que se diferencian en el timo). La reacción celular no involucra la producción de anticuerpos en el sentido tradicional. En vez, los linfocitos T sintetizan y liberan unas sustancias, las linfocinas, cuando estas células se ponen en contacto con un antígeno con el cual están programadas para reaccionar (sensibilizadas). Las linfocinas participan en la defensa del huésped contra las bacterias y células extrañas y tienen el potencial de mediar distintas fases de la reacción inflamatoria local. Algunas linfocinas impiden que los

macrófagos migren del punto de reacción y estimulan la actividad sintética y fagocitaria de los macrófagos. También se han demostrado sustancias quimiotácticas para los granulocitos neutrófilos, monocitos/macrófagos y linfocitos con las linfocinas. La linfotóxina es una linfocina que tiene un efecto citotóxico inespecífico sobre otras células, con lo cual puede dañar las células del huésped. Otras linfocinas estimulan la proliferación de los linfocitos no sensibilizados y activan los osteoclastos para producir reabsorción ósea (5,12).

Debo mencionar que muchos procesos inmunitarios involucran una combinación de reacciones de células B y células T, aunque algunos antígenos provocan sólo una u otra reacción inmunitaria; otras dan reacciones primariamente de células B y otros de las T. Mas aún, una reacción de células B depende de la presencia de células T (T colaboradoras y T supresoras). Esta dependencia puede ser una de las razones para la relativa ausencia de reacciones celulares puras B o T.

### **8.3.7. Anticuerpos Específicos**

La reacción local crónica (específica) está íntimamente ligada al reconocimiento de los LPS de membrana por parte del sistema inmune mediante un mecanismo especial que no necesita de la participación directa ni de las células presentadoras de antígenos ni de los linfocitos.

La respuesta inmune específica, también conocida como adaptativa, tiene como función el reconocimiento y eliminación de antígenos específicos mediante la producción de anticuerpos o a través del entrenamiento de linfocitos T CD8 (linfocitos T citotóxicos) capaces de destruir por señales de apoptosis cualquier célula del organismo infectada y capaz de mostrar dicho antígeno (5, 12).

En condiciones normales, el primer paso de la respuesta inmune adaptativa es el reconocimiento, adquisición, procesamiento y presentación del antígeno por parte de células especializadas denominadas "células profesionales presentadoras de antígeno o APC" (macrófagos, linfocitos B y células dendríticas). Este primer paso es particularmente cierto cuando el antígeno es de tipo proteico, es decir, proteínas de la cápside viral, proteínas de la membrana bacteriana, etc, ya que este tipo de biomolécula puede ser degradada proteolíticamente hasta pequeños fragmentos de 8–12 residuos de aminoácidos que son presentados a otras células inmunes en el contexto de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1 (MHC-1) o las del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 2 (MHC-2). Cuando el antígeno es de naturaleza viral será procesado por la célula APC y presentado en forma de complejo con la molécula MHC-1 a los linfocitos T citotóxicos (CD8) y cuando es de naturaleza bacteriana será procesado por la célula APC y presentado en forma de complejo con la molécula MHC-2 a los linfocitos T CD4 o ayudadores

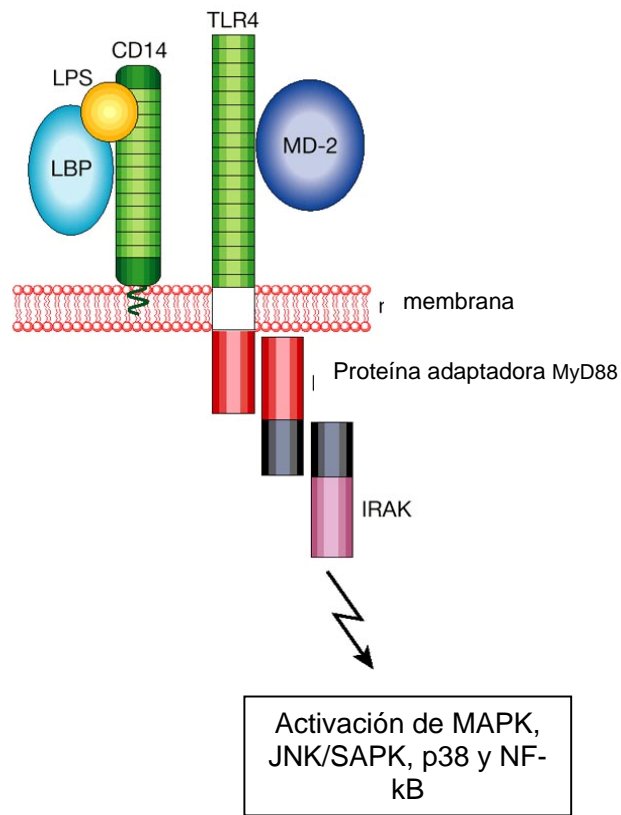
que llevarán esta señal a los linfocitos B que finalmente se convertirán en células plasmáticas productoras de anticuerpos contra este antígeno.

En el caso de la enfermedad periodontal, la respuesta inmune contra los LPS bacterianos difiere de estas dos vías clásicas, ya que los LPS no pueden ser procesados como las proteínas y por ende no pueden ser "mostrados" vía moléculas del MHC. En otras palabras, la respuesta inmune contra los LPS no involucra la participación directa de los linfocitos (ni T ni B). De hecho, los LPS bacterianos se conocen como antígenos independientes del timo (IT) en conjunto con otros antígenos como los ácidos nucleicos, glucolípidos y polisacáridos que tienen la capacidad de generar anticuerpos sin la participación de los linfocitos T. El significado práctico de los antígenos IT es que muchos polisacáridos y lipopolisacáridos de la pared celular bacteriana pertenecen a esta categoría y la inmunidad humoral es la principal defensa contra ellas. De esta forma, es claro que los LPS tienen una vía especial para la estimulación

del sistema inmune: En ratones, una baja concentración de LPS estimula la síntesis de anticuerpos específicos, pero a una elevada concentración son capaces de la activación policlonal de las células B independiente de su unión a inmunoglobulinas de membrana. Llevando este hecho al contexto humano, se debe resaltar que desde hace tiempo se conoce que los linfocitos B no son el blanco de los LPS, sino los monocitos, gracias a la unión de los LPS al receptor CD-14 de estas células (5, 12).

La interacción de los LPS bacterianos con el receptor CD-14 de los monocitos requiere el pre-requisito de la formación de un complejo proteico entre el LPS y su proteína transportadora LBP, que permite una unión de alta afinidad con la proteína CD-14 (Fig. 35) que desemboca en la activación del monocito caracterizada por la liberación de IL-1, PGE2, TNF- $\alpha$  y metaloproteinasas con los siguientes efectos locales:

- Resorción del hueso alveolar: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PGE2
- Destrucción de la matriz extracelular: MMP
- Activación de fibroblastos: IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , que estimulan a una mayor resorción ósea por secreción de PGE2 por el fibroblasto y una mayor secreción de MMP's que incrementa la degradación de la matriz extracelular.



**Fig. 35. Modelo de reconocimiento del LPS.** El LPS es opsonizado por LBP y el complejo es reconocido por CD14. CD14 se encuentra asociado con la superficie celular por medio de un anclaje glicolípido incapaz de generar señales transmembranales. El mecanismo por el cual TLR4 se activa es aún desconocido pero puede ser de forma directa o indirecta. Ambas TLR4 y CD14 contienen múltiples repeticiones de leucina (líneas en engro), es posible que estos dominios faciliten la interacción proteína-proteína. MD-2 es una proteína que se une al dominio extracelular de TLR4 y que resulta crucial para las transducciones intracelulares.

R.E. (31)



## 9. Ácido Lipoteicoico

### 9.1. Introducción.

Por mucho tiempo se consideró que padecimientos como el síndrome de Disfunción Multiorgánica y el Choque séptico eran ocasionados por bacterias Gram-negativas, en particular por los componentes de su pared celular como son los lipopolisacáridos (LPS) (17). Actualmente se sabe que los LPS por sí mismos no pueden producir todas las características del Síndrome de Disfunción Multiorgánica y que se requiere de la participación de bacterias Gram-positivas, las cuales carecen de LPS y que están asociadas al desarrollo de enfermedades: endocarditis, gonorrea, escarlatina, fiebre reumática, neumonía, meningitis, endocarditis y septicemia, lo que sugiere que estas bacterias presentan otros factores de virulencia (18, 19).

Los peptidoglucanos y el ácido lipoteicoico (LTA) son los principales componentes de las bacterias Gram-positivas que tienen actividades relacionadas con el desarrollo de sepsis. En modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*, se ha mostrado que el LTA estimula respuestas inflamatorias, y que se encuentra asociado a infecciones específicas (20).

Se han identificado tres eventos ocasionados por bacterias Gram-positivas que conducen a la liberación de citocinas por parte de diferentes células del hospedero como monocitos, macrófagos y células dendríticas:

1. El primero se produce por presencia de componentes provenientes de las bacterias Gram-positivas,
2. Interacción con receptores presentes en las células inmunes
3. Activación de mecanismos de transducción que conducen a la expresión de moléculas proinflamatorias.

### 9.2. Historia.

Los ácidos teicoicos (del griego: teichos: pared) se detectaron en el año de 1958 por Baddiley y colaboradores mientras investigaban el papel de las moléculas CDP-glicerol y CDP-ribitol, que están presentes en las bacterias Gram-positivas. Las primeras moléculas que se aislaron de la pared celular mostraron ser polímeros del ribitol fosfato o del glicerol-fosfato que usualmente contienen residuos glucosil o ésteres de alanina o ambos. Debido a la diferencia estructural que presentaban estas moléculas, el término ácido teicoico se redefinió para incluir a todas las moléculas que contenían glicerol-fosfato o residuos de ribitol-fosfato presentes en la pared bacteriana, en la membrana o en polímeros capsulares.

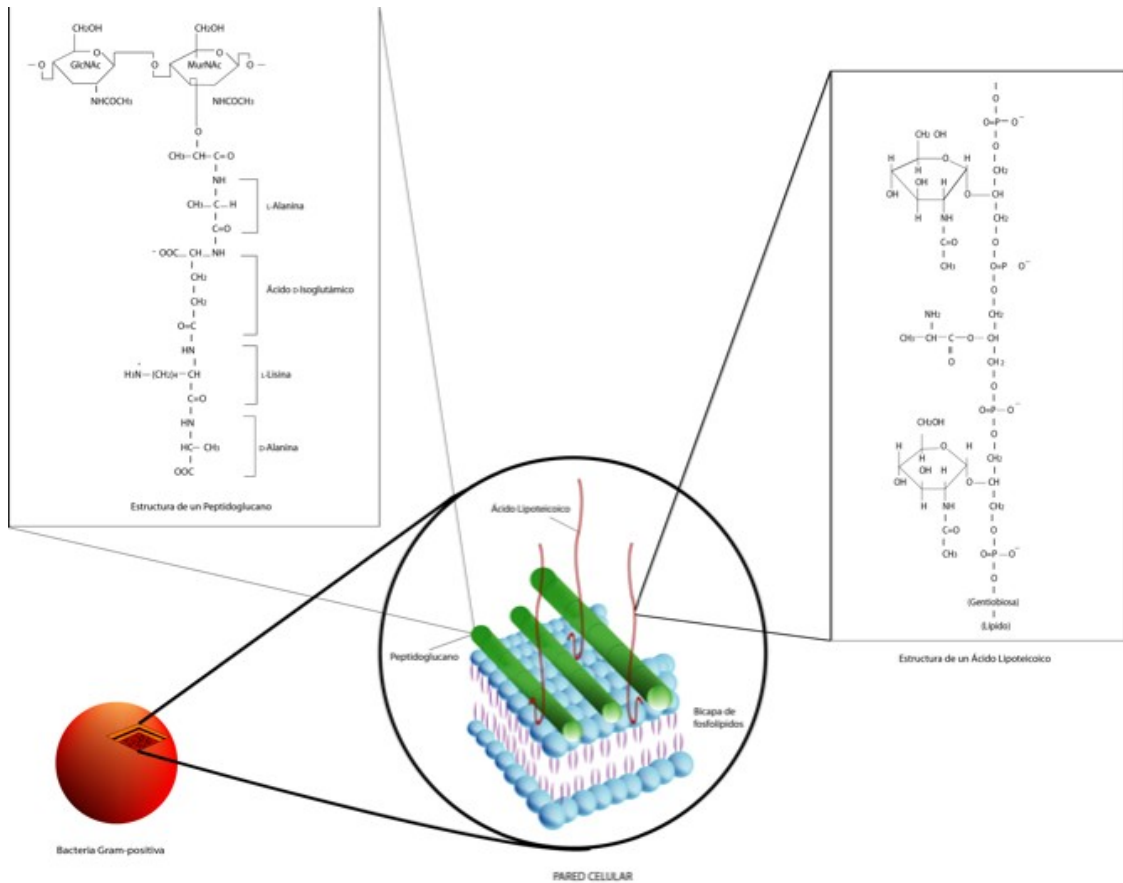
El grupo de ácidos teicoicos de poliglicerol-fosfato se diferenció y denominó ácidos teicoicos intracelulares porque se extraían de bacterias que no contenían pared celular. Posteriormente los ácidos teicoicos se detectaron en la membrana

citoplasmática y se renombraron como ácidos teicoicos de membrana. Un tercer cambio a la denominación de los ácidos teicoicos, se sugirió ocho años después cuando se detectaron complejos de ácidos teicoicos y se describieron como compuestos anfifílicos en donde la estructura que el poliglicerol-fosfato se une de forma covalente a los glucolípidos de membrana por unión fosfodiéster. De esta forma se caracterizaron a los ácidos lipoteicoicos como moléculas anfifílicas ancladas a la membrana citoplasmática por interacciones hidrofóbicas mientras que los ácidos teicoicos son moléculas que están covalentemente unidos al peptidogucano de la pared celular (21).

Muchas bacterias Gram-positivas contienen ambos polímeros, pero el ácido lipoteicoico está más ampliamente distribuido y su biosíntesis es menos dependiente de las condiciones de crecimiento bacteriano (21).

### **9.3. Definición y estructura**

El LTA es un componente único de la pared celular de las bacterias Gram-positivas, es un polímero de glicerol-fosfato que contiene azúcar y dos grupos acilo, estos últimos le confieren la propiedad de anclarse en la membrana celular (Fig.36). Una forma no acetilada del LTA es el ácido teicoico, que está unido covalentemente al peptidoglucano de la pared celular de las bacterias Gram-positivas. Desde 1993, el LTA se extrae con fenol seguido de una cromatografía de interacción hidrofóbica. La purificación del LTA permitió determinar cómo se activan las células inmunes y estudiar el papel que tiene esta molécula en la síntesis de citocinas (21,22).

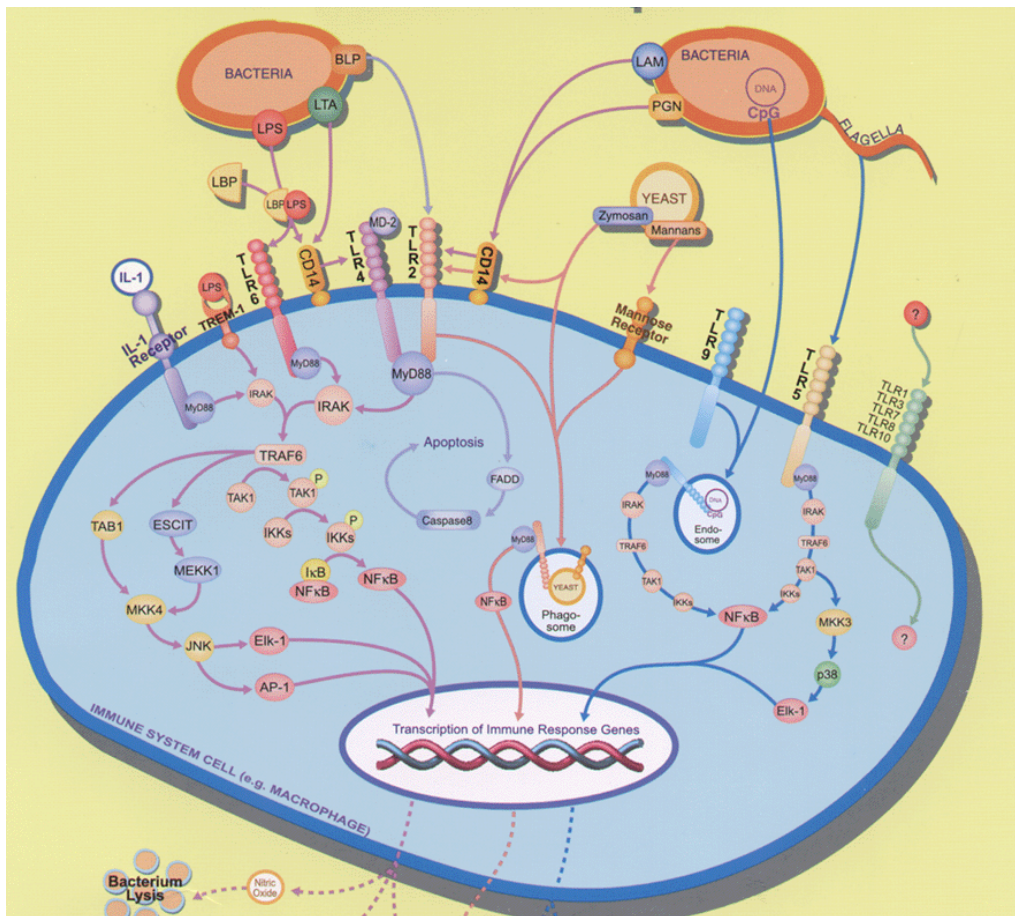


**Fig.36. Ácido Lipoteicoico y peptidoglucano.** Esquema de la estructura y localización del ácido lipoteicoico y peptidoglucano en una bacteria Gram-positiva.

#### 9.4. Receptores

A finales del siglo veinte se encontró que los receptores semejantes a Toll se activaban en defensa contra las infecciones por hongos en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*; organismo que solamente tiene inmunidad innata. En ese año Tagushi descubrió el primer TLR en humanos al que denominó TIL y que actualmente corresponde al receptor TLR1. Un año después se descubrió un homólogo del receptor Toll en mamíferos (actualmente denominado TLR4) y se mostró que la activación del receptor inducía la expresión de genes involucrados en respuestas inflamatoria. Después de la caracterización del primer receptor tipo Toll (TLR) se identificaron diversas proteínas que estructuralmente estaban relacionadas con TLR4. Actualmente los TLR comprenden una amplia familia conformada por al menos 11 miembros (Fig. 37). Los receptores TLR 1-9 están conservados en humanos y ratón. Sin embargo TLR10 es funcional en humanos y el TLR 11 en ratón (23).

Los receptores Toll son proteínas transmembranales con un dominio extracelular que contiene una región de repeticiones de leucina y un dominio intracelular homólogo al receptor de interleucina 1 denominado Toll/receptor IL-1 (TIR).



**Fig. 37. Receptores tipo Toll y las vías de señalización que activan.** Los TLR que comprenden la clase de RRP expresados en la superficie celular, activan vías de señalización que inducen respuestas efectoras antimicrobianas y de inflamación al reconocer los PMAP.

R.E.33

El receptor TLR2 reconoce una gran variedad de componentes microbianos. Entre los que se encuentran las lipoproteínas y lipopéptidos de varios patógenos, peptidoglucano y ácido lipoteicoico de bacterias Gram-positivas, lipoarabinomanano de micobacteria y glucolípidos de *Treponema mLTApophilum* (24).

Los receptores TLR2 reconocen un amplio rango de productos bacterianos debido a la cooperación con diversas proteínas. Se ha demostrado que forma heterodímeros con otros TLRs como TLR1 y TLR6 los cuales estructuralmente están relacionados con TLR2. De igual forma colabora con distintos tipos de receptores como dectina-1, receptor de la familia de las lectinas para  $\beta$ -glucano componente de la pared celular de hongos. Los receptores TLR2 responden a diversos productos bacterianos como lipoproteínas y peptidoglucanos (24).

En células humanas el TLR2 se expresa predominantemente en monocitos, macrófagos, neutrófilos, células T y células B. Sin embargo, otros tipos de células sintetizan RNA mensajeros para TLR2 y otros tipos de TLR. La expresión y actividad de TLR para la activación de señales de transducción es regulada MD-1 y MD-2. El receptor CD14 actúa en concierto con TLR4/MD-2 para iniciar las respuestas a lipopolisacárido. Los peptidoglucanos se asocian a CD14 y cuando se bloquea este receptor se inhibe la señalización inducida por LTA lo que sugiere que CD14 está involucrado en el reconocimiento de bacterias Gram-positivas. También se ha demostrado que el sitio de reconocimiento entre el LTA y los receptores TLR2 es por la región de los carbohidratos (25).

### **9.5. Vías de Transducción de señales intracelulares**

Las respuestas desencadenadas por las señales de transducción incluyen la regulación de la expresión génica, la regulación de vías metabólicas y la locomoción celular.

Los componentes que contribuyen al proceso de señalización intracelular y que estimulan el crecimiento, muerte y división celular tienen importancia médica cuando se intenta aislar los factores causales de cánceres y muerte celular.

Existe un grupo de cinasas que han sido implicadas en las vías de señalización intracelular y que tienen efectos en la muerte y longevidad celulares. Las proteínas cinasas más destacables relacionadas con este tema, son algunas MAP Kinasas: ERK1/2, p38 y JNK, (Las MAP kinasas son "proteínas cinasa activadas por mitógenos", un mitógeno es un inductor de proliferación y diferenciación celular) y otras proteínas como AKT, GSK3 y PI3-k (26).

#### **Cascadas de señalización**

Después del reconocimiento entre TLR2 y el LTA se produce un amplio espectro de señales intracelulares como la activación de la familia de MAPK, proteína cinasa B (PKB) y de la cinasa I $\kappa$ B (IKK). El incremento en la actividad de estas cinasas consecuentemente activa a diversos factores de transcripción como NF- $\kappa$ B (p50 y p65), Jun/Fos, factor de activación de transcripción (ATF), factor de respuesta a suero (SRF), proteína semejante a Ets (ELK), proteína de unión y aumento de CCAAT (C/EBP) y la proteína de fijación del elemento de respuesta a AMP cíclico (CREB). El primer evento que inicia la cascada de transducción consiste en la co-localización y agrupamiento de receptores y señales de transducción en la membrana plasmática (27).

En respuesta al tratamiento con *Streptococcus B*, los receptores TLR2, TLR6 y CD14 se agrupan y la primera molécula intracelular reclutada por el complejo es

el factor de diferenciación mieloide (MyD88) el cual recluta y activa a la cinasa asociada al receptor de interleucina-1 (IRAK). IRAK forma multímeros que se autofosforilan y reclutan grandes complejos consistentes en el factor activado por el receptor a TNF (TNF/TRAF6), cinasa activadora del factor de crecimiento transformante  $\beta$ -1 (TAK1), proteína de asociación a TAK1 (TAB1) y TAB2.

IRAK 4 fosforila a IRAK1, esta fosforilación es indispensable para la activación de la transducción de señales, recientemente se ha descrito que la forma IRAK-M actúa como inhibidor. Así mismo, la activación de TAK1 promueve su liberación del complejo y de esta forma activa a IKK $\beta$  y a MAP cinasa cinasa (6/MKK6). La cinasa inductora de NF- $\kappa$ B (NIK) se requiere para la activación de la cinasa de I $\kappa$ B (IKK $\beta$ ) que promueve la fosforilación, ubiquitinación y degradación en el proteosoma 26S de I $\kappa$ B y la translocación de NF- $\kappa$ B al núcleo. La proteína cinasa MAP- $\beta$  (MKK $\beta$ ) es responsable de la activación de las MAPK, p38 y la cinasa terminal N-JUN (JNK) (28).

En presencia de la proteína adaptadora denominada intermediario conservado evolutivo de la vía de Toll (ECSIT) y MEK cinasa (1/MKK1), TRAF6 puede activar a ERK 1/2. Sin embargo, ERK 1/2 también puede activarse por un mecanismo independiente de TRAF6, que involucra a la forma atípica de PKC la PKC $\zeta$  que está asociada a la acumulación de ácido fosfatídico, lo que conlleva a la activación de ERK 1/2. Finalmente, se ha demostrado también la activación de fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) de una manera dependiente de PKB lo que conduce a la activación de NF- $\kappa$ B (29).

## 8.6. Vía de PI3-K-AKT

La vía de transducción denominada fosfoinosítido 3-cinasa es crucial en una amplia gama de procesos fisiológicos divergentes entre los que se incluyen el progreso del ciclo celular, la diferenciación, transcripción, traducción y apoptosis. Cuando la vía se activa se produce una alteración en la proliferación celular y en la apoptosis lo que garantiza la proliferación de células tumorales. Aunque a la fecha no se conoce con certeza como la sobre regulación de esta vía es un factor importante en el tratamiento antineoplásico (29).

### AKT

La proteína cinasa B o AKT es una cinasa de tipo serina/treonina, la cual en mamíferos comprende tres miembros altamente homólogos conocidos como AKT1 (PKB  $\alpha$ ), AKT2 (PKB  $\beta$ ) y AKT3 (PKB  $\gamma$ ) (30,31). AKT es una proteína cinasa que se expresa de manera ubicua y un homólogo de esta proteína es el factor viral transformante del oncogene v-AKT que ocasiona linfoma de células T en murinos. (32). De las diferentes isoformas AKT 1 y AKT 3 expresan abundantemente en varios tejidos.

El knockout de las isoformas de AKT ha permitido esclarecer su importancia biológica en las células sanas. Por ejemplo el knockout de AKT2-nulo en ratón ocasiona el desarrollo de diabetes tipo II, esto es porque en el hígado AKT juega un importante papel en la translocación de las moléculas transportadoras de glucosa (Glut-4). Por otra parte el knockout de AKT-1 y AKT-3 provoca que los ratones presenten disminuido su talla, tamaño de órganos y falta de desarrollo del cerebro (33,34).

Esta enzima es regulada por factores de crecimiento que contiene un dominio homólogo de plekstrina que interactúan con productos lipídicos fosforilados de PI3K como PtdIns (34) P2 que se sintetizan en la membrana. La translocación de AKT en la membrana resulta en un cambio conformacional que permite la activación del "loop" de la cinasa para ser fosforilada en Thr 308 por la proteína cinasa dependiente de fosfoinosítido-1 (PDK-1), la cual también requiere lípidos de inositol 3-fosforilados para la activación y translocación a la membrana plasmática) y en Ser 473 en la porción hidrofóbica del carboxilo terminal por la cinasa denominada PDK2. Cuya identidad no ha sido dilucidada un candidato de la forma PDK-2s incluya la cinasa asociada a integrina, la proteína cinasa dependiente de DNA y las proteína activada por mitógeno cinasa-cinasa 2.

Los sitios de fosforilación de AKT2 son Thr309 y Ser 474, mientras que de AKT1 son Thr 305 y Ser 472. Evidencias recientes señalan que la fosforilación de Ser 473 precede a la Thr 308.



Así mismo, se ha mostrado que la fosforilación adicional de AKT incrementa su activación entre los que incluyen sitios de fosforilación en residuos de tirosina, de igual forma en Ser 129 por la cinasa de caseína pero la relevancia de estos eventos de fosforilación no ha sido elucidados. La forma fosforilada de AKT migra al núcleo en donde tiene un importante rol antiapoptótico.

En resumen la actividad de AKT es modulada por una compleja red de proteínas regulatorias que interaccionan con el dominio PH o el dominio cinasa o el dominio carboxilo terminal. Una de las proteínas que regulan esta fosforilación es la proteína de choque térmico-90 (HSP-90) esta es una proteína chaperon que forma complejos con la co-chaperona Cdc37. Este complejo se asocia a una amplia variedad de proteínas entre las que incluyen cinasas a tirosina y cinasas de serina y treonina (34). La proteína HSP-90/Cdc37 interactúa con el dominio cinasa de AKT. Por lo que pequeñas moléculas que interfieren con esta interacción representan drogas para bloquear la función de AKT.

La vía de PI3K/Akt puede ser sobre regulada por muchas formas de estrés celular como el choque térmico, disminución en pH, luz ultravioleta, isquemia, hipoxia, estrés oxidativo e hipoglucemia (35). La sobre regulación de PI3K/AKT en el estrés oxidativo actúa como una señal compensatoria para escapar de la muerte.

### **9.6.1. Regulación negativa de la vía PI3K -AKT**

Como los inosítidos 3-fosfato no son hidrolizados por fosfolipasas C se ha caracterizado una contra regulación por fosfatasas. Los que permiten el control de la vía son las proteínas PTEN (fosfatasas y homólogos de TEN no detectados en el cromosoma 10) la especificidad dual de lípidos y proteínas fosfatasas que remueven de forma preferencial el 3-fosfato principalmente de PtdIns P3 y también de PtdIns (34) P2 promueve la antagonización de la vía PI3K/AKT. Mutaciones inactivantes de PTEN promueven el desarrollo de múltiples formas de cáncer (como glioblastoma, melanoma, cáncer protático y de endometrio). PTEN es un supresor de tumores que actúa por encima de AKT (36).

Existen otras dos fosfatasas SHIP-1 y SHIP-2 ( fosfatasas de inositol que contienen dominios SH) que son capaces de remover el 5-fosfato de PtdIns (34,35)P3 para formar PtdIns (34) P2 (37) mientras que SHIP-1 se expresa principalmente en células hematopoyéticas y SHIP-2 es expresa de forma más ubicua.

Sin embargo, el papel que tienen estas fosfatasas en el funcionamiento de AKT no se comprende del todo y en algunos casos no pueden revertir la activación de AKT (37).

La proteína fosfatasa 2A (PP2A), que actúa como un oncosupresor (38) y es capaz de defosforilar "down" regular a Akt (39,40). Publicaciones recientes señalan que la fosfo-Ser 473 de AKT es defosforilada por PP2C (41).

La unión de los productos de la cinasa fosfatidilinositol 3-OH al dominio homólogo de plekstrina provoca la traslocación de AKT a la membrana citoplásmica donde es activada mediante la fosforilación de otras cinasas como PDK1. Esta proteína tiene papeles importantes en el metabolismo de la glucosa, proliferación celular, apoptosis, transcripción y migración celular. AKT tiene papel importante en la activación de: p38, ERK12 y factores de transcripción como NF $\kappa$ -B.

### **PI3-K**

Esta enzima está compuesta por una subunidad reguladora (p85) y una subunidad catalítica (p110). La activación de PI3K por factores de crecimiento induce fosforilación de fosfoinosítidos en posición 3 del anillo de inositol. Aunque la mayoría de los estudios hasta la fecha se han llevado a cabo con una isoforma, existen distintas subunidades reguladoras y tres catalíticas (p110  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ ). Además existe una forma de PI3K, p110  $\gamma$  que se activa por receptores acoplados a proteínas G. A la fecha se han caracterizado tres clases de esta enzima que se designan como I, II, III cada una de las cuales tiene características propias (42).

Clase I son las más estudiadas y mejor comprendidas participan en múltiples vías de señalización intracelular y son activadas en respuesta al estímulo de factores de transcripción la activación de esta clase de enzima puede ser por el estímulo directo del ligando vía cinasas asociadas a tirosina, por proteínas heterotriméricas G o por Ras.

El sustrato de esta enzima es el fosfatidilinositol 4,5 bifosfato (PtdIns (34,35) P2), el cual al ser fosforilado rinde fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PtdIns (33-35) P3). La PI3-K clase I se divide en clase IA y IB .

La clase IA está compuesta de heterodímeros una adaptador/regulatorio (p85 y p55) y una subunidad catalítica (p110). Se han caracterizado al menos 7 proteínas adaptadoras/reguladoras que son generadas por expresión y procesamiento alternativo de 3 diferentes genes (denominados Pik3r1, Pik3r2 y Pik3r3), mientras que de p110 se han identificado tres isoformas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  , que codifican en tres diferentes genes PI3KCA, PI3KCB y PI3KCD. Las unidades adaptadoras regulatorias actúan en la localización PI3-K en la membrana mediante la interacción de los dominios de homología Src-2 (SH2) con los residuos de fosfotirosina en receptores activos (43).

La clase IB PI3K o PI3K  $\gamma$  está conformada por la subunidad catalítica p110 $\gamma$  y la subunidad reguladora p101 que no guarda ninguna relación con p85. Cabe destacar que esta cinasa es regulada por proteínas G heterotriméricas y Ras y su sobre regulación es importante en el desarrollo de procesos inflamatorios. (44)

La activación de PI3K está implicada en la transducción de señales que permiten la expresión de iNOS y la liberación de NO por LTA.

Las vías de PI3K y AKT se han visto implicadas en el proceso de quimiotaxis y en la generación de superóxido en respuesta a la atracción de proteínas G acopladas a receptores. Además se ha demostrado que AKT regula la transcripción de NF $\kappa$ -B en neutrófilos estimulados vía TLR2 a través de la fosforilación de la subunidad p65 (43).

La cinética y la magnitud de activación de AKT es diferente cuando se activan a los neutrófilos vía TLR2 y TLR4. Esto resulta importante para determinar las diferentes respuestas de neutrófilos a los agonistas de los TLR

La cinasa PKB que es activada a través de la vía de PI3K, así como la actividad de JAK-2 están involucradas en la inducción de IL-6 e IL-10, mientras que las cinasas de la familia Src participan en la expresión de TNF $\alpha$  (42-44).

### **9.6.2. Blancos antiapoptóticos de la vía PI3K-AKT.**

AKT es una cinasa involucrada en promover la supervivencia celular ante eventos apoptóticos. En la actualidad es claro que AKT incrementa la supervivencia mediante la fosforilación de proteínas claves en cascadas apoptóticas. AKT fosforila a Bad, un miembro proapoptótico de la familia Bcl-2, en la serina 136. Este evento de fosforilación promueve el secuestro de Bad por las proteínas 14-3-3 en el citoplasma, previniendo de esta forma que interactúe con Bcl-2 o Bcl-X<sub>L</sub> en la membrana mitocondrial. El efecto final es la inhibición de la apoptosis (94). El tratamiento con el inhibidor de PI3K el LY294002 reduce la fosforilación de Bad en la serina 136 y de esta forma se promueve la apoptosis. Lo que sugiere que la fosforilación de Bad es un elemento clave en prevenir la apoptosis.

Resultados similares se obtienen con el papel de AKT sobre la fosforilación de la proteína asociada Yes, cuya fosforilación por AKT conduce a la represión de p73 factor de transcripción relacionado con p53 y con la disminución en la expresión de la proteína proapoptótica Bax.

Por otra parte, la cinasa amino terminal c-Jun/ proteína cinasa activada por stress (SAPK/JNK) es un importante mediador de la apoptosis en células expuestas a una gran variedad de estímulos nocivos (95). AKT interfiere con la

señalización SAPK/JNK fosforilado a ASK1, una proteína cinasa que transduce señales a SAPK/JNK (96).

De igual forma Skt promueve la fosforilación del factor nuclear Mdm2, una ubiquitin ligasa E3 que media la ubiquitinilación y degradación dependiente de proteosoma de la proteína supresora de tumores p53 (97,98) y de esta forma regula p53 y antagoniza los efectos de p53 sobre el punto de control del ciclo celular. AKT también afecta a factores que promueven la expresión de genes de muerte y regula positivamente aquellos que intervienen en la supervivencia. Un ejemplo es FoxO (98). La fosforilación de FoxO por AKT altera la localización intracelular. En ausencia de activación de AKT, FoxO se localiza en el núcleo donde promueven la transcripción de genes blanco pro-apoptóticos como ligando Fas (Fas-L) y Bim.

La activación de PI3K/AKT promueve la exportación nuclear de estos factores de transcripción. En el núcleo, fosfo-FoxO interactúa con las proteínas 14-3-3, que sirven de chaperona para escoltarlos en su salida del núcleo. Una vez en el citoplasma son degradados por la vía de proteosoma-ubiquitina (99,100). La fosforilación del factor FoxO requiere de su localización intranuclear por AKT activa (101). AKT es capaz de sobre regular al factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), un factor de transcripción involucrado en la regulación de la proliferación, apoptosis y supervivencia (102,103). La actividad promotora de la supervivencia de NF- $\kappa$ B está mediada por la habilidad para inducir la expresión de proteínas antiapoptóticas incluidas cIAP-1 y -2, XIAP, c-FLIP y TRAFs, que se oponen a la activación de caspasas. Miembros de la familia de NF- $\kappa$ B forman dímeros (clásicamente heterodímeros de p65 con p50) que, en condiciones no estimuladas, son retenidos en el citoplasma. La función de NF- $\kappa$ B es regulada por la asociación con el factor inhibitorio I- $\kappa$ B, que secuestra a NF- $\kappa$ B. La fosforilación de I- $\kappa$ B por IKK promueve su degradación vía ubiquitina-proteosoma. De esta forma NF- $\kappa$ B se transloca al núcleo y promueve la expresión génica (104). Akt fosforila directamente a IKK $\alpha$  (105)

La proteína p27Kip1 es un blanco de AKT, funciona como un inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina (ck)2, responsable de la activación del factor de transcripción E2F1 que promueve la replicación del ADN (106,107). Cuando Akt fosforila a p27Kip1 en la Thr 157, se localiza en el citoplasma y no puede realizar sus funciones. Así mismo los niveles de Ciclina D1 son también regulados por AKT. Este evento es mediado por la inhibición de la enzima glucógeno sintasa cinasa 3 $\beta$  (enzima que de manera curiosa tiene un funcionamiento dual ya que participa en el metabolismo de carbohidratos y como transductor de señales), fosforilación de ciclina D1 por GSK3 $\beta$  resulta en su desensibilización (108).

Sin embargo, incrementos en la fosforilación tiene como consecuencia la exclusión del núcleo de factores como FoxO porque estos factores en el núcleo

sobre regulan la expresión de tres genes blanco que promueven el arresto G1/S tales como p27Kip1, p21 Waf/Cip1 y el miembro de la familia de retinoblastomas p130 (12-128). De esta forma los factores FoxO promueven el arresto del ciclo celular reprimiendo de esta forma la expresión de ciclinas D1 y D2, dos posibles reguladores del ciclo celular (109,110)

La vía PI3K/AKT participam en el metabolismo, el blanco en mamíferos de rapamicina (mTOR) es una cinasa de actividad serina/treonina que regula la traducción en respuesta a factores de crecimiento fosforilando componentes de la maquinaria de la síntesis de proteínas incluidas la cinasa p70S3 (p70S6K, una cinasa cinasa ribosomal) y la proteína de unión (4EBP)-1 del factor de iniciación eucariótico (eIF)-4E, que permite a eIF-4E participar en ensamblaje de complejo de inciación de la transcripción (111). mTOR actúa como un sensor de control que informa a las células si tienen suficientes nutrientes para que prosigan con el ciclo celular (112). De esta forma mTOR regula una variedad de pasos involucrados en la síntesis de proteínas, pero en particular favorece la producción de moléculas como c-Myc, ciclina D1 y proteínas ribosomales p70S6K (134) que puede ser directamente activada por PDK-1, que fosforila la proteína ribosomal 40s la S6 lo que promueve la transcripción (113,114). Otro importante sustrato de AKT por sus funciones metabólicas es GSK3 $\beta$ , que fosforila e inactiva a la enzima glucógeno sintasa en respuesta al estímulo con insulina. Cuando AKT fosforila a GSK3 $\beta$  en Ser 9 esta enzima es "downregulada".

Esta enzima está implicada en la señalización de la vía Wnt, ligando para el receptor transmembranal "frizzled". La estimulación de Wnt conduce a que la proteína  $\beta$ -catenina se transloque al núcleo e interactúe con genes que regulan el desarrollo embionario y la proliferación celular (115). La fosforilación de  $\beta$ -catenina por GSK-3 $\beta$  en la región amino terminal conduce en su ubiquitinación y degradación proteosomal.

En resumen Akt inactiva a GSK3 $\beta$  por fosforilación, promoviendo de esta forma una acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo en donde promueve la transcripción de c-Myc y ciclina D1.

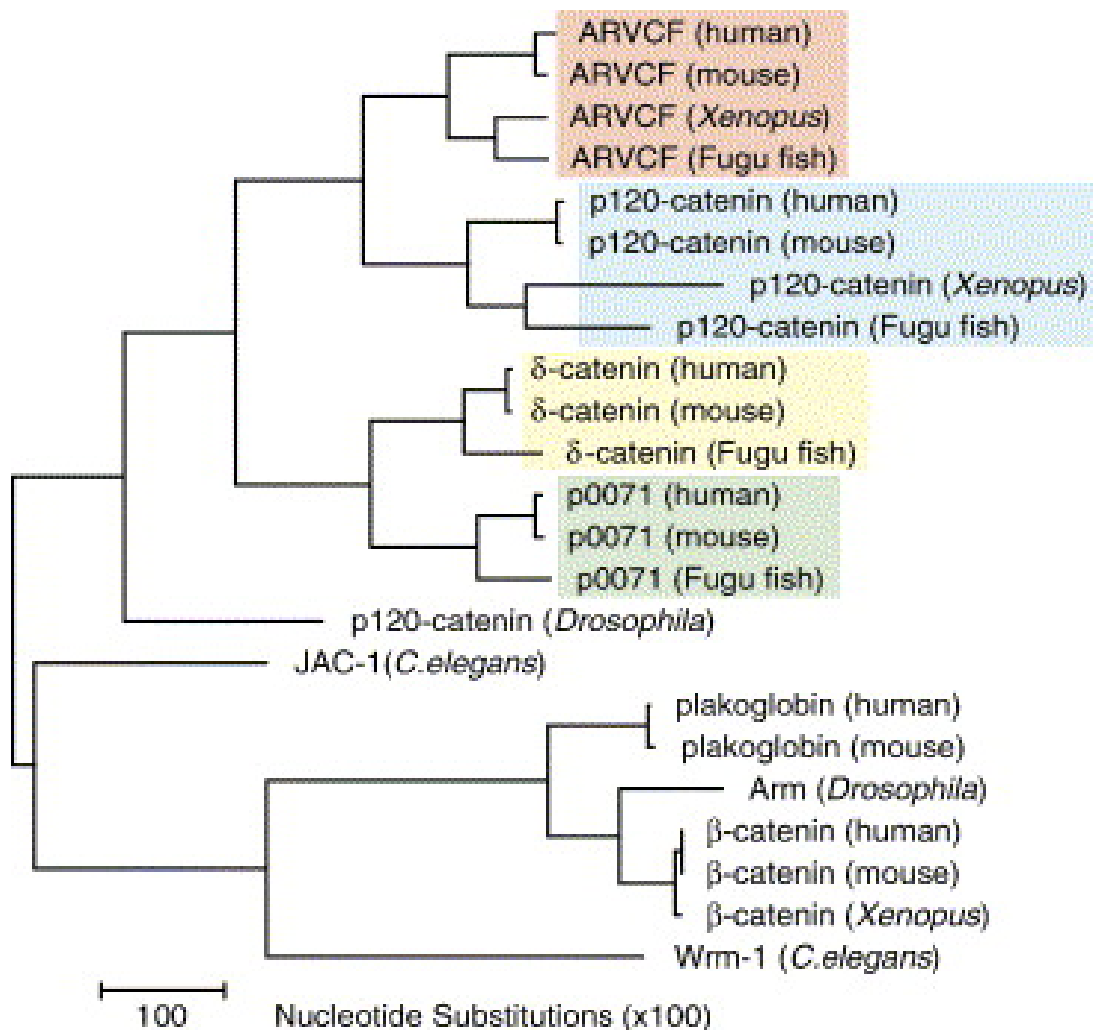
### **GSK-3 $\beta$**

Esta enzima fue inicialmente descubierta como una cinasa involucrada en la regulación del metaboiismo de gluosa y posteriormente como una molécula que participaba en la vía wnt/wingless. En mamíferos, existen dos isoforma cercanamente relacionadas GSK3 $\alpha$  y GSK3 $\beta$  (45). La isoforma GSK3 $\beta$  se expresa ampliamente, la hormona insulina incrementa la actividad de la vía PI3K/Akt y de esta forma mediante la fosforilación en Ser9 regula la inhibición de GSK3 $\beta$  y también por fosforilación en Ser21 a la GSK3 $\alpha$  (46). Interesantemente esta enzima es muy activa cuando se fosforila en Tyr216 (47).

## $\beta$ -Catenina

Estas proteínas contienen dominios Armadillo que las agrupan en tres subfamilias de la siguiente composición: p120, ARVCF,  $\delta$ - y p0071-cateninas ( subfamilia catenina p120); placofilinas 1—3 ( subfamilia placofilina); y  $\beta$  y  $\gamma$  cateninas ( subfamilia de las  $\beta$ -cateninas) (48,49).

Dependiendo de los factores células, fisiología y estados patológicos formas particulares de cateninas se presentan en menor o mayor nivel (50-53) (Fig. 38)

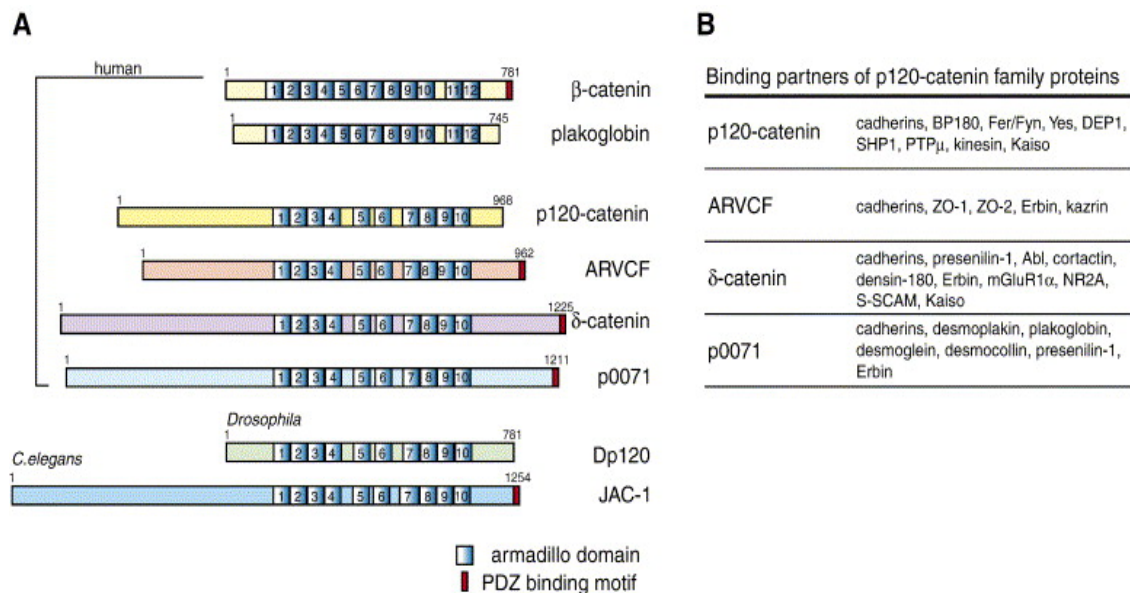


**Fig. 38 Comparación de la secuencia de la familia de las proteínas cateninas.** Filogenética y análisis de evoluciónn molecular de las secuencias de aminoácidos de las secuencias seleccionadas de la familia de proteínas catenina (  $\beta$ -catenina, pllacoglobina, p120-cateina, ARVCF,  $\delta$ -cateina, p0071) de varias especies (humano, ratón, *Xenopus laevis*, pez fugu, *Drosophila* y *C. elegans*) el modelo se obtuvo por el programa Mega versión 3.1.

$\beta$ -catenina, comparte propiedades estructurales con miembros de la sub-familia p120. (Fig. 39 )

La vía de señalización Wnt funciona sobre  $\beta$ -catenina en la expresión de genes que regulan el metabolismo y la en la exportación e importación nuclear (54-61).

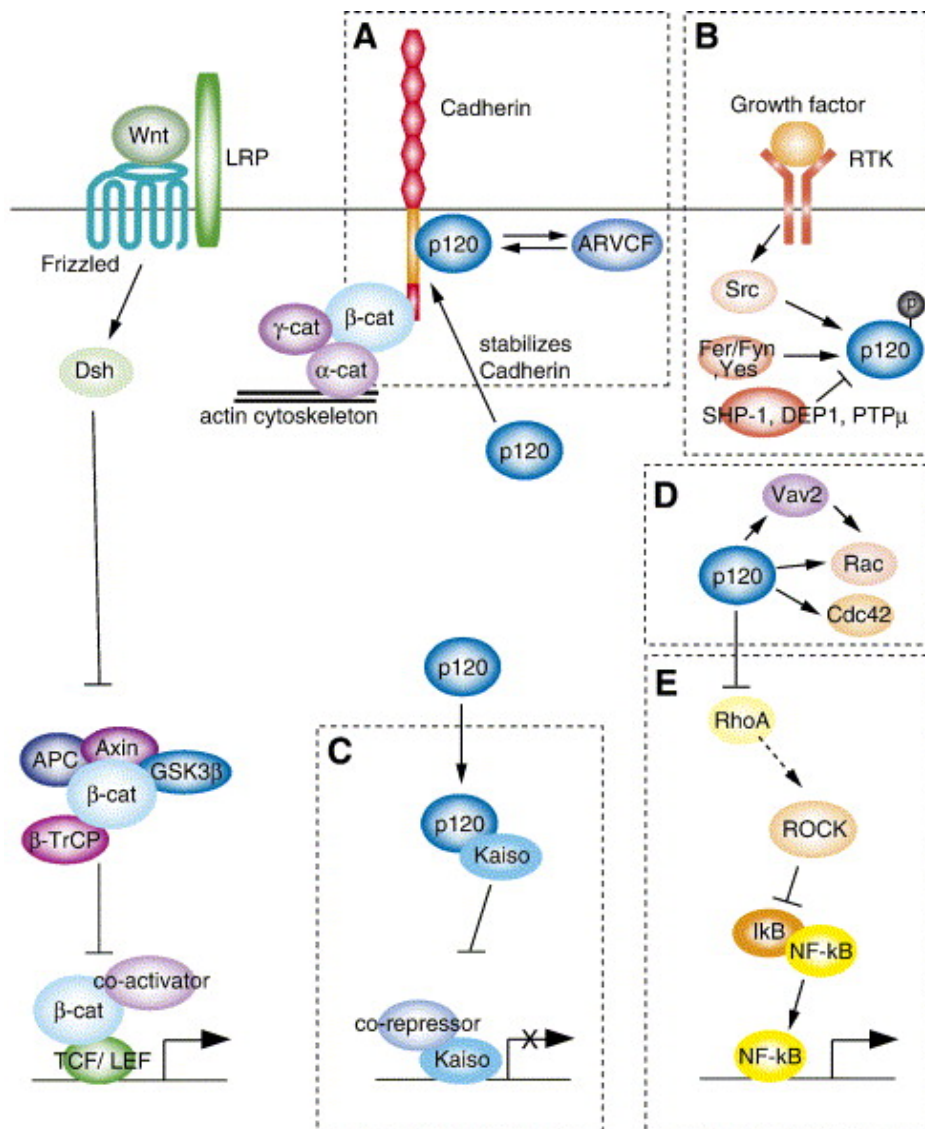
Por otra parte se ha caracterizado que procesamiento alterantivo de los miembros de la subfamilia p120-catenina que se regulan por cadherinas y por factores de creimiento regulan diferentes respuestas intracelulares



**Fig 40. Representación estructural de la familia de las proteínas de catenina.**

A) Secuencias alineadas de acuerdo a su dominio repetido Armadillo y su organización en humano ( beta-catenina, p120-catenina, ARVCF,  $\delta$ -catenina y p0071), con los invertebrados p120-catenina (Drosophila Dp120, y C. elegans JAC-1)-.  $\beta$ -catenina ( o  $\gamma$ -catenina/placoglobina) contiene 12 de estos dominios, la familia p120 contiene 10 que son más divergentes en las regiones carboxilo y amino. Los motivos tipo I PDZ son dominios de asociación (X-S/T-X- $\Phi$  donde  $\Phi$  representa un aminoácido hidrofóbico) etán presentes en el carboxilo terminal de algunas pero no todas las proteínas p120. B) Lista de las proteínas que directa o indirectamente se asocian con la subfamilia p120. La asociaciones se producen en el dominio Armadillo o en el motivo PDz.

Las cateninas comparten propiedades que incluyen asociaciones en el tallo citoplasmático de miembros de la super familia de las cadherinas(62-66) (Fig. 41)



**Fig. 41. Mecanismo de Señalización e interacción de las p-120 cateninas.**

A) La asociación de p120 con cadherina. P120-catenina se asocia la región juxta-membranal de cadherina en dominios intrecelulares y contribuye a la estabilización metabólica del complejo cadherina-catina. B) P-120-cateína actúa directa o indirectamente por proteínas cinasas o fosfatasas. Los eventos de fosforilación/desfosforilación modulan las interacciones y localización intracelular de miembros de la subfamilia p120. C) P120-catenina modula GTPasas de bajo peso molecular. P120-cateína indirectamente activa Rac1 ( y posiblemente a Cdc42) a través de Vav2, mientras que p120 inhibe a RhoA. D) p120-catenina es un regulador que actúa por encima del represor de transcripción Kaiso. P120 interactúa con Kaiso, interfiriendo con la asociación Kaiso:Promotor DNA y secuestrando a Kaiso en el citoplasma. E) P120-catenina en la transducción de NF-κB. La inhibición de la actividad de RhoA por p120-catenina es seguida de la inactivación de la señal de NF-κB. En el margen izquierdo de la imagen se muestra la cascada de señalización Wnt/β-catenina, que comprende una amplia familia de mediadores y moduladores. En resumen el ligando Wnt con el complejo co-receptor Frizzled/LRP los que resulta en la estabilización de β-cateína, la entrada al núcleo y la asociación con TCF/LEF para liberar de esta forma la represión génica.



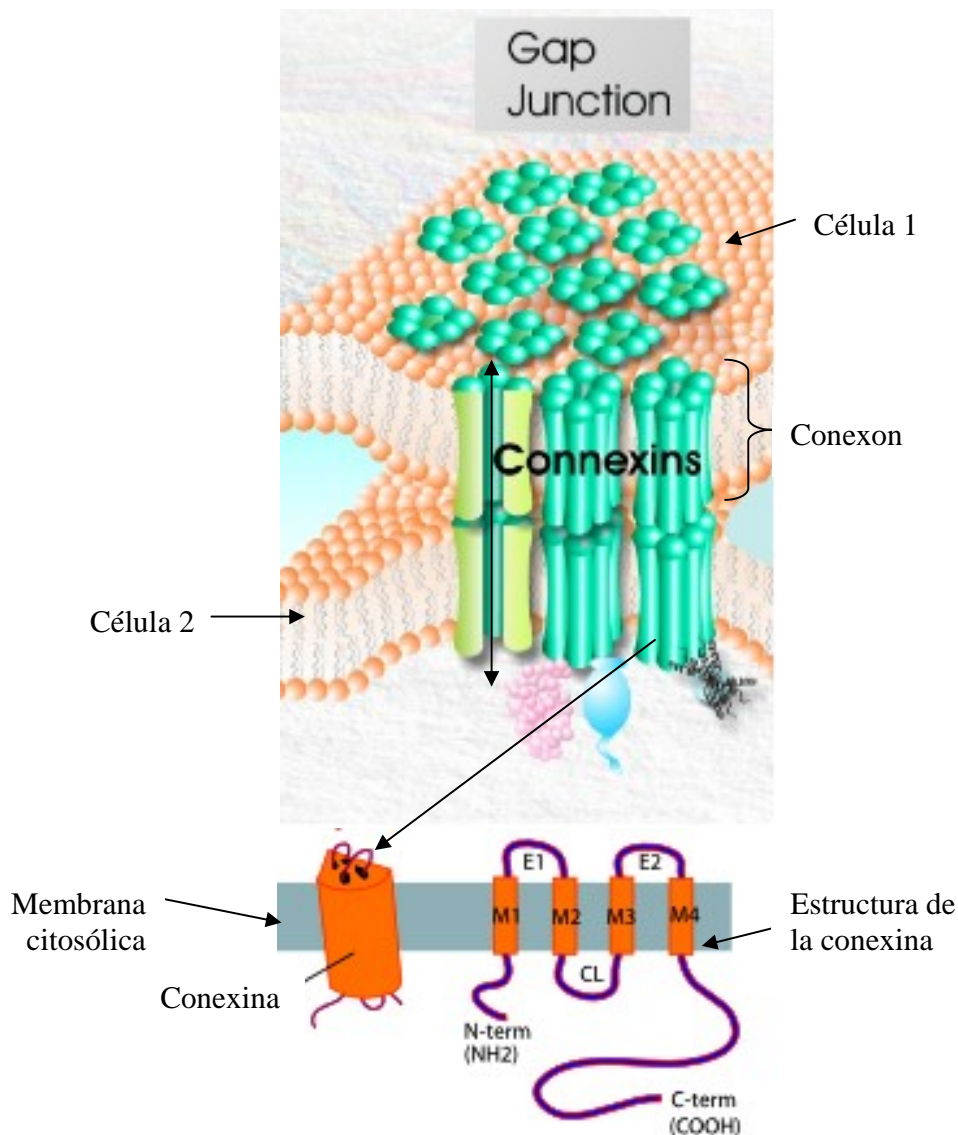
$\beta$ -catenina es el principal transductor de señales intracelulares de la cascada Wnt. En este contexto  $\beta$ -catenina se estabiliza seguida la asociación Wnt con los receptores transmembrales Frizzled y LRP, resultando en la entrada de beta-catenina en el núcleo y su asociación con la familia de represores TCF/LEF.

Beta-catenina se asocia también con cadherinas en la membrana plasmática (67,68) lo que permite de adhesión de cadherina, motilidad y las interacciones dinámicas entre cadherina-actina (69-76). Las cadherinas actúan junto con las moléculas de adhesión nectina (77,78) y moléculas de señalización como receptores a tirosina (79-84)

La familia LAR, otras fosfatasa y GTPasas de la familia Rho (85-88) regulan eventos como polarización y morfogénesis así como la organización del citoplasma con cateninas. Las cadherinas son un ejemplo de interacciones adhesivas entre las células, las señales de transducción entre célula-célula y la promoción y mantenimiento de la polarización celular.

### **9.7. Expresión génica : Conexina-43**

Son miembros de una amplia familia de proteínas integrales de membrana que participan en la formación de uniones estrechas. Estas estructuras, que permiten la comunicación intracelular, coordinan la actividad celular en diversos órganos como cerebro, corazón, riñón y células vasculares endoteliales. Estas proteínas están formadas por cuatro dominios hidrofóbicos, transmembranales (M1 – M4), dos asas extracelulares (E1 – E2) y tres dominios citoplasmáticos entre los que se incluyen al asa intracelular y los dominios del carboxilo terminal. (Fig. 42)



**Fig. 42. Representación esquemática de las conexinas en las uniones estrechas.**

Cada canal intracelular o unión estrecha provee de un canal axial (flechas dobles) que interconectan al citoplasma con las células adyacentes. Hemi-canales o conexons están formados de seis subunidades Cx. Una subunidad Cx exhibe cuatro dominios transmembranales (M1 – M4), dos asas extracelulares (E1 – E2) y tres dominios citoplasmáticos entre los que incluyen el asa intracelular del extremo amino y carboxilo.

Las conexinas permiten el intercambio directo de moléculas con masas por encima de 1 kDa como precursores metabólicos, nutrientes y segundos mensajeros (IP3) de célula a célula. Lo cual es esencial para asegurar las homeostasis celular y están involucradas en diferentes actividades celulares entre las que se incluyen la cooperación metabólica, eléctrica y mecánica de la contracción y regulan también desarrollo y diferenciación.

## 9.8. Las endotoxinas y la activación de la vía de PI3K-AKT

Los lipopolisacáridos (LPS) son endotoxinas que se encuentran en la membrana externa de las bacterias Gram-negativas y es el principal agente causante de la sepsis. Es un potente inductor de monocitos y macrófagos que son clave en la respuesta innata. La estimulación de las células con LPS resulta en la activación de cascadas de transducción y en la síntesis y liberación de citocinas y otros mediadores inflamatorios lo que en conjunto constituye la respuesta pro-inflamatoria. Mientras que la respuesta pro-inflamatoria es crucial para la efectiva depuración de los patógenos, los mediadores inflamatorios cuando se expresan de forma crónica inducen daños en los tejidos.

Los LPS producen mediadores pro-inflamatorios mediante el complejo CD14-TLR-4-MD-2. La asociación de LPS con este complejo ocasiona la homodimerización de TLR4 y la asociación de proteínas adaptadoras MyD88 y Mal con TLR4. Esto provoca el reclutamiento de la cinasa asociada a IL-1R (IRAK-1). En estos eventos se activa la señalización de las MAPKs, NF- $\kappa$ B y AP-1 lo que promueve la transcripción.

PI3K es una enzima activada en respuesta a LPS, cuya activación puede regular eventos anti-inflamatorios y un incremento en la síntesis de TNF- $\alpha$ .

Pero en fechas recientes ha cobrado relevancia una componente de las paredes celulares de bacterias Gram-positivas el ácido lipoteicoico como un importante patógeno y en fechas recientes (89) se ha mostrado en esta toxina puede activar a la fosfolipasa C-fosfatidilcolina y fosfolipasa C-fosfoinosítido para inducir la activación de la proteína cinasa C que a su vez activa a NF- $\kappa$ B los que ocasiona la liberación de óxido nítrico en macrófagos. El ácido lipoteicoico activa la vía PI3K/AKT en macrófagos lo que resulta en la activación de NF- $\kappa$ B y expresión de la enzima óxido nítrico sintasa en un evento mediado por p38.

Las respuestas celulares y humorales que se clasifican en primarias, secundarias y terciarias. Las respuestas primarias son mediadas por citocinas proinflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1); los mediadores proinflamatorios secundarios como interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8) son inducidos por TNF e IL-1; por último, los mediadores terciarios comprenden factores diferentes como las proteasas, factores de coagulación, cininas, eicosanoides, óxido nítrico entre otros (59-62).

Existe evidencia reciente que sugiere que no solo los mecanismos proinflamatorios contribuyen a la muerte y falla de órganos sino que existen mediadores antiinflamatorios que también tienen efectos importantes en el sistema inmune del hospedero. Los mediadores anti-inflamatorios inducen un estado de inmunosupresión durante la sepsis (inmunoparálisis). Este estado de inmunoreactividad deprimida está acompañada por LTA los niveles de citocinas

anti-inflamatorias como la interleucina-10 (IL-10) y el receptor antagonista de la interleucina 1 (IL-1 ra). Los síntomas de inmunosupresión comprenden una disminución en el número de monocitos circulantes (54).

Las respuestas pro y anti inflamatorias al mismo tiempo contribuyen a la sepsis por toxinas bacterianas. Además todos los genes que codifican proteínas implicadas en las respuestas inflamatorias son genes candidatos para determinar a los posibles responsables de las diferencias individuales de la respuesta inflamatoria a la infección.

La capacidad de liberar y producir citocinas, la expresión de proteínas al shock térmico, la actividad de óxido nítrico, el polimorfismo de genes y los factores de la coagulación está genéticamente determinada y contribuye a un gran rango de manifestaciones clínicas en estados de enfermedad inflamatoria.

Las principales citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  inducen como consecuencia la producción de IL-6 e IL-10. Se ha demostrado que todas ellas contribuyen de manera importante a la respuesta primaria del hospedero ante una infección. Ambas, TNF $\beta$  e IL-1 $\beta$  son capaces de inducir los mismos síntomas y la misma severidad de shock séptico y disfunción orgánica (57).

## **6. OBJETIVO GENERAL**

Observar la activación de la vía de PI3K-AKT en fibroblastos gingivales humanos tras el tratamiento con LTA de *S. sanguis*.

## **7. OBJETIVO ESPECÍFICO**

- Identificar la fosforilación de GSK-3, AKT y activación de PI3-K
- Observar la acumulación de PDK1 desde el citoplasma celular hasta la membrana celular.
- Identificar la acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo celular.
- Mediante la utilización de inhibidores de PI3-K demostrar la implicación de ésta vía en la consecuente producción de conexina.

## **8. HIPOTESIS VERDADERA**

Si el LTA se une a su receptor TLR-2 en el HGF entonces se desencadenaran cascadas de señalización intracelulares asociadas a la producción de mediadores inflamatorios. La activación de proteínas implicadas en la cascada (PI3-K, GSK-3 y AKT) será identificada por ensayos de Western Blot.

## **9. HIPOTESIS FALSA**

Si el LTA se une a su respectivo receptor TLR y no es capaz de activar la vía de transducción de PI3-K, no serán identificadas las proteínas que se fosforilan a consecuencia de la activación de PI3-K.

## **10. JUSTIFICACIÓN**

Mediante la caracterización de las vías de señalización implicadas en la producción de citocinas pro y anti-inflamatorias se permitirá la futura elaboración de fármacos que sean capaces de inhibir de manera específica e intracelular la producción de citocinas y otras sustancias que de manera crónica dañan los propios tejidos del hospedero y conllevan a la pérdida dental.

## 11. MATERIALES Y METODOS

- a. Población en estudio: Fibroblastos gingivales humanos de pacientes sanos de la Clínica de Periodoncia de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- b. Selección y tamaño de la muestra: la muestra se toma durante un procedimiento quirúrgico y se elige de encía insertada. El tamaño depende de la zona donante sin embargo oscila entre .5 y 1 cm.
- c. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación. La encía donadora debe estar libre de inflamación, sangrado y cualquier otra patología identificable. El paciente debe declarar en la historia clínica que se encuentra libre de enfermedades sistémicas.
- d. Cultivo de fibroblastos gingivales humanos: El tejido obtenido quirúrgicamente se coloca temporalmente en solución de Hanks (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.), posteriormente se procesa y se obtienen las células (HGF) que se colocan en cajas de 6 pozos con medio de Eagle modificado por Dulbecco (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.) adicionado con 10% de Suero Bovino Fetal (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.) y 1% de antibiótico antimicótico (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.). Se mantienen hasta la confluencia en una incubadora a una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> y una temperatura de 37°C
- e. Detección de la fosforilación de PI3K, AKT, GSK-3 y expresión de conexina por medio del ensayo Western Blot: Se realizaron experimentos dosis- respuesta (1,5,10,15,25 µl) y curso-temporal (5, 10, 15, 30 y 60 min.). Los HGF se sembraron en cajas de 6 pozos con medio de Eagle modificado por Dulbecco adicionado con 10% de Suero Bovino Fetal y 1% de antibiótico antimicótico, cambiando el medio todos los días hasta llegar a la confluencia. Se procedió a ayunar las cajas 1 h antes del experimento con DMEM libre de suero bovino fetal con 1% de antibiótico antimicótico (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.). Posteriormente se trató cada pozo con LTA de *S. sanguis* (SIGMA-ALDRICH CHEMICAL CO. Mi. USA) bajo las condiciones señaladas al pie de cada figura en los resultados. Después del tratamiento, se retiró el medio y se colocaron 500 µl de buffer de fosfato salino (NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) adicionado con 1 Mm de ortovanadato de sodio (INVITROGEN Life Technologies. Ca, USA.) y se rasparon los pozos con gendarme recolectando las células en tubos eppendorf etiquetados que se centrifugaron durante 15 min a 10 000 rpm a 4°C. El sobrenadante fue desechado y la pastilla resuspendida en 20 µl de buffer de lisis (Tris-HCl

20 mM, Triton 1%, Na Cl 137 mM, EDTA 2mM, Vanadato de sodio 1 mM, Glicina, pH 8). Las muestras fueron sonicadas durante 30 W, 30 segundos.

- f. Aislamiento de proteínas nucleares y citosólicas. Todo el procedimiento se lleva a 4° C. Las placas con las células adheridas se lavan con PBS en frío, se elimina el PBS y se meten las placas a -80°C durante 30 minutos. Se agregan 150 µl del Tampon H (Hepes pH 8, KCl, EDTA, EGTA) y se raspan las células con espátula de plástico, transferir todo a un eppendorf, incubar 15 minutos en hielo. Se centrifuga 5 minutos a 13 000 rpm (el sobrenadante es el extracto citosólico, se almacena a -20°C). La pastilla se resuspende adicionando 50 µl de Tampon C, resuspender suavemente con micropipeta. Llevar los eppendorf en vortex durante 30 minutos a 4° C. Colectar los núcleos por medio de una centrifugación en microcentrifuga a 4°C. Eliminar la pastilla con micropipeta el sobrenadante es el núcleo. Almacenar los núcleos a -70°C.
- g. Aislamiento de proteínas membranales y citosólicas. Todo el procedimiento se lleva a cabo a 4°C. Después de tratadas las células se para la reacción succionando el medio de cultivo y se colocan 500 µl de PBS y se raspan las células con espátula de plástico, la suspensión se transfiere a tubos eppendorf. Centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se descarta con pipeta pasteur. Adicionar 50 µl de buffer de lisis y sonicar por 1 segundo en baño de hielo. Centrifugar a 20 000 rpm durante 1 hora. Colectar el sobrenadante y colocarlo en tubos eppendorf etiquetados (fracción citosólica), conservar las muestras en hielo. La pastilla se disuelve con buffer de lisis suplementado con Tween 20 al 1% (fracción membranal).

Se cuantificaron las proteínas por el método de Bradford. Se tomaron 50 µg/ml de cada muestra para su hidrólisis con jugo azul desnaturalizante para fosfoproteínas y se colocaron en baño seco a 65°C.

Se realizó la electroforesis en gel de acrilamida (SIGMA-ALDRICH CHEMICAL CO. Mi. USA) al 10% a 80 V. Las proteínas fueron transferidas a membrana de PVDF (Amersham Biosciences) durante 1 hr 0.30 Amp. y 20 V. Posteriormente se utilizó solución de bloqueo durante 30 min y 3 lavados de 10 min. cada uno. Se utilizan diferentes anticueros para identificar determinadas proteínas.

#### **h. Material y Equipo:**

Agitador magnético. (Nuova)  
Balanza GA200. (Ohaus)  
Baño de agitación. (Precision Scientific)  
Cajas de cultivo celular de 6 pozos. (Costar)

Cámara de electroforesis vertical. (Hoeffer)  
Cámara de transferencia. (Hoeffer)  
Campana de flujo laminar (Nuaire)  
Centrifuga (Sorvall)  
Espectrofotómetro (Perkin Elmer)  
Gendarme (Costar)  
Gradillas (Nalgene)  
Incubadora (Nuaire)  
Megatoscopio  
Microscopio de objetos invertidos C22 (Olympus)  
Orbit Shaker (Labline)  
Pipetas de 10ml y 5 ml (Finnipipette)  
Potenciometro (Equipar)  
Probetas graduadas  
Propipeta (Pepet-aid)  
Sonicador (Lab-Line instruments)  
Timer  
Tubos clínicos  
Tubos de ensayo  
Tubos Eppendorf  
Vasos de precipitado  
Vortex (Scientific industries)

**i. Reactivos:**

Acrilamida (Sigma)  
Antibiótico-Antimicótico 1% penicilina G sódica, estreptomina, anfotericina B (GIBCO BRL).  
Anticuerpos primarios : p-AKT, p-GSK-3, PI3-K p-85, PDK-1,  $\beta$ -catenina,  $\gamma$ -tubulina y AKT.  
Glicina (Baker)  
Kit de quimioluminiscencia (Santa cruz Biotechnology)  
Marcador de peso molecular (Bio-rad)  
Medio de cultivo Eagle modificado por Dubelcco (GIBCO BRL)  
Medio de cultivo de Hanks (GIBCO BRL)  
Membrana de PVDF (Amersham Biosciences)  
PBS (SIGMA)  
Persulfato de amonio  
Suero bovino fetal (GIBCO BRL)  
Trisma (Sigma)  
NaCl (GIBCO BRL)  
Tripsina  
Tween (Sigma)  
Vanadato de sodio



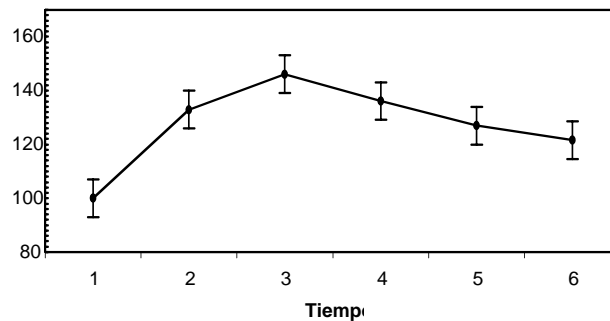
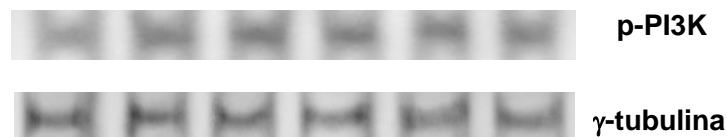
## 15. Resultados

### El LTA de *S. sanguis* fosforila a PI3-K en HGF

La activación de PI3K resulta en la producción de fosfatidil inositol trifosfato (PI P<sub>3</sub>) el cual puede reclutar proteínas de señalización que poseen dominios homólogos de pleckstrina, incluyendo a la cinasa serina-treonina AKT. Después del reclutamiento y la activación, AKT se fosforila en residuos de Thr<sup>308</sup> y Ser<sup>473</sup> (42,43). Por esta razón, para estudiar la vía de señalización de PI3K, se realizó un ensayo Western-blot para caracterizar la fosforilación de PI3-K.

Los HGF fueron sembrados en cajas de 6 pozos como se mencionó anteriormente y fueron estimulados con LTA (15 µg/ml) de *S. sanguis* a los tiempos indicados en los pies de figura (Fig. 1A,B). Estos resultados nos demuestran que la vía de PI3K está siendo activada en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.

A



**B**

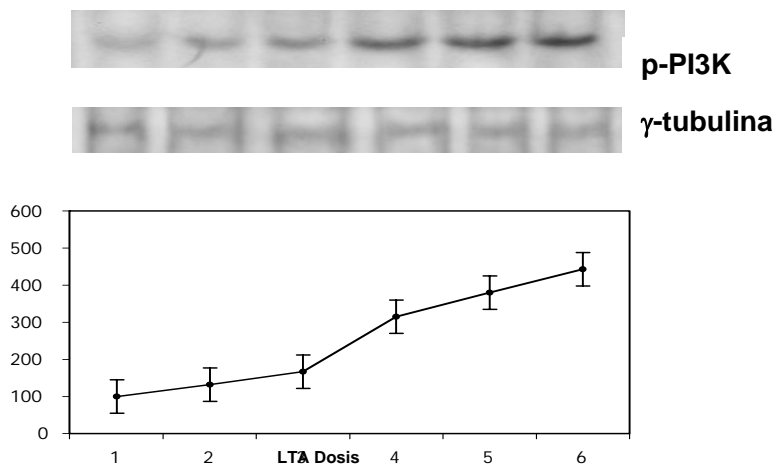
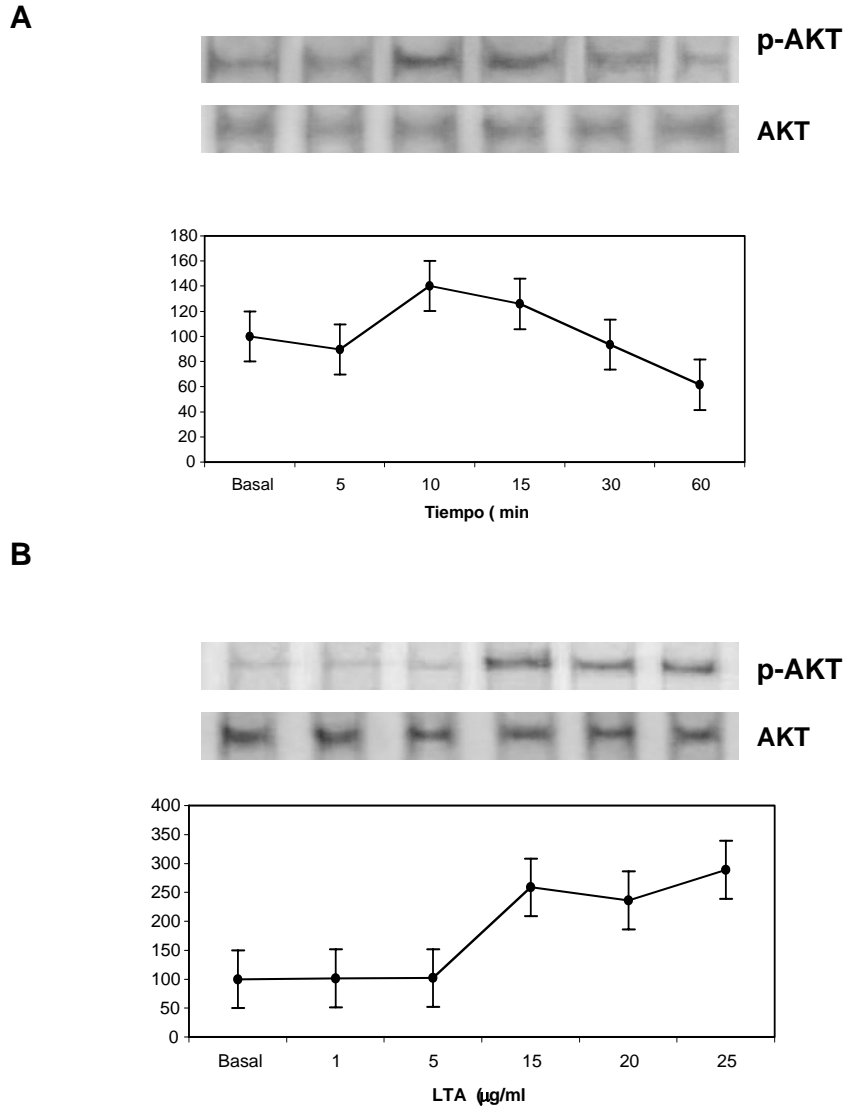


Fig. 1. Fosforilación de PI3-K en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*. Las células se sembraron en cajas de 6 pozos y fueron tratadas bajo las condiciones previamente descritas. Posteriormente los extractos totales se recolectaron en tubos eppendorf y se centrifugaron las células a 10 000 rpm durante 15 minutos. La pastilla fue resuspendida en buffer de lisis y sonicada durante 30 segundos. Las muestras se corrieron en un gel de archilamida al 10% y se transfirieron a membranas de VPDF. Cada membrana se incubó con el anticuerpo primario específico para p-PI3K y posteriormente, después de tres lavados se incubó el anticuerpo secundario. Se utilizó un kit de quimioluminiscencia. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media  $\pm$  Error Standard.

### **El LTA de *S. sanguis* promueve la fosforilación de la proteína cinasa B (AKT)**

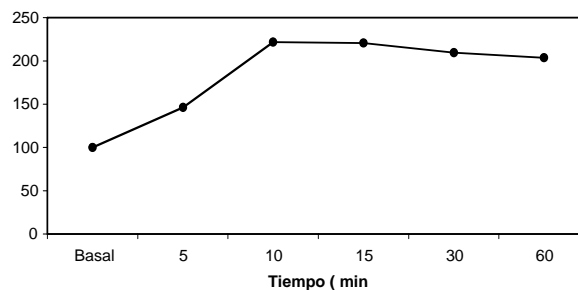
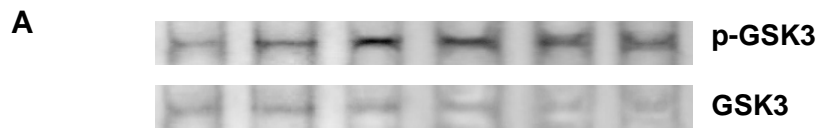
Después de haber comprobado la activación de la vía de PI3K decidimos estudiar la fosforilación de la cinasa AKT debido a que estudios anteriores han demostrado que esta cinasa se fosforila a consecuencia de la activación de PI3K. Las células HGF fueron tratadas con LTA (15  $\mu$ g/ml) a los tiempos señalados en el pie de la figura y en otra serie de experimentos encontramos que el tratamiento con LTA (10 min) induce un incremento en la fosforilación de manera dependiente de la dosis. Nuestros resultados muestran que la cinasa AKT se fosforila en residuos de Thr 308 y Ser 473 (34-37) mostrando máxima fosforilación a los 10 minutos de tratamiento con una dosis de 15  $\mu$ g/ml de LTA de *S. sanguis* (Fig. 2, A). Mostramos también que la máxima fosforilación de AKT se observa a una concentración de 25  $\mu$ g/ml en un tiempo de 10 minutos (Fig. 2, B). Con estos resultados podemos concluir que el LTA de *S. sanguis* es capaz de activar a la cinasa AKT desde los 10 minutos de tratamiento y desde dosis de 15  $\mu$ g/ml y que a esta dosis se observa la máxima fosforilación en HGF.

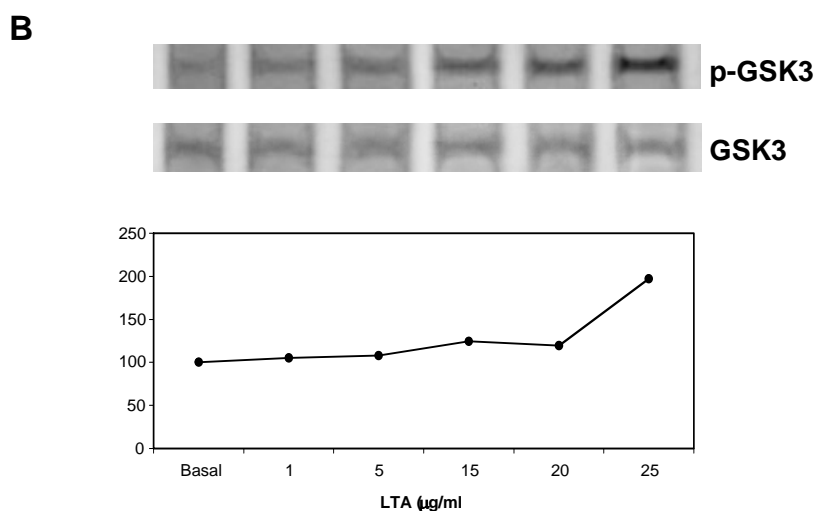


**Fig. 2. El LTA de S, sanguis es capaz de activar a la cinasa AKT de manera dependiente de la dosis y el tiempo .** Los HGF fueron tratados con el ligando LTA bajo diferentes condiciones (concentración de 15 µg/ml a 5, 10, 15, 30 y 60 minutos en el panel A; y durante 5 minutos a concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 25 µg/ml en el panel B). Los extractos totales fueron centrifugados a 10 000 rpm durante 15 minutos, posteriormente se corrieron en un gel de acrilamida al 10% a 80 V y se transfirió a membranas de VPDF a 0.3 Amp y 20 V durante 1 h. Las membranas fueron incubadas con los primeros anticuerpos para p-AKT y posteriormente con los anticuerpos secundarios respectivos. Se utilizó un kit de quimioluminiscencia. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media ± Error Standard.

### El LTA de *S. sanguis* promueve la fosforilación de GSK-3 en HGF

Diversos estudios muestran (35, 37, 42, 43) que GSK-3 se encuentra participando en la vía de señalización de PI3-K-AKT. Para continuar con la caracterización de la vía lo que estudiamos enseguida fue la actividad de GSK-3 como respuesta al tratamiento con LTA de *S. sanguis*. Los HGF fueron sembrados en cajas de 6 pozos como se describió anteriormente y enseguida cada pozo fue tratado con 15  $\mu\text{g/ml}$  de LTA a los tiempos indicados en la Figura 3,A; también se realizó el tratamiento manejando diferentes dosis ( Fig. 3,B) del ligando durante 5 minutos de tratamiento. Los resultados demostraron que GSK-3 se fosforila de manera dependiente del tiempo y la dosis del ligando, mostrando su máxima fosforilación a un tiempo de 10 minutos y con una concentración de 25  $\mu\text{g/ml}$ . Estos datos nos sugieren que GSK-3 también es activado por el LTA de *S. sanguis* en HGF.





**Fig. 3. Fosforilación de GSK-3 en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.** Las células fueron sembradas en cajas de 6 pozos y se realizaron ensayos de Western Blot para determinar la fosforilación de GSK-3. Los HGF fueron tratados bajo diferentes condiciones (15 µg/ml de *S. sanguis* a 5, 10, 15, 30 y 60 minutos en el panel A; y durante 5 minutos a concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 25 µg/ml de LTA de *S. sanguis* en el panel B). Los extractos celulares se centrifugaron a 10 000 rpm durante 15 minutos y corridos en geles de archilamida al 10%, posteriormente se realizó la transferencia a membranas de VPDF para terminar incubando con los anticuerpos respectivos para p-GSK3. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media  $\pm$  Error Standard.

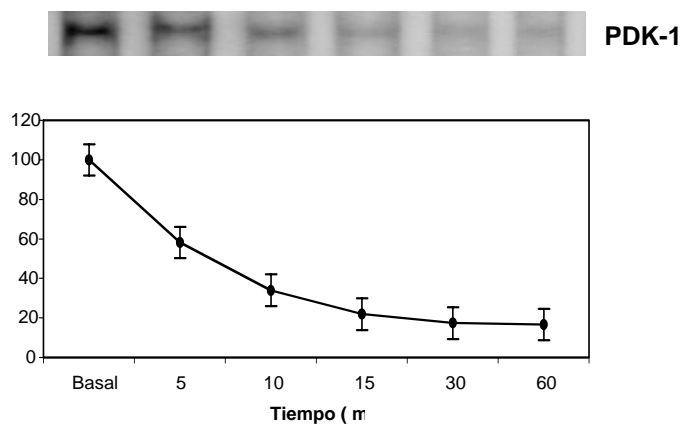
### **PDK-1 se transloca a la membrana de los HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.**

Estudios realizados (36) indican que PDK-1 juega un papel primordial mediando las señales de transducción que se encuentran por debajo de la cascada de PI3-K. La activación de AKT se inicia por translocación a la membrana, lo que ocurre tras la estimulación celular y producción de PtdIns (34,35) P3 (PIP3). La localización de AKT en la membrana plasmática se lleva a cabo mediante una interacción entre dominios de homología con pleckstrina (PH) y PIP3. La asociación de AKT en la membrana con la proteína moduladora carboxi terminal (CTMP) impide que AKT pueda ser fosforilada y activa. La fosforilación de CTMP por una cinasa no identificada libera CTMP de AKT y permite a AKT ser fosforilada por dos cinasas dependientes de fosfolípidos PDK1 y PDK2 en los residuos Tre308 y Ser473, respectivamente. La fosforilación de estos dos residuos produce activación completa de AKT. Decidimos entonces observar si PDK-1 estaba implicado en la vía de señalización de PI3-K –AKT en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*. Se sembraron los HGF en cajas de 6 pozos y fueron tratados bajo las condiciones descritas al pie de figura, enseguida se

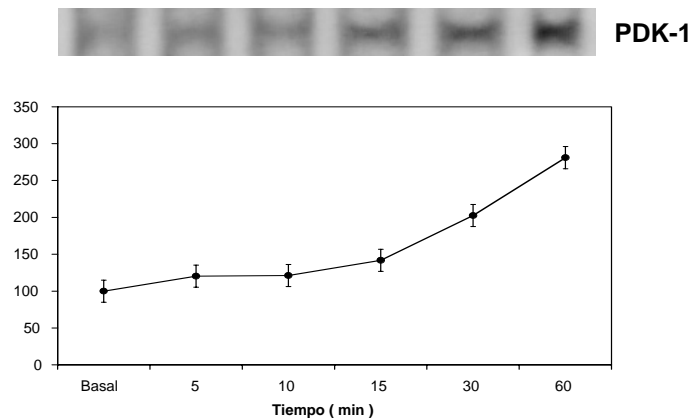
realizaron extractos citoplásmicos (Fig. 4, A) y membranales (Fig. 4, B) de las células como se indica en materiales y métodos. Los resultados demuestran que

a partir de los 5 minutos de tratamiento con LTA de *S. sanguis* PDK-1 comienza a translocarse del citoplasma (Fig. 4, A) a la membrana (Fig. 4, B), alcanzando el máximo de translocación a los 60 minutos de tratamiento. Estos datos nos sugieren que la cinasa PDK-1 que normalmente se encuentra en el citoplasma se transloca a la membrana de los HGF de manera dependiente del tiempo cuando éstos son tratados con LTA de *S. sanguis*.

**A**



**B**



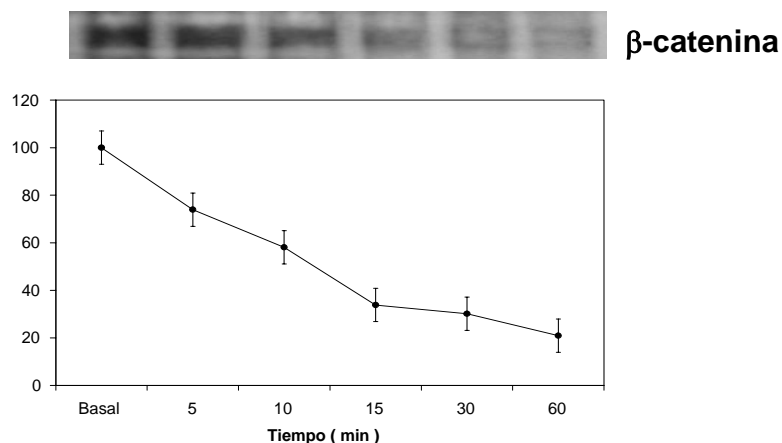
**Fig. 4. Traslocación de PDK-1 a la membrana de HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.** Los HGF se sembraron en cajas petri y se trataron con 45  $\mu\text{g/ml}$  de LTA de *S. sanguis* por 5, 10, 15, 30 y 60 minutos. Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos, posteriormente se adicionaron 50 ml de buffer de lisis y se sonicaron por 1 segundo en baño de hielo. Enseguida se centrifugó a 20 000 rpm durante 1 hora, el sobrenadante se colecta (fracción citosólica). La pastilla se disuelve en buffer de lisis suplementado con Tween 20 al 1% (fracción membranal) Los extractos fueron corridos en geles de archilamida al 10%, posteriormente se realizó la transferencia a membranas de VPDF para terminar incubando

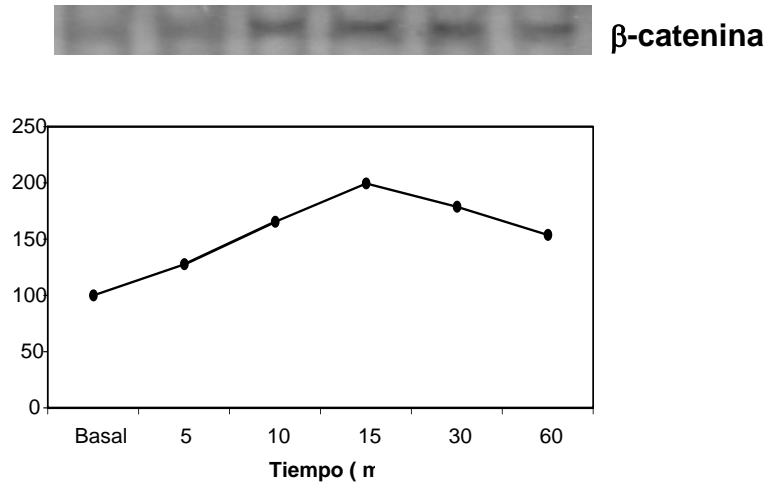
con los anticuerpos respectivos para PDK-1. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media  $\pm$  Error Standard.

### **$\beta$ -catenina se acumula en el núcleo de HGF tratados con LTA de *S. sanguis***

La  $\beta$ -catenina es una de las proteínas que participan en la unión de las cadherinas (moléculas de adhesión intercelular) al citosqueleto (48, 31, 55, 56). Lo que la hace especialmente importante es que cuando la  $\beta$ -catenina se encuentra libre en el citosol, no ligada a uniones intercelulares, es susceptible de unirse al factor Tcf, trasladarse al núcleo y actuar como factor de transcripción, activando la expresión de numerosos genes implicados en múltiples procesos celulares. Esto quiere decir que la presencia de  $\beta$ -catenina libre debe estar regulada. En condiciones normales, la proteína APC fosforila a  $\beta$ -catenina, marcándola para su ubiquitinación y promoviendo así su degradación (55). La interacción de APC con axina es necesaria para la regulación de  $\beta$ -catenina. Estudios demuestran que GSK-3 fosforila directamente a APC y la unión de APC a axina por lo tanto GSK-3 regula la acumulación de  $\beta$ -catenina al núcleo celular. Con todos estos estudios nosotros decidimos investigar si  $\beta$ -catenina estaba siendo acumulada en el núcleo de los HGF cuando éstos eran tratados con LTA de *S. sanguis*. Los HGF fueron sembrados en 6 cajas Petri y fueron tratados con el LTA a diferentes tiempos (condiciones citadas en el pie de figura). Nuestros datos mostraron que efectivamente existe una translocación de  $\beta$ -catenina del citosol (Fig.5,A) al núcleo celular (Fig.5,B) observándose la acumulación a partir de los 5 minutos y teniendo una máxima translocación observada a los 60 minutos. Estos resultados nos sugieren que el LTA de *S. sanguis* promueve la acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo de HGF sanos.

**A**



**B**

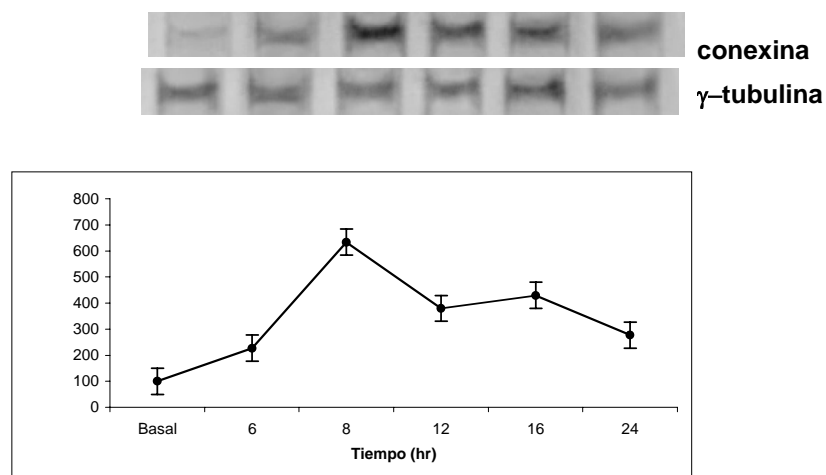
**Fig. 5. Translocación de  $\beta$ -catenina al núcleo de HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.** Los HGF fueron sembrados en cajas petri y tratados bajo diferentes condiciones (15  $\mu$ g/ml de LTA de *S. sanguis* a 5, 10, 15, 30 y 60 minutos), posteriormente realizamos el procedimiento para separar la fracción citosólica (A) de la nuclear (B). Las placas con las células adheridas se lavaron con PBS en frío y se mantuvieron a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos. Se agregaron 150 ml del Tampon H y se incubó 15 minutos en hielo. Posteriormente centrifugamos 5 minutos a 13 000 rpm (el sobrenadante fue el extracto citosólico). La pastilla se resuspendió adicionando 50 ml de Tampon C, los núcleos se colectaron los por medio de centrifugación a  $4^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se corrieron ambas fracciones en geles de acrilamida al 10%, enseguida se realizó la transferencia a membranas de VPDF. Cada membrana se incubo con los anticuerpos específicos para identificar  $\beta$ -catenina. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media  $\pm$  Error Standard.

### El LTA de *S. sanguis* promueve la producción de conexina en HGF

Los genes que han demostrado contener sitios para TCF/Lef1 y que además son regulados de manera positiva por  $\beta$ -catenina incluyen c-myc, fibronectina, ciclina D1, c-jun, fra-1, e caderina, matrilisina y conexina 43 (29,31,37). Decidimos entonces estudiar la expresión de conexina en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*. Las células fueron tratadas bajo las condiciones descritas al pie de figura. Nuestros resultados muestran que conexina es expresada en HGF tratados con LTA de *S. sanguis* expresan conexina a partir de las 6 horas, con un máximo de expresión a las 8 horas y decrece de manera dependiente del tiempo (Fig. 6). Estos resultados nos sugieren que al tratamiento con LTA de *S. sanguis* se promueve la expresión de conexina en HGF sanos de manera dependiente del tiempo.



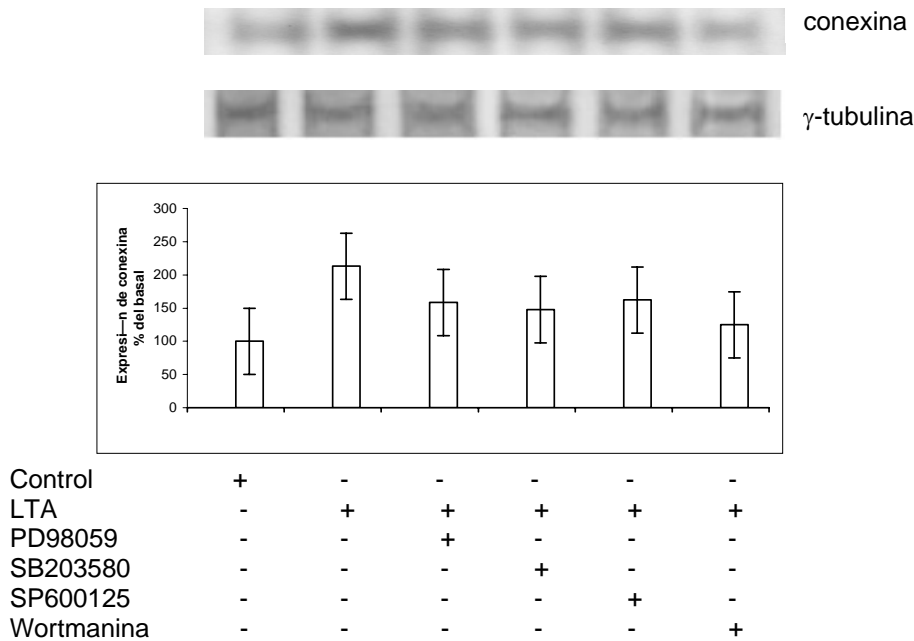
**A**



**Fig.6. Expresión de conexina en HGF tratados con LTA de *S. sanguis*.** Las células fueron sembradas en cajas Petri y fueron tratadas con 15 µg/ml de LTA de *S. sanguis* durante 6, 8, 12, 16 y 24 horas. Los extractos totales fueron centrifugados a 10 000 rpm durante 15 min. Posteriormente se corrieron en geles de archilamida al 10% y transferidos a una membrana de VPDF. Finalmente las membranas fueron incubadas con los anticuerpos específicos para cada proteína. Los resultados se analizaron con el software Labworks y se representaron como la media ± Error Standard.

### **Implicación de la vía de PI3-K-AKT y de MAPK en la expresión de conexina en Fibroblastos Gingivales Humanos.**

Para estudiar que vías se encuentran implicadas en la expresión de conexina se utilizaron inhibidores como PD98059 30 µM (MEK), SB203580 20 µM (p38), SP600125 5 µM (JNK) y Wortmanina 50 nM (AKT). Las células se pretrataron por 30 minutos con cada inhibidor y posteriormente se trataron con LTA de *S. sanguis* durante 8 horas. Los resultados demuestran que al utilizar PD98059, la expresión de conexina disminuye en un 25.62%. Al pretratamiento con SB203580 y SP600125 se muestra de la misma manera disminución en la expresión de conexina en un 30.48% y 23.84% respectivamente. De manera interesante después del pretratamiento con wortmanina la expresión de conexina disminuyó de manera considerable: 41.42%. Estos resultados nos sugieren que aunque la vía de las MAPK se encuentra implicada en la expresión de conexina, la vía de PI3K-AKT se encuentra participando de manera mas importante.



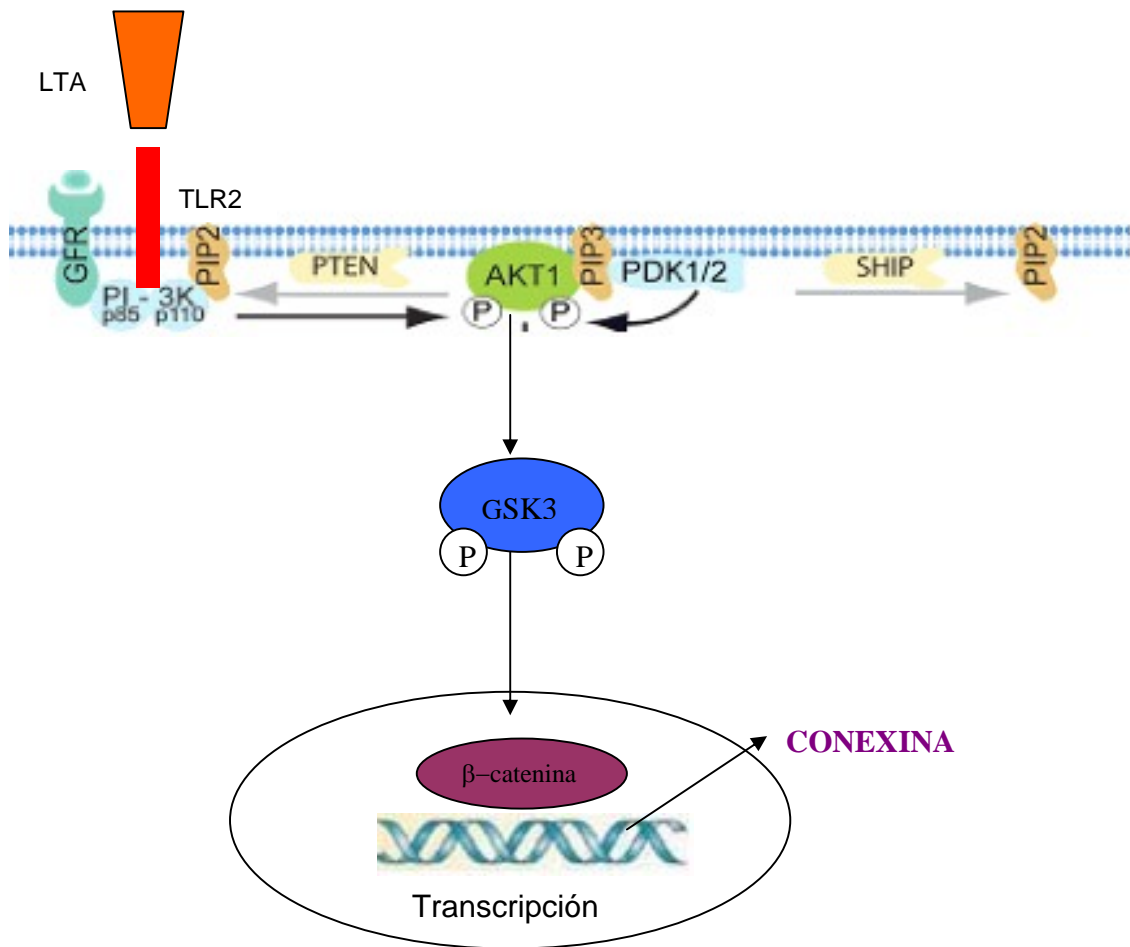
**Fig.7. Efecto de inhibidores de las MAPK y AKT en la expresión de conexina.** Las células se preincubaron con los inhibidores durante 30 minutos antes del tratamiento con LTA de *S. sanguis* (15 µg/ml). Posteriormente las células se lavaron con PBS+Ortovanadato y fueron recolectadas en tubos eppendorf para su centrifugación (10 000 rpm durante 15 minutos). El sobrenadante fue descartado y la pastilla se resuspendió en Buffer de lisis pH 8.0. Las muestras fueron sonicadas durante 30 seg. Se prepararon geles de acrilamida al 10% y se corrieron las muestras a 70 V durante 1 h. Las proteínas fueron transferidas a membranas de VPDF e incubadas con los anticuerpos primarios y secundarios correspondientes para la detección de conexina.

Por último realizamos un esquema que representa la vía de señalización caracterizada (Fig. 8). En él podemos observar la unión del ligando (LTA) a su receptor (TLR2) en la célula. Como se muestra en la figura la PI3K cataliza la fosforilación de los fosfatidilinosoles, principalmente del PtdIns 4,5 P2 (PIP2), para dar como producto el PI 3,4,5 P2 (PIP3) que es el segundo mensajero de esta ruta. La desfosforilación de PIP3 para regenerar PIP2 se lleva a cabo por la 3-fosfatasa PTEN. Adicionalmente, el PIP3 puede ser desfosforilado en posición D5 por SHIP1 o SHIP2 para generar PtdIns(3,4)P2, otro segundo mensajero potencial.

Así, PIP3 va a reclutar a la membrana plasmática a tres serina treonina quinasas citosólicas (PDK1, PDK2 y PKB o AKT), a través de su interacción con dominios de homología con pleckstrina (PH) de estas proteínas (Figura 3). PDK1 y PDK2 son serina treonina quinasas dependientes de fosfolípidos que van a fosforilar

ya en la membrana plasmática a otra serina treonina quinasa denominada PKB o AKT. La fosforilación de la AKT en los aminoácidos Tre308 y Ser473 por

PDK1 y PDK2, respectivamente, activa AKT. Cuando AKT está activa, fosforila a una enzima del metabolismo de la glucosa (GSK3) que, es imprescindible para que APC fosforile a  $\beta$ -catenina y ésta pueda viajar al núcleo de la célula, e iniciar la transcripción de genes específicos como conexina.



**FIG. 8. Esquema de la vía de señalización de PI3K-AKT.** La cinasa PI3-K fosforila a la fosfatidilinositol-bifosfato (PIP2), generando fosfatidilinositol trifosfato (PIP3), el cual recluta a la cinasa serina-treonina AKT y a PDK a la membrana citosólica. La fosforilación de PDK activa a AKT. Las vías de señalización a nivel de AKT regulan la fosforilación de proteínas que controlan la traducción y transcripción. Durante la transcripción, AKT afecta numerosos factores de transcripción, el control de ellos es directo e indirecto. Los blancos directos son FOXO y el inhibidor del ciclo celular MIZ1, ambos son mediados por la fosforilación de AKT. AKT por su parte ocasiona la fosforilación de GSK3 dando como resultado la acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo celular.

## 16. DISCUSION

Se han realizado múltiples estudios sobre el papel del LPS de bacterias Gram-negativas sobre la vía de PI3-K en varias líneas celulares como macrófagos humanos alveolares como en neutrófilos (18). Sin embargo, no existen estudios reportados sobre el papel del LTA de *S. sanguis* (bacteria presente en la placa dentobacteriana) sobre la vía de PI3-K en HGF. Utilizamos entonces la información de estudios previos para tener un punto de partida para realizar nuestros experimentos. Los estudios demuestran que el LPS activa a PI3-K y como consecuencia AKT y PDK-1 los cuales inactivan a GSK-3. Decidimos entonces evaluar esta vía y encontramos que utilizando el ligando LTA de *S. sanguis* existe expresión de conexina 43 que está ligada a la acumulación de  $\beta$ -catenina en el núcleo celular, comprobamos también que estos eventos ocurren como consecuencia de la activación de la vía de PI3-K en HGF.

Otros estudios que se realizaron con LTA y ligandos para TLR4 en neutrófilos demostraron la vía de AKT se activa de una forma mas inmediata vía TLR2 que vía TLR4. Estos resultados sugieren que la cinética y magnitud de activación de AKT es diferente cuando se activan a los neutrófilos vía TLR2 y TLR4 (23,28,84).

Existen reportes que indican que debajo de la cascada de PI3-K el LPS activa AKT. AKT es una cinasa serin-treonina que tiene una homología importante con PKC $\epsilon$  y PKA. Además se ha descrito como mediador de los efectos de la insulina, factores de crecimiento, citocinas y otros factores como el factor de crecimiento derivado de plaquetas y la adhesión celular(23, 28, 84, 90). Bajo la cascada de AKT incluye también la inhibición de varios factores pro-apoptosis (GSK-3, caspasa 9, factores de transcripción Forkhead, etc) y la activación de la cinasa I $\kappa$ B, PDE-3B, eNOS y la cinasa p70<sup>S6</sup> (90, 91).

Hemos demostrado en nuestro estudio que la activación de AKT por LTA resulta en la fosforilación de GSK-3 e incrementa la  $\beta$ -catenina en la fracción nuclear. GSK-3 es una enzima activa constitutiva que se regula negativamente por la vía de Wnt y por la fosforilación de AKT. La fosforilación de GSK-3 en residuos de serina 21/9 resulta en la disociación de GSK-3 del complejo con APC, axina y  $\beta$ -catenina. Cuando GSK-3 es removido de este complejo ya no puede fosforilar a  $\beta$ -catenina y entonces lo lleva a la ubiquitinación y a la degradación del proteosoma (91, 92).

Como se mencionó anteriormente, la transcripción del complejo  $\beta$ -catenina-TCF/Lef-1 puede activar o suprimir la transcripción o supresión de genes. Los genes q son regulados positivamente por  $\beta$ -catenina incluyen c-myc, fibronectina, ciclina D1, c-jun, Fra1, e-cadherina, conexina 43, etc. Nuestros

resultados demuestran que el LTA de *S. sanguis* promueve la expresión de conexina 43 en HGF sanos (92, 93).

Estudios han demostrado que catenina-p120 tiene una importancia biológica impresionante en vertebrados ya que está implicada en las funciones de adhesión y metabólicas de caderina, así como el control del citoesqueleto y la regulación génica nuclear.

Las capacidades biológicas multifacéticas de las proteínas del dominio Armadillo son presagiadas por la actividad de  $\beta$ -catenina, el miembro más estudiado de la larga familia de las cateninas. Existen similitudes entre  $\beta$ -catenina y p120, éstas incluyen su asociación con caderinas (aunque es en diferentes regiones) y un inesperado paralelismo de control génico, las diferencias funcionales son aparentemente equivalentes e incluyen la modulación de la subfamilia p120 de GTPasas de Rho y la estabilidad de caderina.

Los estudios en vertebrados se han enfocado en el desarrollo de contribuciones para conocer los miembros de la sub-familia de catenina-p120 existentes en diferentes tejidos. Por ejemplo hay trabajos que demuestran la ubicación y efectos de la catenina-120 en hígado y colon. Un área de investigación más amplia estudia el entrecruzamiento génico de líneas de ratón deficientes de catenina en su fenotipo y observaron que tal deficiencia no era letal. Por ejemplo, el acoplamiento de ratones deficientes en ARVCF, con ratones nulos de  $\beta$ -catenina (disfunciones cognitivas, pero por lo demás, normales). Una valoración de las extensas coincidencias funcionales entre los miembros de la subfamilia de la catenina-p120 deberán evaluar la consecuencia de transferir la región que codifica a las cateninas en otro locus genético. Para identificar las contribuciones particulares de los miembros de la subfamilia de p-120 a las funciones de caderina, los knock-ins genéticos de los puntos mutantes de caderina inactivados de la subfamilia p120 (o viceversa) deberían ser revelados.

Los investigadores indudablemente deben regresar a los primeros estudios a cerca de la catenina-p120. Esto incluye el papel de la fosforilación para la modulación de la función de la subfamilia p120, así como la variedad de isoformas.

Mientras que no esté probado, se presume que dichas distinciones tienen un impacto sobre la localización intracelular y, la estabilidad metabólica y las interacciones proteína-proteína de los miembros de la subfamilia p120 u otras proteínas. Finalmente, desde una perspectiva biomédica, es bien sabido que los miembros de la subfamilia p120 probarán tener papeles importantes en la progresión de la enfermedad dada por su directa asociación con las caderinas, y con la vía de señalización y control genético de Rho GTPasa. Para los miembros de la subfamilia p120 enriquecidos en tejidos neurales, como la  $\beta$ -catenina y la ARVCF-catenina, los cruces adicionales pueden incluir valoraciones de los resultados del comportamiento cognitivo. Como se propuso para  $\beta$ -catenina, y,

los miembros de la subfamilia de la catenina-p120, aunque sean distintas, ambas tienen un inter-acoplamiento a caderina, el citoesqueleto y las funciones regulatorias de genes.

## 17. CONCLUSIONES.

En este estudio se caracterizó una importante vía de señalización en HGF, la vía de PI3K-AKT. Encontramos entonces que el LTA de *S. sanguis* (presente en la placa dentobacteriana) activa a PI3-K y ocasiona el reclutamiento y fosforilación de proteínas antiapoptóticas como AKT.

Como se mencionó anteriormente, los mecanismos que median el efecto antiapoptótico de esta vía de señalización son el incremento en la expresión de Bcl-2, una proteína antiapoptótica y la fosforilación de Bad, de esta forma no puede haber interacción con Bcl-XL y es imposible formar el heterodímero requerido para activar la apoptosis y la inhibición de las caspasas.

Después de la activación de AKT, ésta se transloca a la membrana citoplásmica, donde interactúa con la CTMP, lo que impide que AKT pueda ser fosforilada y activa. La posterior fosforilación de CTMP por una cinasa no identificada libera CTMP de AKT y permite que AKT sea fosforilada por dos cinasas dependientes de fosfolípidos PDK1 y PDK2 en los residuos Thr308 y Ser473, respectivamente. La fosforilación de estos dos residuos produce activación completa de AKT.

En nuestros resultados hemos mostrado que la activación de AKT por LTA de *S. sanguis* fosforila a su vez a GSK-3, separándolo del complejo que forma junto con APC, axina y  $\beta$ -catenina. Estos eventos promueven entonces la translocación de  $\beta$ -catenina al núcleo celular y regulan así de manera positiva la expresión de la conexina-43, gen que como funciones principales tiene permitir la comunicación intracelular y coordinar la actividad celular en diversos órganos como cerebro, corazón, riñón y células vasculares endoteliales.

Debido a que la activación de la vía de PI3-K tiene efectos anti-apoptóticos y por lo tanto un papel importante en la proliferación celular debemos considerarla como un blanco estratégico de bloqueo para suprimir el crecimiento de tumores y proliferación de células cancerígenas.

Por otra parte, durante la enfermedad periodontal observamos la presencia de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas como el *S. sanguis*. Los efectos del LTA sobre los HGF incluyen la activación de varias vías de señalización como la de las MAPK y la de PI3K-AKT. La activación de estas vías da como resultado la producción de citocinas mediadoras de la inflamación como la interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), la interleucina 10 (IL-10), prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), la Interleucina-6 (IL-6) y el Factor de Necrosis Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la acumulación sostenida de éstos mediadores inflamatorios en los tejidos periodontales (Periodontitis crónica) causan daño a los tejidos de soporte del diente. Es por esta razón que se debe considerar importante el bloqueo de esta producción de mediadores en las fases crónicas de la inflamación.

Esta investigación está dirigida a la futura realización de nuevos fármacos que estén encaminados al bloqueo específico de vías de señalización para poder interrumpir de manera eficaz la producción crónica de sustancias que causan daño tisular a nivel de tejidos de soporte periodontal, así como la supresión efectiva de la proliferación de células con potencial tumoral y cancerígeno.



## 20. REFERENCIAS

1. Carranza FA, Newman MG, Takei HH. Periodontología clínica. 9a ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004.
2. Gloria Gutiérrez-Vengas y Patricia Cardoso-Jiménez. Ácido Lipoteicoico: Receptores y Mecanismo de Transducción. Revista de Educación Bioquímica. 25 (2); 41-49. 2006.
3. Irigoyen Ma. Esther *et al.* Caries dental y enfermedad periodontal en un grupo de personas de 60 o más años de edad de la Ciudad de México. Revista de la Asociación Dental Mexicana. 56 (2); 64-69. 1999.
4. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P y Fischer W. Stimulation of monokine production by lipoteichoic acids. Infect Immun 59:4614–4620, 1991.
5. Lindhe J. Periodontología clínica e implantología odontológica. 4a ed. México: Médica Panamericana; 2005
6. Kuttler Y. Microscopic investigation of the root apexes. Journal of the American Dental Association; 50: 544-552. 1955.
7. Gómez de Ferraris M. Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. 1era. ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 1999.
8. Trowbridge H, Kim S, Pulp development, structure and function. En: Cohen S, Burns R. The Pathways of the Pulp. 7ma ed. Missouri: Editorial Mosby, 1998:386-424
9. Ross M. Histology, a text and atlas. 3ra. ed. Baltimore: Editorial Williams and Wilkins, 1995.
10. Gartner L, Hiatt J. Cartílago y hueso. En: Texto atlas de histología. México. McGraw-Hill Interamericana. 2002: 127-151
11. Gómez M, Campos A. Periodoncio de inserción: cemento, ligamento periodontal, y hueso alveolar. En: Histología y embriología bucodental. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 1999
12. Genco R. J, Goldman H. M, Cohen W. Periodoncia. Nueva editorial Interamericana. Mcgraw-Hill. 1993.
13. Okeson. J. P. Tratamiento de Oclusión y Afecciones Temporomandibulares. Cuarta edición. Madrid, España. Editorial. Harcourt Brace/Mosby, 2003.

14. Olarte, César A y Jovana Ortega, Claudia. Enfermedad periodontal: una nueva clasificación. Rev. Fed. Odontol. Colomb;(202):10-30, mar.-jul. 2002.
15. Noack B, Genco RJ, *et al.* Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. J Periodontol. 2001 Sep;72(9):1221-7.
16. Cotran, Kumar, Robbins. Patología estructural y funcional. 6a.ed. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2001.
17. John C. Marshall. (2001). Inflammation, Coagulopathy, and the Pathogenesis of Multiple Organ Dysfunction Syndrome. Crit. Care Med. 29: 99-106
18. Horn I., Morrison DC, Opal SM, Silverstein R, Visvanathan K, Zabriskie JB. (2000). What are the microbial components implicated in the pathogenesis of sepsis?. Clin Infect Dis . 31: 851-858.
19. Opal SM, Cohen J. (1999). Gram-positive bacterial sepsis: does it fundamentally differ from Gram-negative bacterial sepsis?. Crit. Care Med. 27: 1608-1618.
20. Lowy FD. (1998). Staphylococcus aureus infections. N. Engl. J. Med. 339:520-532.
21. Armstrong JJ, Baddiley J, Buchanan JG, Davison AL, Keleman MV, Neuhaus FC. (1959). Composition of teichoic acids from a number of bacterial walls. Nature. 25:247-248.
22. . Baddiley J. (1972). Teichoic acids in cell walls and membranes of bacteria. Essays Biochem. 8: 35-77.
23. Echchannaoui H, Frei K, Schnell C, Leib SL, Zimmerli W y Landmann R. (2002). Toll-like receptor 2-deficient mice are highly susceptible to Streptococcus pneumoniae meningitis because of reduced bacterial clearing and enhanced inflammation. J Infect Dis. 186:798–806.
24. Schwadner R., Dzianski R, Wesche H, Rothe M, Kirschning CJ.(1999). Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. J. Biol. Chem. 274: 17406-17409.
25. Yoshimura A, Lien E, Ingalls RR, Tomanen E, Dziarki R, Golenbock D. (1999). Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. J. Immunol. 163:1-5.
26. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P y Fischer W. (1991). Stimulation of monokine production by lipoteichoic acids. Infect Immun 59:4614–4620, 1991.

27. Øverland G, Morath S, Yndestad A, Hartung T, Thiernemann C, Foster SJ, Smedsrød B, Mathisen Ø, Aukrust P, Aase AO y Wang JE.(2003). Lipoteichoic acid is a potent inducer of cytokine production in rat and human Kupffer cells in vitro. *Surg Infect* 4:181-191.
28. Cao Z, Henzel WJ y Gao X (1996). IRAK: a kinase associated with the interleukin-1 receptor. *Science* 271:1128–1131.
29. Shang-Jyh Kao. (2002). Lipoteichoic acid induces nuclear factor-κB activation and nitric oxide synthase expression via phosphatidylinositol 3-kinase, AKT, and p38 MAPK in RAW 264.7 macrophages. *Immunology*. 115:366-374.
30. Brazil DP, *et al.* Advances in protein kinase B signalling: AKT ion on multiple fronts. *Trends Biochem Sci* 2004. 29: 233–242.
31. Hanada M, *et al.* Structure, regulation and function of PKB/AKT – a major therapeutic target. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1697: 3–16.
32. Steelman LS, *et al.* The complexity of PTEN: mutation, marker and potential target for therapeutic intervention. *Expert Opin Ther Targets* 2004; 8: 537–550.
33. Chen WS, *et al.* Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the Akt1 gene. *Genes Dev* 2001; 15: 2203–2208
34. Aston RM, Cho H, Roovers K, *et al.* Role for Akt3/protein kinase B in attainment of normal brain size. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 1869–1878.
35. West KA, Castillo SS, *et al.* Activation of the PI3K/Akt pathway and chemotherapeutic resistance. *Drug Resist Updat* 2002; 5: 234–248.
36. Sansal I, Sellers WR. The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2954–2963.
37. Choi Y, Zhang J, *et al.* PTEN, but not SHIP and SHIP2, suppresses the PI3K/Akt pathway and induces growth inhibition and apoptosis of myeloma cells. *Oncogene* 2002; 21: 5289–5300.
38. Janssens V, Goris J, *et al.* PP2A: the expected tumor suppressor. *Curr Opin Genet Dev* 2005; 15: 34–41.
39. Borgatti P, Martelli AM, *et al.* Threonine 308 phosphorylated form of Akt translocates to the nucleus of PC12 cells under nerve growth factor stimulation and associates with the nuclear matrix protein nucleolin. *J Cell Physiol* 2003; 196: 79–88.

40. Liu W, Akhand AA, Takeda K, *et al.* Protein phosphatase 2A-linked and -unlinked caspase-dependent pathways for downregulation of Akt kinase triggered by 4-hydroxynonenal. *Cell Death Differ* 2003; 10: 772–781.
41. Gao T, Furnari F, Newton AC. PHLPP: a phosphatase that directly dephosphorylates Akt, promotes apoptosis, and suppresses tumor growth. *Mol Cell* 2005; 18: 13–24
42. Vanhaesebroeck B, Ali K, *et al.* Signalling by PI3K isoforms: insights from gene-targeted mice. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 194–204.
43. Hennessy BT, Smith DL, *et al.* Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 988–1004.
44. Wymann MP, Bjorklof K, Calvez R, Finan P, Thomast M, Trifilieff A *et al.* Phosphoinositide 3-kinase gamma: a key modulator in inflammation and allergy. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 275–280.
45. Woodgett J. R. (1991) cDNA cloning and properties of glycogen synthase kinase-3. *Methods Enzymol.* 200, 564–577.
46. Frame S., Cohen P. and Biondi R. M. (2001) A common phosphate binding site explains the unique substrate specificity of GSK3 and its inactivation by phosphorylation. *Mol. Cell* 7, 1321–1327.
47. Hughes K., Nikolakaki E., Plyte S. E., Totty N. F. and Woodgett J. R. (1993) Modulation of the glycogen synthase kinase-3 family by tyrosine phosphorylation. *EMBO J.* 12, 803–808.
48. P.Z. Anastasiadis and A.B. Reynolds, The p120 catenin family: complex roles in adhesion, signaling and cancer, *J. Cell Sci.* 113 (2000) (Pt 8), pp. 1319–1334.,
49. M. Hatzfeld, The p120 family of cell adhesion molecules, *Eur. J. Cell Biol.* 84 (2005) (2-3), pp. 205–214.).
50. Y.Y. Mo and A.B. Reynolds, Identification of murine p120 isoforms and heterogeneous expression of p120cas isoforms in human tumor cell lines, *Cancer Res.* 56 (1996) (11), pp. 2633–2640.,
51. A. Keirsebilck *et al.*, Molecular cloning of the human p120ctn catenin gene (CTNND1): expression of multiple alternatively spliced isoforms, *Genomics* 50 (1998) (2), pp. 129–146.
52. O. Montonen *et al.*, Tissue distribution and cell type-specific expression of p120ctn isoforms, *J. Histochem. Cytochem.* 49 (2001) (12), pp. 1487–1496.

53. Aho *et al.*, Specific sequences in p120<sup>ctn</sup> determine subcellular distribution of its multiple isoforms involved in cellular adhesion of normal and malignant epithelial cells, *J. Cell. Sci.* 115 (2002) (Pt 7), pp. 1391–1402.
54. A. Wodarz and R. Nusse, Mechanisms of Wnt signaling in development, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 14 (1998), pp. 59–88
55. V. Easwaran *et al.*, The ubiquitin-proteasome pathway and serine kinase activity modulate adenomatous polyposis coli protein-mediated regulation of beta-catenin-lymphocyte enhancer-binding factor signaling, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) (23), pp. 16641–16645.
56. J. Gottardi and B.M. Gumbiner, Distinct molecular forms of beta-catenin are targeted to adhesive or transcriptional complexes, *J. Cell Biol.* 167 (2004) (2), pp. 339–349.
57. Hatsell *et al.*, Beta-catenin and Tcfs in mammary development and cancer, *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 8 (2003) (2), pp. 145–158
58. R.H. Giles, J.H. van Es and H. Clevers, Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer, *Biochim. Biophys. Acta* 1653 (2003) (1), pp. 1–24.
59. M.W. Klymkowsky, beta-catenin and its regulatory network, *Hum. Pathol* 36 (2005) (3), pp. 225–227
60. R.T. Moon *et al.*, WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies, *Nat. Rev. Genet.* 5 (2004) (9), pp. 691–701
61. J. Behrens and B. Lustig, The Wnt connection to tumorigenesis, *Int. J. Dev. Biol.* 48 (2004) (5-6), pp. 477–487.
62. J.A. MARRS and W.J. Nelson, Cadherin cell adhesion molecules in differentiation and embryogenesis, *Int. Rev. Cytol.* 165 (1996), pp. 159–205.
63. U. Tepass *et al.*, Cadherins in embryonic and neural morphogenesis, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1 (2000) (2), pp. 91–100.
64. M.J. Wheelock and K.R. Johnson, Cadherins as modulators of cellular phenotype, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19 (2003), pp. 207–235
65. M.J. Wheelock and K.R. Johnson, Cadherin-mediated cellular signaling, *Curr. Opin. Cell Biol.* 15 (2003) (5), pp. 509–514. |

66. M. Takeichi and K. Abe, Synaptic contact dynamics controlled by cadherin and catenins, *Trends Cell Biol.* 15 (2005) (4), pp. 216–221
67. M. Ozawa, H. Baribault and R. Kemler, The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species, *Embo. J.* 8 (1989) (6), pp. 1711–1717.
68. McCrea, C.W. Turck and B. Gumbiner, A homolog of the armadillo protein in *Drosophila* (plakoglobin) associated with E-cadherin, *Science* 254 (1991) (5036), pp. 1359–1361.
69. R. Kemler, From cadherins to catenins: cytoplasmic protein interactions and regulation of cell adhesion, *Trends Genet.* 9 (1993), pp. 317–321
70. D.L. Rimm *et al.*, Alpha 1(E)-catenin is an actin-binding and-bundling protein mediating the attachment of F-actin to the membrane adhesion complex, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92 (1995) (19), pp. 8813–8817.
71. K.A. Knudsen *et al.*, Interaction of alpha-actinin with the cadherin/catenin cell-cell adhesion complex via alpha-catenin, *J. Cell Biol.* 130 (1995) (1), pp. 67–77.
72. L.M. Pai *et al.*, *Drosophila* alpha-catenin and E-cadherin bind to distinct regions of *Drosophila* Armadillo, *J. Biol. Chem.* 271 (1996) (50), pp. 32411–32420.
73. F. Drees *et al.*, Alpha-catenin is a molecular switch that binds E-cadherin-beta-catenin and regulates actin-filament assembly, *Cell* 123 (2005) (5), pp. 903–915.
74. S. Yamada *et al.*, Deconstructing the cadherin-catenin-actin complex, *Cell* 123 (2005) (5), pp. 889–901
75. A. Kobiela and E. Fuchs, Alpha-catenin: at the junction of intercellular adhesion and actin dynamics, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5 (2004) (8), pp. 614–625
76. J. Schnekenburger *et al.*, Protein tyrosine phosphatase kappa and SHP-1 are involved in the regulation of cell-cell contacts at adherens junctions in the exocrine pancreas, *Gut* 54 (2005) (10), pp. 1445–1455. ).
77. K. Takahashi *et al.*, Nectin/PRR: an immunoglobulin-like cell adhesion molecule recruited to cadherin-based adherens junctions through interaction with Afadin, a PDZ domain-containing protein, *J. Cell Biol.* 145 (1999) (3), pp. 539–549.

78. K. Irie *et al.*, Roles and modes of action of nectins in cell-cell adhesion, *Semin. Cell Dev. Biol.* 15 (2004) (6), pp. 643–656.
79. (W. Birchmeier, K.M. Weidner and J. Behrens, Molecular mechanisms leading to loss of differentiation and gain of invasiveness in epithelial cells, *J. Cell Sci.* 17 (1993), pp. 159–164.
80. Y. Kanai *et al.*, c-erbB-2 gene product directly associates with beta-catenin and plakoglobin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 208 (1995) (3), pp. 1067–1072.
81. J.M. Daniel and A.B. Reynolds, Tyrosine phosphorylation and cadherin/catenin function, *Bioessays* 19 (1997) (10), pp. 883–891.
82. T. Muller *et al.*, Phosphorylation and free pool of beta-catenin are regulated by tyrosine kinases and tyrosine phosphatases during epithelial cell migration, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) (15), pp. 10173–10183.
83. S. Roura *et al.*, Regulation of E-cadherin/Catenin association by tyrosine phosphorylation, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) (51), pp. 36734–36740.
84. K. Haraguchi *et al.*, Activation of beta-catenin-TCF-mediated transcription by non-receptor tyrosine kinase v-Src, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313 (2004) (4), pp. 841–844.
85. (M. Conacci-Sorrell, J. Zhurinsky and A. Ben-Ze'ev, The cadherin-catenin adhesion system in signaling and cancer, *J. Clin. Invest.* 109 (2002) (8), pp. 987–991.
86. A.S. Yap and E.M. Kovacs, Direct cadherin-activated cell signaling: a view from the plasma membrane, *J. Cell Biol.* 160 (2003) (1), pp. 11–16.
87. M. Takeichi, Morphogenetic roles of classic cadherins, *Curr. Opin. Cell Biol.* 7 (1995) (5), pp. 619–627.
88. U. Tepass *et al.*, Epithelial cell polarity and cell junctions in *Drosophila*, *Annu. Rev. Genet.* 35 (2001), pp. 747–784.)
89. Kao SJ, Lei HC, Kuo CT, Chang MS, Chen BC, Chang YC, Chiu WT, Lin CH. Lipoteichoic acid induces nuclear factor-kappaB activation and nitric oxide synthase expression via phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, and p38 MAPK in RAW 264.7 macrophages. *Immunology.* 2005 Jul;115(3):366-74.)

90. Gunhild Øverland, *et al.* The Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B Signaling Pathway Is Activated by Lipoteichoic Acid and Plays a Role in Kupffer Cell Production of Interleukin-6 (IL-6) and IL-10. *Infect Immun.* 2004 October; 72(10): 5704–5711.
91. L. Zhang, *et al.* Inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase/Akt or mitogen-activated protein kinase signaling sensitizes endothelial cells to TNF- $\alpha$  cytotoxicity. *Cell Death and Differentiation* 8,528-536. (2001).
92. Monick MM, Carter AB, *et al.* Lipopolysaccharide activates Akt in human alveolar macrophages resulting in nuclear accumulation and transcriptional activity of beta-catenin. *J Immunol.* 2001 Apr 1;166(7):4713-20.
93. Ai Z, Fischer A, *et al.* Wnt-1 regulation of connexin43 in cardiac myocytes. *J Clin Invest.* 2000 Jan;105(2):161-71.
94. Thompson JE, Thompson CB. Putting the rap on Akt. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4217–4226.
95. Brozovic A, Fritz G, Christmann M, Zisowsky J, Jaehde U, Osmak M *et al.* Long-term activation of SAPK/JNK, p38 kinase and fas-L expression by cisplatin is attenuated in human carcinoma cells that acquired drug resistance. *Int J Cancer* 2004; 112: 974–985.
96. Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT – a major therapeutic target. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1697: 3–16.
97. Zhou BP, Hung MC. Novel targets of Akt, p21(Cip1/WAF1), and MDM2. *Semin Oncol* 2002; 29: 62–70.
98. Mayo LD, Donner DB. The PTEN, Mdm2, p53 tumor suppressor-oncoprotein network. *Trends Biochem Sci* 2002; 27: 462–467.
98. Freer EL, Brunet A. FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression. *Oncogene* 2005; 24: 7410–7425.
99. Arden KC, Biggs III WH. Regulation of the FoxO family of transcription factors by phosphatidylinositol-3 kinase-activated signaling. *Arch Biochem Biophys* 2002; 403: 292–298.
100. Van Der Heide LP, Hoekman MF, Smidt MP. The ins and outs of FoxO shuttling: mechanisms of FoxO translocation and transcriptional regulation. *Biochem J* 2004; 380: 297–309.



101. Cappellini A, Tabellini G, Zweyer M, Bortul R, Tazzari PL, Billi AM *et al.* The phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway regulates cell cycle progression of HL60 human leukemia cells through cytoplasmic relocalization of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) and control of cyclin D1 expression. *Leukemia* 2003; 17: 2157–2167.
102. Ggarwal BB. Nuclear factor-B: the enemy within. *Cancer Cell* 2004; 6: 203–208.
103. Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappaB activation: a question of life or death. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35: 28–40.
104. Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-B. *Genes Dev* 2004; 18: 2195–2224.
105. Hanada M, Feng J, Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT – a major therapeutic target. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1697: 3–16.
106. Sherr CJ, Roberts Cappellini A, Tabellini G, Zweyer M, Bortul R, Tazzari PL, Billi AM *et al.* The phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway regulates cell cycle progression of HL60 human leukemia cells through cytoplasmic relocalization of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) and control of cyclin D1 expression. *Leukemia* 2003; 17: 2157–2167.
107. JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13: 1501–1512.
108. Diehl JA, Cheng M, Roussel MF, Sherr CJ. Glycogen synthase kinase-3 regulates cyclin D1 proteolysis and subcellular localization. *Genes Dev* 1998; 12: 3499–3511.
109. Ramaswamy S, Nakamura N, Sansal I, Bergeron L, Sellers WR. A novel mechanism of gene regulation and tumor suppression by the transcription factor FKHR. *Cancer Cell* 2002; 2: 81–91.
110. Schmidt M, Fernandez de Mattos S, van der Horst A, Klompaker R, Kops GJ, Lam EW *et al.* Cell cycle inhibition by FoxO forkhead transcription factors involves downregulation of cyclin D. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 7842–7852.
111. Wendel HG, De Stanchina E, Fridman JS, Malina A, Ray S, Kogan S *et al.* Survival signalling by Akt and eIF4E in oncogenesis and cancer therapy. *Nature* 2004; 428: 332–337.
112. Fingar DC, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene* 2004; 23: 3151–3171.

113. Tokunaga C, Yoshino K, Yonezawa K. mTOR integrates amino acid- and energy-sensing pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 443–446.
114. Martin DE, Soulard A, Hall MN. TOR regulates ribosomal protein gene expression via PKA and the Forkhead transcription factor FHL1. *Cell* 2004; 119: 969–979.
115. Prunier C, Hocevar BA, Howe PH. Wnt signaling: physiology and pathology. *Growth Factors* 2004; 22: 141–150

### **Referencias electrónicas (R. E)**

1. <http://www.tambcd.edu/oralexam/exam05.htm>
2. [http://www.iqb.es/Odonto/LTAas/cap1/c1\\_165sm.htm](http://www.iqb.es/Odonto/LTAas/cap1/c1_165sm.htm)
3. [odontoweb.espaciolatino.com/pacientes/cavoral/encias.html](http://odontoweb.espaciolatino.com/pacientes/cavoral/encias.html)
4. <http://www.dental.pitt.edu/informatics/periohistology/en/gu0202.htm>
5. [http://zbio.net/pictures/melanocytes\\_e.jpg](http://zbio.net/pictures/melanocytes_e.jpg)
6. [virlib.brinkster.net/lch\\_images/lc.gif](http://virlib.brinkster.net/lch_images/lc.gif)
7. [www.zonamedica.com.ar/.../susceptibilidad.htm](http://www.zonamedica.com.ar/.../susceptibilidad.htm)
8. <http://www.mingha-africa.org/img/progetti/foto1.gif>
9. [es.encarta.msn.com](http://es.encarta.msn.com)
10. [soko.com.ar/Biologia/Sida/Img\\_linf\\_B\\_1.htm](http://soko.com.ar/Biologia/Sida/Img_linf_B_1.htm)
11. [www.unifal-mg.edu.br/.../Tconjuntivo.htm](http://www.unifal-mg.edu.br/.../Tconjuntivo.htm)
12. [www.dental.pitt.edu/informatics/periohistology/de/gu0207.htm](http://www.dental.pitt.edu/informatics/periohistology/de/gu0207.htm)
13. [http://www.mercksource.com/ppdocs/us/common/dorlands/dorland/chapters/images/w0146\\_p\\_21.jpg](http://www.mercksource.com/ppdocs/us/common/dorlands/dorland/chapters/images/w0146_p_21.jpg)
14. [dentistry.ouhsc.edu/.../Chapter5/5.4.html](http://dentistry.ouhsc.edu/.../Chapter5/5.4.html)
15. [www.odontologia.com.br](http://www.odontologia.com.br)
16. [www.doctorspiller.com](http://www.doctorspiller.com)

17. [dentistry.ouhsc.edu/.../Chapter5/Images/5\\_3.jpg](http://dentistry.ouhsc.edu/.../Chapter5/Images/5_3.jpg)
18. [www.anatomy.uq.edu.au](http://www.anatomy.uq.edu.au)
19. [bioanthropology.huji.ac.il](http://bioanthropology.huji.ac.il)
20. <http://www.zonamedica.com.ar/categorias/medicinailustrada/osteoporosis/es/trucutra.htm>
21. [www.visualsunlimited.com/.../350/350707.jpg](http://www.visualsunlimited.com/.../350/350707.jpg)
22. [http://corygres.myweb.uga.edu/links/plaque\\_pic.JPG](http://corygres.myweb.uga.edu/links/plaque_pic.JPG)
23. [www.iqb.es/odonto/altas/cap3/ppics/c3\\_775sm.jpg](http://www.iqb.es/odonto/altas/cap3/ppics/c3_775sm.jpg)
24. [www.ctv.es/USERS/darioul/periodo3.jpg](http://www.ctv.es/USERS/darioul/periodo3.jpg)
25. <http://www.osel.cz/soubory/358/3.jpg>
26. [dpovey.tripod.com/cause.html](http://dpovey.tripod.com/cause.html)
27. [www.fryarortho.com/tonguethrust.htm](http://www.fryarortho.com/tonguethrust.htm)
28. [http://www.ludwig.ucl.ac.uk/buzz\\_html/assaysphago\\_content.htm](http://www.ludwig.ucl.ac.uk/buzz_html/assaysphago_content.htm)
29. [http://www.nature.com/emboj/journal/v16/n5/fig\\_tab/7590092f5.html](http://www.nature.com/emboj/journal/v16/n5/fig_tab/7590092f5.html)
30. [cmbi.bjmu.edu.cn/.../cytweb/cyt\\_strucs/il8.gif](http://cmbi.bjmu.edu.cn/.../cytweb/cyt_strucs/il8.gif)
31. [www.nature.com/.../n6797/images/406782aa.0.jpg](http://www.nature.com/.../n6797/images/406782aa.0.jpg)
33. [www.nature.com/nri/focus/tlr/nri1397-v1.html](http://www.nature.com/nri/focus/tlr/nri1397-v1.html)