



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

VIRULENCIA DE LA CEPA W83
DE LA *Porphyromonas gingivalis*
EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

SINDY NAVA HERMOSILLO

TUTORA: Esp. MARÍA CONCEPCIÓN ÁLVAREZ GARCÍA



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.

A Dios

Por darme la vida, por bendecirme con la familia que tengo, por poner en mi camino a todas las personas importantes que pusiste, por guiarme en el camino del bien, por cuidarme y por permitirme crecer emocionalmente, físicamente, personalmente y profesionalmente. Gracias Dios mío.

A mi padre

Carlos Nava, por inculcarme el valor de la responsabilidad, por apoyarme siempre en todos los momentos difíciles de mi vida, por los regaños también que me enderezaron el camino y me ayudaron a continuar los estudios; por el amor y la paciencia que me has tenido siempre. Te amo papá.

A mi madre

Eva Hermosillo, por estar siempre para mí cuando necesitaba un consejo, por guardar mis secretos, por secar mis lágrimas cuando sentía que no podía más, por todo el apoyo y el amor que me diste en cada momento, por cuidarme a mis chiquitines y por quedarte aquí con nosotros. Te amo mamá.

A mis hermanos

Kristian y César Nava, por todos los momentos de risas, por el apoyo que me han brindado, por los consejos y regaños que me han dado, por escucharme, por ayudarme con los chiquitines y por el cariño que siempre nos hemos tenido. Los amo con todo el corazón.

A mi esposo

Saúl Rodríguez, por darme el apoyo para concluir mi carrera universitaria, por comprender cada situación que se presentó, por todas las risas, los abrazos y el amor que me has tenido desde que nos conocemos, por la familia hermosa que formamos, y por hacerme ver el valor del esfuerzo en cada parte de la vida. Gracias por no dejarme sola. Te amo muchote amor.

A mis hijos

Leonardo David y Emilio Rafael, por no dejarme vencer en el camino, por impulsarme a ser mejor cada día, por todo el amor que me dan siempre, por hacerme feliz cada día y por ser el motivo para terminar mi carrera universitaria, espero ser un buen ejemplo para ustedes y espero que lleguen más lejos que yo. Siempre fue por y para ustedes mis niños, los amo con todas las fuerzas de mi corazón.

A las mujeres importantes de mi vida

Teresa, Celia, Minerva, Norma, Argelia, Isabel, Brenda, Jazmín, Ivonne, Sumiko, Georgina, Valeria y Hanna, por su valiosa amistad, por los momentos de risas y por el apoyo y consejos que me dieron cuando lo necesité. Solo las mejores amigas se quedaron conmigo hasta el final. Las quiero mucho.

A mi Universidad y docentes

Porque gracias a la UNAM y a mis docentes puedo salir bien preparada para enfrentar el mundo.

A mi tutora y coordinadora

Esp. María Concepción y Mtra. Amalia, gracias a su experiencia, tiempo y paciencia, para que esta tesina fuera un gran trabajo, con mucho aprecio les estaré siempre agradecida.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
OBJETIVO.....	7
CAPÍTULO 1 <i>Porphyromonas gingivalis</i>.....	8
1.1 Características de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	8
1.2 Estructura de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	9
1.3 Crecimiento de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	11
1.4 Relación de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> con el biofilm dental.	12
1.5 Invasión del huésped por la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
CAPÍTULO 2 FACTORES DE VIRULENCIA DE LA	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>.....	16
2.1 Definición de virulencia.....	16
2.2 Definición de factores de virulencia.....	16
2.3 Factores de virulencia de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	16
2.3.1 Lipopolisacáridos de la membrana externa de la	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	18
2.3.2 Cápsula de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	20
2.3.3 Fimbrias de la membrana externa de la <i>Porphyromonas</i>	
<i>gingivalis</i>	20

2.3.4	Proteasas de las vesículas de la membrana externa de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	22
2.3.5	Adhesinas de la membrana externa de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	24
2.3.6	Componentes no proteolíticos de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	25
2.3.7	Relación de la hemina con la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	26

CAPÍTULO 3 CEPAS DEL GENOMA DE LA *Porphyromonas gingivalis*..... 27

3.1	Definición de genoma.....	27
3.2	Definición de cepa bacteriana.....	27
3.3	Genoma de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	27
3.4	Cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	30
3.4.1	Genes específicos de la Cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	34
3.4.2	Virulencia de la Cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> .	35
3.4.3	Importancia de la Cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i>	35

CAPÍTULO 4 VIRULENCIA DE LA CEPA W83 DE LA *Porphyromonas gingivalis* EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL..... 36

4.1	La <i>Porphyromonas gingivalis</i> en la enfermedad periodontal...	36
-----	--	----

4.2	Implicación de la virulencia de la cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> en la enfermedad periodontal.....	37
4.3	Mecanismos de virulencia de la cepa W83 de la <i>Porphyromonas gingivalis</i> en la enfermedad periodontal.....	38

CONCLUSIONES.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
GLOSARIO.....	46

INTRODUCCIÓN

En la cavidad oral se han detectado más de 7000 especies bacterianas, de las cuales cerca de 400 están presentes en el biofilm supra y subgingival.

Entre las especies bacterianas relacionadas con la enfermedad periodontal y residentes de los espacios subgingivales, se encuentran la *Tannarella forsythia*, el *Treponema denticola* y la *Porphyromonas gingivalis*, esta última considerada como el mayor agente causal de la enfermedad periodontal.

La *Porphyromonas gingivalis* pertenece al género *bacteroides*; es una bacteria constituida por células procariotas, gram negativa, no móvil, anaerobia, que requiere principalmente de hemina en su entorno para su estabilidad y crecimiento; al ser colonizador secundario, se encuentra en el conglomerado de colonias de otros microorganismos, y se extiende hacia la profundidad de las bolsas periodontales.

La secuencia completa del genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* es de vital importancia, dado que en ella se encuentran las características de su virulencia, pues obtenida de un cultivo puro, tiene más del 80% del genoma central de la bacteria e incluye los genes que le confieren su virulencia; esto nos puede ayudar a descifrar los factores y mecanismos que tiene la *Porphyromonas gingivalis* para la progresión de la enfermedad periodontal.

Para comprender la virulencia de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*, se deben conocer los factores de virulencia implicados, que afectan directamente al periodonto y actúan en conjunto para causar destrucción periodontal.

En cuanto a sus mecanismos de virulencia se encuentran las proteasas extracelulares, que son principalmente enzimas con actividad proteolítica para colágeno; lipopolisacáridos asociados a enfermedades sistémicas, fimbrias que tienen adhesinas que son capaces de invadir e infiltrarse en los tejidos; en conjunto estos factores le confieren la habilidad de replicarse y sobrevivir en el huésped.

Sin embargo, el desarrollo de la enfermedad periodontal es un proceso multifactorial, donde existen factores que predisponen al huésped a padecerla, dando como resultado la pérdida del ligamento y promoviendo una reabsorción ósea progresiva que finaliza con la pérdida dental.

La relación de la *Porphyromonas gingivalis* con otras bacterias potencialmente periodontopatógenas le permite colonizar regiones subgingivales entre la superficie dental y el margen gingival, interactuando con células del huésped, liberando mediadores inflamatorios que dañan al tejido conjuntivo y óseo.

Por lo tanto, cuando la enfermedad periodontal se encuentra establecida, los distintos factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis*, pueden causar afectaciones en los tejidos gingivales, periodontales y óseos; pero investigaciones recientes, demuestran que las colonias bacterianas pueden diseminarse sistémicamente y provocar daños graves a nivel cardíaco, pulmonar, óseo y en mujeres embarazadas puede causar partos prematuros.

El estudio del genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*, nos dará una amplia visión de su capacidad de virulencia en el huésped, nos dará explicaciones de la función de los mismos, y lograremos entender porqué esta cepa es la más virulenta de todas al contener más del 80% del material genético del genoma central de la bacteria.

OBJETIVO

- Identificar en la cepa W83 el genoma central bacteriano de la *Porphyromonas gingivalis*, así como sus factores de virulencia y función.

CAPÍTULO 1 *Porphyromonas gingivalis*

1.1 Características de la *Porphyromonas gingivalis*

La *Porphyromonas gingivalis* pertenece a la familia *Porphyromonadaceae* del reino *Bacteria*, género *Bacteroides* y especie *Porphyromonas*; es una bacteria constituida por células procariontas, gram negativa no móvil que requiere de condiciones anaeróbicas para su crecimiento y de la presencia de hemina y vitamina k en su entorno para poder sobrevivir.

De la misma manera, la *Porphyromonas gingivalis* es una bacteria que ingresa al organismo del huésped por el contagio con otro organismo infectado ya que el principal medio de transmisión es la saliva. Al ser un colonizador tardío de la cavidad oral, su unión es facilitada por otras bacterias, y al ser asacarolítico, lo podemos encontrar en la profundidad del surco gingival, donde los azúcares son extremadamente escasos y donde se relaciona con la microbiota que la coloniza.

Las colonias de la *Porphyromonas gingivalis* se encuentran en yuxtaposición al tejido gingival, donde hay bacterias que le ayudan a reducir la tensión de oxígeno a niveles óptimos para su reproducción y desarrollo; así como la reducción de los niveles de sacarosa al mínimo. Este tipo de relaciones bacterianas funcionan entre sí produciendo y desechando componentes que entre ellas necesitan para mantener sus funciones óptimas.

La *Porphyromonas gingivalis* es una bacteria capaz de sobrevivir entre las células del huésped, de manipular a su favor la inmunidad innata y sistemáticamente puede diseminarse a otros tejidos del organismo causando complicaciones más graves, entre ellas: daños a nivel cardiaco, pulmonar, óseo y en mujeres embarazadas puede causar partos prematuros.^{1, 2, 3, 4, 5}

1.2 Estructura de la *Porphyromonas gingivalis*

Las especies del género de la *Porphyromonas gingivalis* pueden llegar a medir de 0.5 – 0.8µm x 1 - 3.5 µm de diámetro, y dependiendo a su morfología pueden ser cocos o bacilos. La *Porphyromonas gingivalis*, está compuesta por vesículas, cápsula, múltiples fimbrias, membrana de lipopolisacáridos, hemaglutininas, proteasas, etc (figura 1).⁶ El material genético bacteriano se encuentra comprendido usualmente en un cromosoma circular, disperso en el citoplasma de la bacteria.⁵

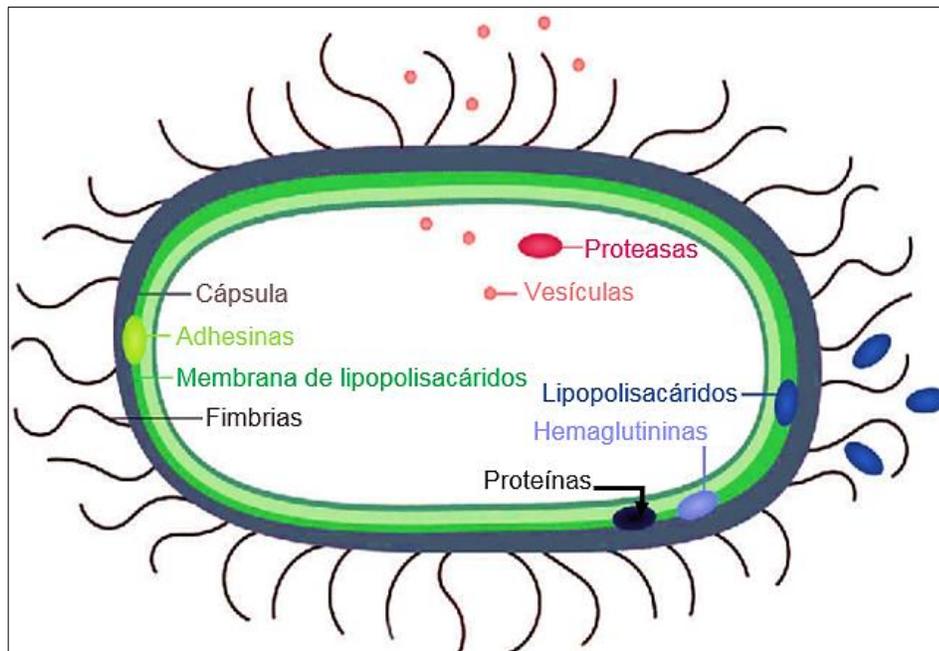


Figura 1 Esquema de los componentes de la *Porphyromonas gingivalis*.

Cada componente estructural e interno de la *Porphyromonas gingivalis*, tiene un papel importante para su replicación, adherencia y estabilidad, y en conjunto forman parte de la estructura y virulencia de la bacteria:

- **Cápsula.** Es la envoltura externa de la bacteria, compuesta de polisacáridos y proteínas, evita la fagocitosis.

-
- **Fimbrias.** Son estructuras filamentosas abundantes y cortas, compuestas de proteína *FimA*, sirven para adherirse a componentes de la matriz extracelular, a otras cepas bacterianas y a células epiteliales del huésped.
 - **Membrana de lipopolisacáridos.** Incluye endotoxinas, para la desregulación de la respuesta inmunitaria e inflamatoria del huésped.
 - **Vesículas.** Son sacos cerrados que se encuentran a nivel de la superficie externa de la bacteria, e incluyen en su interior proteínas, citotoxinas, enzimas y antígenos, que se encargan de darle a la *Porphyromonas gingivalis* la capacidad de difundir su virulencia e infiltrarse en los tejidos periodontales, incluyendo las células epiteliales del huésped. Entre las enzimas liberadas se encuentran las proteasas, que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas adquiriendo hemina de su composición y las hemaglutininas, que promueven la colonización por mediación de la unión bacteriana a receptores celulares del huésped.
 - **Componentes no proteolíticos.** Como el sulfuro de dimetileno que inhibe la síntesis de proteínas del huésped; el butirato y el propionato, componentes citotóxicos que además de ser los causantes del mal olor en las periodontitis crónicas, impiden la formación de tejido óseo interfiriendo con células epiteliales, fibroblastos y linfocitos.^{7, 8, 5, 9}

1.3 Crecimiento de la *Porphyromonas gingivalis*

Al igual que otros patógenos, la *Porphyromonas gingivalis* requiere de hierro para su crecimiento, el cual adquiere de las hemoproteínas de la saliva, del fluido gingival crevicular, de los eritrocitos y de las células del huésped, y se ingresa a la célula por la destrucción de hemina, la hemoglobina y otras proteínas del huésped mediante sus proteasas incluyendo la proteína *HmuY*, que se encuentra en la membrana externa de la cápsula de la *Porphyromonas gingivalis*, y se encarga de tomar la hemina de todos estos sitios.

Al ser la principal fuente de hierro de la *Porphyromonas gingivalis*, la hemina funciona como catalizador para la iniciación del proceso en donde la célula bacteriana obtendrá su energía metabólica. De la misma manera, la hemina ayuda a la *Porphyromonas gingivalis* a crecer, por lo cual se almacena en la superficie de la membrana externa, formando un pigmento negro que además le sirve de protección al medio externo (figura 2).¹⁰

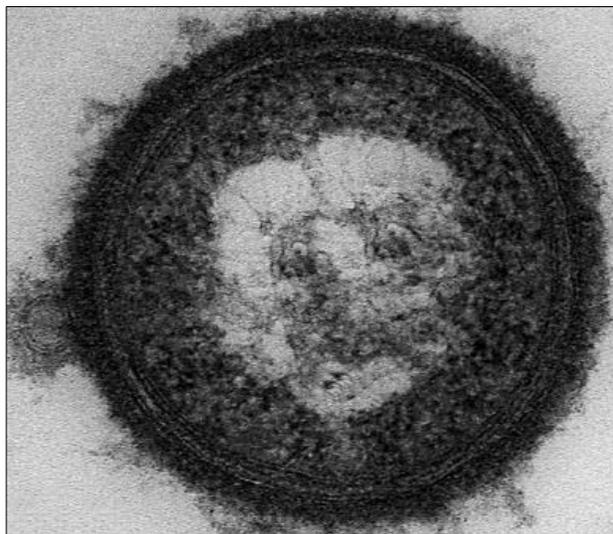


Figura 2 Imagen de microscopio electrónico de transmisión de la *Porphyromonas gingivalis*, donde se observa la pigmentación negra superficial.

El crecimiento de la *Porphyromonas gingivalis* se establecerá a través del incremento en el número de células de una población y por el aumento de la colonia bacteriana; el cual se da exponencialmente por el número de células que se duplica cada cierto tiempo.^{11, 4}

1.4 Relación de la *Porphyromonas gingivalis* con el biofilm dental

La *Porphyromonas gingivalis* es considerada un colonizador tardío, encontrada principalmente en cavidad oral de pacientes adultos (por el ambiente y necesidades ecológicas); se encuentra en yuxtaposición del tejido gingival, en zonas con poca higiene, inflamación de tejidos y colonias bacterianas gram positivas. Obtiene su energía metabólica mediante la fermentación de aminoácidos.

Antes de terminar de formar una colonia bacteriana, la *Porphyromonas gingivalis* se puede encargar de enlazar a otros colonizadores (como *Bacteroides*, *Fusobacterium* y *Treponema denticola*), permitiéndole una mayor relación nutricional y otro tipo de desarrollo de mecanismos con señalización intercelular.

La anatomía del surco gingival y de la superficie radicular influye en la formación del biofilm bacteriano, ya que son sitios que tienen mínimo contacto con las funciones protectoras de la saliva, convirtiéndose en un área de retención bacteriana. Para la formación del biofilm dental bacteriano, los colonizadores iniciales se unen a la película adquirida del esmalte, formada por estaterinas, mucinas, amilasa, prolina, proteínas y fragmentos de células bacterianas; los colonizadores tardíos se unen a las otras bacterias colonizadoras, su organización conlleva a cierta patogenicidad creciendo exponencialmente cada 24 a 48hrs.^{1, 3, 12, 13, 14}

Entre los colonizadores iniciales del biofilm dental se encuentran: *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Propionibacterium acnes*, *Veillonella atypica*, *Actinomyces naeslundii* y *Fusobacterium nucleatum*; y se continúa posteriormente con la unión de bacterias colonizadoras secundarias como la *Porphyromonas gingivalis*, el *Treponema spp.* y el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (figura 3).¹³

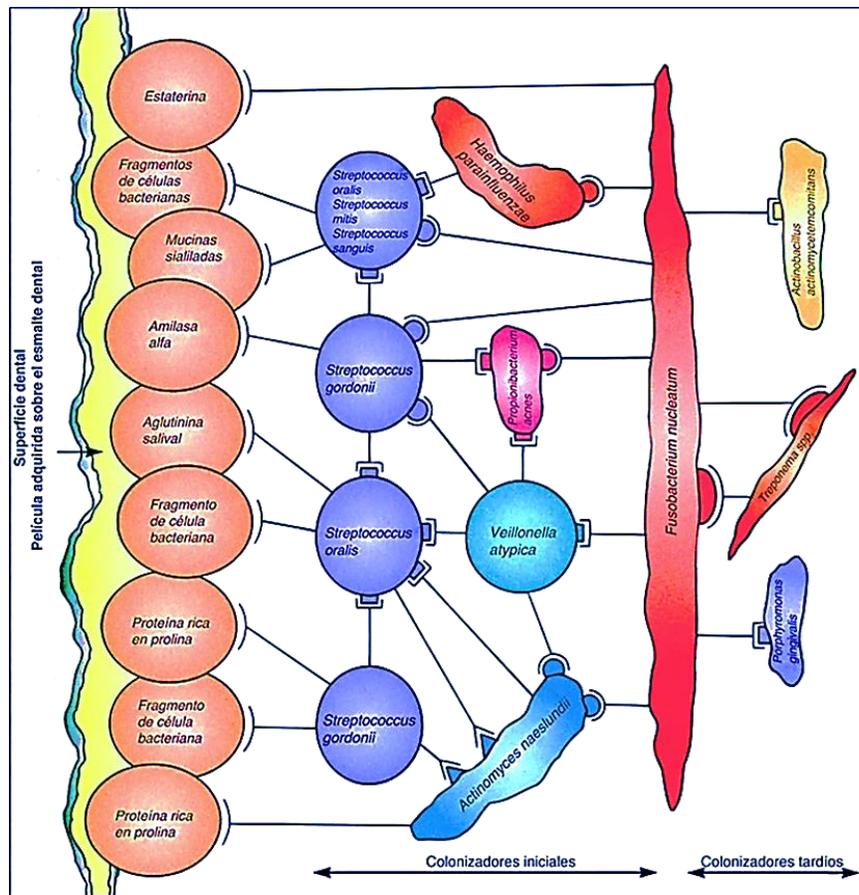


Figura 3 Formación del biofilm dental, los colonizadores iniciales se unen a la película adquirida del esmalte, formada por estaterinas, mucinas, amilasa, prolina, proteínas y fragmentos de células bacterianas; los colonizadores tardíos se unen a las otras bacterias establecidas.

Secundariamente se seguirán uniendo bacterias, hasta colonizar por completo la zona del surco gingival. Mientras no se haga un cambio en la higiene del huésped, o se trate de eliminar la formación del conglomerado bacteriano, las bacterias con potencial periopatogénico como la *Porphyromonas gingivalis* seguirán progresando con la enfermedad, causando destrucción en los tejidos gingivales, periodontales y óseos.

1.5 Invasión del huésped por la *Porphyromonas gingivalis*

La *Porphyromonas gingivalis* al ser un comensal secundario del surco gingival, tiene la capacidad de adherirse por medio de sus fimbrias, cápsula y vesículas a las células epiteliales en un periodo aproximado de 20 minutos, continuando con la replicación, el aumento en el número de bacterias y colonias y esperando la progresión de la enfermedad periodontal.

El aumento en el número de colonias de la *Porphyromonas gingivalis* en el surco gingival continúa aun cuando se activa la respuesta inmune del huésped, atrayendo también a otro tipo de bacterias a la colonización de la zona periodontal.

A su vez, la interacción de la *Porphyromonas gingivalis* con otras bacterias es importante para mantener una biopelícula infecciosa pues es capaz de invadir los tejidos y las células epiteliales gingivales mediante sus factores de virulencia, estrategia que usa para tener una limitada exposición al ambiente extracelular y evitar la respuesta inmune del huésped. Por ello, las células epiteliales funcionan como barrera mecánica contra los patógenos periodontales, y como sensores de infección bacteriana; cuando esta barrera se rompe, las bacterias se internalizan a las células epiteliales diseminándose y controlando la señalización del huésped para iniciar la invasión celular.

Una vez que la *Porphyromonas gingivalis* invade a la célula, se afecta el ciclo celular, y se acelera la proliferación de las células del epitelio gingival; no hay signos de apoptosis o necrosis, y comienza a secretarse una enzima que hidroliza el adenosín trifosfato (ATP), permitiendo la supervivencia de la bacteria en las células del huésped.

Posteriormente, la *Porphyromonas gingivalis* puede diseminarse de célula a célula, causando muerte celular. Esto constituye el mecanismo de expansión del epitelio de la bolsa periodontal característico de la periodontitis, debido a la acumulación de bacterias en el surco gingival que irrita los tejidos periodontales, causando una mayor actividad proteolítica en la zona.

La *Porphyromonas gingivalis* puede persistir por largos periodos de tiempo en las células del huésped, replicándose intracelularmente, formando colonias bacterianas y dejando la enfermedad periodontal activa causando cierta cronicidad.^{15, 3, 9}

CAPÍTULO 2 FACTORES DE VIRULENCIA DE LA *Porphyromonas gingivalis*

2.1 Definición de virulencia

La virulencia se define como el grado de patogenicidad de un microorganismo que se valora por la gravedad de la enfermedad producida y la capacidad de invadir los tejidos del huésped y sus efectos severamente patológicos.¹⁶

2.2 Definición de factores de virulencia

Los factores de virulencia son moléculas que ejercen cierto daño en las células del huésped, resultando en el establecimiento y mantenimiento de las especies bacterianas dentro de las células del huésped. Las bacterias poseen factores de virulencia que le ayudan a inhabilitar las defensas del huésped; la eficacia de estos factores, favorecen el crecimiento de las colonias bacterianas durante la infección y definen la virulencia de la bacteria.

La adherencia bacteriana mediante diversos mecanismos al huésped es el primer paso a la colonización y su posterior virulencia.^{17, 18}

2.3 Factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis*

Para poder replicarse y progresar hacia la enfermedad periodontal, la *Porphyromonas gingivalis* ha desarrollado como parte de su estructura un conjunto de factores de virulencia, capaces de inhabilitar la respuesta inmune del huésped y desintegrar los componentes celulares y estructurales de los tejidos periodontales.

Los factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* facilitarán la colonización del surco gingival, la iniciación de la enfermedad periodontal y su progreso; e incluyen proteasas, polisacáridos, lipopolisacáridos, adhesinas, fimbrias, proteínas e invasinas; que en conjunto manejan la respuesta inmune del huésped.

La presencia de los factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* inhiben la secreción de Interleucina-8 (IL-8) por las células epiteliales gingivales, debilitando la inmunidad innata del huésped, y evitando la fagocitosis; como consecuencia hay una exposición bacteriana constante, resultado de un crecimiento excesivo de colonias bacterianas; además los factores de virulencia pueden activar la respuesta inflamatoria, mediante citocinas y quimiocinas, estimulando la destrucción de tejido óseo y en general del área periodontal, con la ayuda de la activación de componentes celulares del huésped. Las funciones de esos compuestos son:

- **Interleucina-1Beta (IL-1 β).** Es una citocina con funciones reguladoras en el proceso inflamatorio, y es producida por monocitos y macrófagos; e inducida por bacterias, productos bacterianos, agentes inflamatorios, y antígenos en respuesta a su estimulación. Los fibroblastos gingivales y periodontales proliferan y liberan más prostaglandinas, además la síntesis de colágena y la actividad de la hialuronidato sintetasa aumentan y se estimula la resorción de hueso. La IL-1 β es el prototipo de citocina proinflamatoria que induce la expresión de una variedad de genes y la síntesis de varias proteínas que inducen cambios en la inflamación aguda y crónica de la periodontitis.

-
- **Factor de necrosis tumoral-Alfa (TNF- α).** Son inductores potentes de las proteasas, eicosanoides, oxidasa del óxido nítrico, etc. Todos estos productos involucrados en la destrucción de la matriz extracelular, cartílago y resorción de hueso.
 - **Interleucina-6 (IL-6).** Es una citocina con propiedades pro-inflamatorias y antiinflamatorias (más predominante), segregada por macrófagos, monocitos, eosinófilos, hepatocitos etc. Es el principal regulador de la respuesta inmunológica y de reacciones de fase aguda, e induce la maduración y activación de neutrófilos, macrófagos, monocitos, fibroblastos, células del endotelio vascular y diferenciación de linfocitos T citotóxicos. La induce el Factor de Necrosis Tumoral Alfa y la Interleucina 1; puede causar fiebre y activar el eje hipofisario-adrenal. Se considera el marcador más relevante de lesión tisular.
 - **Interleucina-8 (IL-8).** Producida principalmente por monocitos, es un factor quimiotáctico que moviliza y activa a los neutrófilos, estimulando la fagocitosis. También es angiogénico.^{15, 11, 19, 3, 18}

2.3.1 Lipopolisacáridos de la membrana externa de la *Porphyromonas gingivalis*

La membrana externa celular de la *Porphyromonas gingivalis* es una estructura delgada que rodea a la célula de aproximadamente 8 μ m de espesor. Se encuentra cubierta de una capa de lipopolisacáridos, y aunque su composición varía entre capas, tienen las mismas funciones:

- Delimitar el interior de la célula con la matriz extracelular.

-
- Transportar y secretar distintas moléculas hacia la matriz extracelular.
 - Ayudar a la señalización de los receptores de las células del sistema inmune del huésped para la estimulación de citosinas inflamatorias.
 - Sintetizar moléculas para su membrana.
 - Inhibir la síntesis de colágeno en los osteoblastos.
 - Activar directamente a los osteoclastos.
 - Inducir el Factor de necrosis tumoral (TNF) a macrófagos, monocitos y fibroblastos.
 - Mantener la resistencia e integridad de la célula patógena.
 - Inducen edema y aumentan el sangrado gingival.

Los lipopolisacáridos de la *Porphyromonas gingivalis* están compuestos de: polisacáridos en el exterior, oligosacáridos en el centro y lípido A en el interior de la membrana, que además es la zona más activa. Durante la virulencia, la *Porphyromonas gingivalis* libera vesículas que contienen lipopolisacáridos, quienes invaden tejidos periodontales y activan la producción de citocinas en macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales en el huésped.

Estas características le permiten a la *Porphyromonas gingivalis* cambiar sus propiedades en respuesta a diversas señales, como cambios en el pH, temperatura o inmunidad del huésped. De la misma forma, los lipopolisacáridos de la membrana celular externa, requieren de la formación y concentración de hemina para su desarrollo y modulación estructural.^{1, 20, 3,}

10, 7, 9, 18

2.3.2 Cápsula de la *Porphyromonas gingivalis*

La cápsula es una envoltura mucosa externa de la bacteria, ubicada por fuera de la membrana celular. Está compuesta de glucosa, glucosamina, galactosa, 2acetmido-2deoxy-D-glucosa, galactosamina, ácidos galactosaminurónico, manurónico, glucorónico y galacturónico.

Así mismo, la cápsula de la *Porphyromonas gingivalis* contiene 6 serotipos capsulares (K) denominados: K1, K2, K3, K4, K5, K6, capaces de inducir úlceras y necrosis en los tejidos gingivales del huésped; además el gen codificante esencial para su síntesis es la epimerasa capsular (*epsC*).

La cápsula es una estructura de la *Porphyromonas gingivalis* implicada en la adhesión de las especies bacterianas del medio con otras; su principal función es encargarse de desregular las defensas del huésped, produciendo anticuerpos específicos contra la Inmunoglobulina-G del huésped.

Las cepas encapsuladas de la *Porphyromonas gingivalis* son resistentes a la fagocitosis, y son altamente virulentas e invasivas por lo que se encargan de diseminar la infección a los tejidos.

Esto ocurre porque la membrana externa capsular cuenta con vesículas que contienen numerosas enzimas en su interior, quienes se encargan de saturar los anticuerpos de las células del huésped antes de que fagociten a la bacteria.^{1, 3, 10, 9}

2.3.3 Fimbrias de la membrana externa de la *Porphyromonas gingivalis*

Las fimbrias son apéndices filamentosos delgados de naturaleza proteica, que miden de 0.3 a 3.0µm de largo y 5µm de ancho; están localizados en la superficie de la célula de forma peritrica; están compuestas de monómeros de fibrilina, compuestas 99% por la proteína *FimA*, y el otro 1% está compuesto por proteínas *FimC*, *FimD* y *FimE*.

Las fimbrias tienen protuberancias que facilitan su adherencia con diferentes componentes de la matriz extracelular como proteínas y células bacterianas de la misma u otras especies.

Con respecto a su clasificación, existen 6 variantes del tipo I, II, III, IV e Ib, dicho lo anterior en personas con periodontitis se encuentran las fimbrias *fimA* tipo II y IV, por lo que su producción y actividad es regulada por la actividad de las proteasas y las hemaglutininas.

Las fimbrias son dependientes de la temperatura alta (34 a 39°C) que se encuentra en los sitios inflamados subgingivales, y tienen la capacidad para unirse a otras especies bacterianas, esto les ayudará a constituir un biofilm complejo, que les ayudará a resistirse a la fagocitosis.

Las fimbrias de la *Porphyromonas gingivalis* se unen a la integrina $\beta 1$ en la superficie de las células del huésped, esto causa un reordenamiento del citoesqueleto de actina que permite la internalización de la bacteria y por consiguiente la invasión de un mayor número de células.

A su vez, las fimbrias se encargan de la adhesión a proteínas salivales y células epiteliales; y poseen propiedades quimiotácticas y de inducción de citosinas, cualidad mejorada por la hidrólisis de la fibronectina mediada por las proteasas.^{1, 15, 3, 9}

2.3.4 Proteasas de las vesículas de la membrana externa de la *Porphyromonas gingivalis*

La *Porphyromonas gingivalis* se encarga de producir y liberar grandes cantidades de vesículas, que se encuentran en la membrana externa de la célula bacteriana, y presentan en su interior enzimas como la cisteína proteasa (gingipainas), la fosfolipasa C, la fosfatasa alcalina, la hemaglutinina, las hemolisinas y los lipopolisacáridos; son secretadas y entran a las células epiteliales del huésped mediante endocitosis.

Al establecerse en las células epiteliales realizan procesos degradativos disminuyendo la migración celular. Su producción está regulada por las condiciones ambientales y la disponibilidad de hemina y nutrientes.

Las principales enzimas que se encargan de romper los enlaces peptídicos de las proteínas, son las cisteína proteasas y contribuyen al 85% de toda la actividad proteolítica de la *Porphyromonas gingivalis*.

Las proteasas que produce la *Porphyromonas gingivalis* se encargan de degradar ciertos elementos del huésped para la colonización de tejidos periodontales, ocasionando daño a las estructuras de soporte de los dientes, y son:

- Colágeno: tipo I, III, IV y V
- Fibronectina
- Fibrinógeno
- Laminina
- Queratina
- Caseína
- Lisozima
- Factores del sistema del complemento: C3, C4, C5a
- Albúmina

-
- Hemopepsina
 - Haptoglobina
 - Tranferrina
 - α -1-antitripsina
 - α -2-antiplasmina
 - α -2-microglobulina
 - Antitrombina
 - Diversas inmunoglobulinas

Las proteasas actúan estimulando a las citosinas inflamatorias en las células epiteliales orales y en los fibroblastos gingivales, para activar a la protrombina que aumenta la producción del fluido crevicular, e induce a los factores IX y X de la coagulación a iniciar una quimiotaxis de leucocitos en la zona de inflamación gingival, creando efectos similares a las citosinas inflamatorias (vasodilatación, permeabilidad vascular, y activación de células).

Además participan en la formación de fimbrias, y en la competencia con otras bacterias periodontopatógenas para la colonización de la zona subgingival; cabe mencionar que también suelen interferir en la apoptosis de las células infectadas mediante el colapso de su citoesqueleto por la degradación de actina y destruyen la matriz extracelular del tejido conectivo periodontal para la obtención de hierro y hemina que influyen en el crecimiento y virulencia de la *Porphyromonas gingivalis*.

En particular se han identificado los dos mayores tipos de cisteína proteasas de la *Porphyromonas gingivalis*, Lisina-específica (producida por el gen *Kgp*) y la Arginina-específica (producida por el gen *Rgp*), esta última con dos variantes a nivel genético y estructural, la *RgpA* (con dominio catalítico y adhesina/hemaglutina) y la *RgpB* (únicamente con dominio catalítico).

Las cisteína proteasas proporcionan nutrientes para el crecimiento de la *Porphyromonas gingivalis* e interfieren en el sistema inmune del huésped, degradando un gran número de defensinas, receptores PMN de anticuerpos, receptores de células T (CD2, CD4 y CD8), e Inmunoglobulinas G.

En cuanto a la fosfolipasa, es una enzima que libera la *Porphyromonas gingivalis* que tiene la función de mediar la intervención de prostaglandinas para estimular la resorción ósea alveolar.^{15, 11, 20, 3, 9}

2.3.5 Adhesinas de la membrana externa de la *Porphyromonas gingivalis*

En la cavidad oral tenemos una gran variedad de superficies a las cuales la *Porphyromonas gingivalis* puede adherirse: tejido mineralizado de los dientes, superficies mucosas como carrillos, lengua y encía, incluyendo surco gingival y bolsas periodontales. Estas superficies, están cubiertas de compuestos de moléculas salivales, y derivados del fluido crevicular y sanguíneo, actuando como receptores para la adherencia bacteriana.

La principal adhesina de la *Porphyromonas gingivalis* es la hemaglutina, que es una proteína asociada a la superficie de la bacteria, y es codificada por el gen *hag*. Esta adhesina tiene la capacidad de reconocer las diferentes células del huésped y adherirse a las membranas celulares, promoviendo la colonización por mediación de la unión de bacterias a los receptores oligosacáridos en las células del huésped.

La *Porphyromonas gingivalis* produce al menos 5 tipos de hemaglutininas: A, B, C, D y E; cada tipo tiene la capacidad de unir a su colonia bacteriana diversas células epiteliales, proteínas extracelulares, componentes celulares del huésped, componentes de la saliva y el fluido gingival crevicular.

Además hay un gran conjunto bacteriano de especies de bacterias gram positivas y negativas, por ejemplo: *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Veillonella*, *Capnocytophaga* etc (figura 4).³ Estas bacterias, toman los nutrientes necesarios de las células de la cavidad oral del huésped, incluyendo sus componentes salivales y creviculares, para continuar con su crecimiento, desarrollo y colonización.^{3, 13, 9}

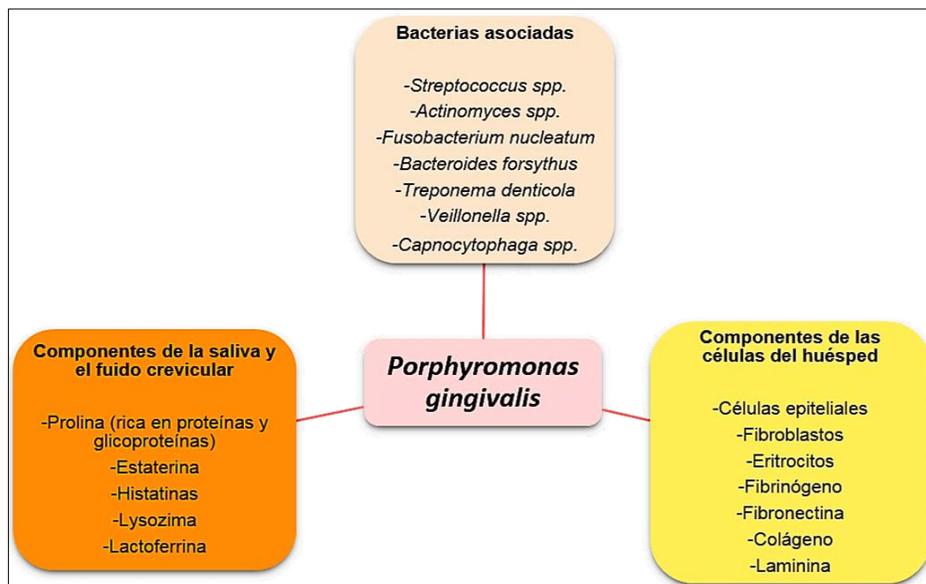


Figura 4 Interacciones de las proteínas adhesinas de la membrana externa de la *Porphyromonas gingivalis* con su medio ambiente.

2.3.6 Componentes no proteolíticos de la *Porphyromonas gingivalis*

La *Porphyromonas gingivalis* tiene además, otro tipo de enzimas y componentes enzimáticos citotóxicos que penetran el tejido periodontal e inhiben la inmunidad del huésped, como el sulfuro de hidrógeno, el metilmercaptano y el disulfuro de dimetileno que inhiben la síntesis de proteínas del huésped e hidrolizan sus componentes proteínicos.

Por otro lado tenemos al butirato y el propionato, componentes citotóxicos que impiden la formación de hueso nuevo por células epiteliales, fibroblastos y linfocitos, produciendo la muerte de las células T y B mediante apoptosis.³

2.4 Relación de la hemina con la *Porphyromonas gingivalis*

Para su crecimiento, reproducción y virulencia, la *Porphyromonas gingivalis* requiere de hemina en su sistema; el cual obtiene mediante la proteólisis de compuestos del huésped como la hemoglobina, haptoglobina, mioglobina, hemopexina, metahemoglobina, oxihemoglobina, albúmina, lactoperoxidasa, catalasa y citocromo c.

Las concentraciones de hemina en la cavidad oral son variables, pero como resultado de la inflamación gingival la hemina puede elevarse y ser un predisponente para la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en la zona subgingival.

La *Porphyromonas gingivalis* acumula sobre la superficie de las colonias bacterianas la hemina que obtiene; esto favorece la virulencia de la bacteria manteniendo activas sus funciones proteolíticas, y ayuda a mantener el medio anaerobio reduciendo la tensión de oxígeno.

La acumulación superficial de hemina también le sirve de protección contra el daño oxidativo, manteniendo las condiciones óptimas para el crecimiento, replicación y desarrollo de la colonias de la *Porphyromonas gingivalis*.

Cuando el medio en donde se desarrolla la *Porphyromonas gingivalis* se ve limitado de hemina, la virulencia de la bacteria es nula.³

CAPÍTULO 3 CEPAS DEL GENOMA DE LA *Porphyromonas gingivalis*

3.1 Definición de genoma

Un genoma, es el conjunto completo de genes que especifica todos los caracteres que pueden ser expresados en un organismo. El objetivo final de su análisis, es obtener una descripción funcional completa de todos los genes que se encuentran en el genoma de un organismo.¹⁶

3.2 Definición de cepa bacteriana

La cepa bacteriana, es una población genéticamente idéntica, con las mismas características que la célula original, obtenida de la división celular a partir de una sola célula, en un cultivo puro.

3.3 Genoma de la *Porphyromonas gingivalis*

Cada organismo, posee un genoma característico que contiene toda su información biológica; la mayor parte de ese genoma está compuesto por ácido desoxirribonucleico (ADN). Cada molécula de ADN está conformada por dos cadenas de subunidades llamadas nucleótidos (bases), y pueden ser adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T); estos forman una estructura de doble hélice estabilizadas entre sí por puentes de hidrógeno, y cada base se relaciona con una del lado contrario (A/T y C/G) en orden específico.¹⁶

La *Porphyromonas gingivalis*, tiene una amplia complejidad genómica y diversidad respecto a la frecuencia de repetición de cadenas de nucleótidos; esta especie indica una población no clonal, característica común en los patógenos oportunistas responsables de infecciones crónicas.

Las cepas que se analizan en los estudios y análisis genómicos deben tener las mismas características, por lo que existen bancos genómicos o librerías genómicas donde se tienen aislados los organismos o parte de sus cepas para su estudio y comparación; de esos lugares se obtiene la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*.

En el dendrograma las cepas aparecen como ramas en el árbol a distancia del ADN-DNA; una de estas ramas corresponde al genoma representativo de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*.^{1, 22, 13} Figura 5.²²

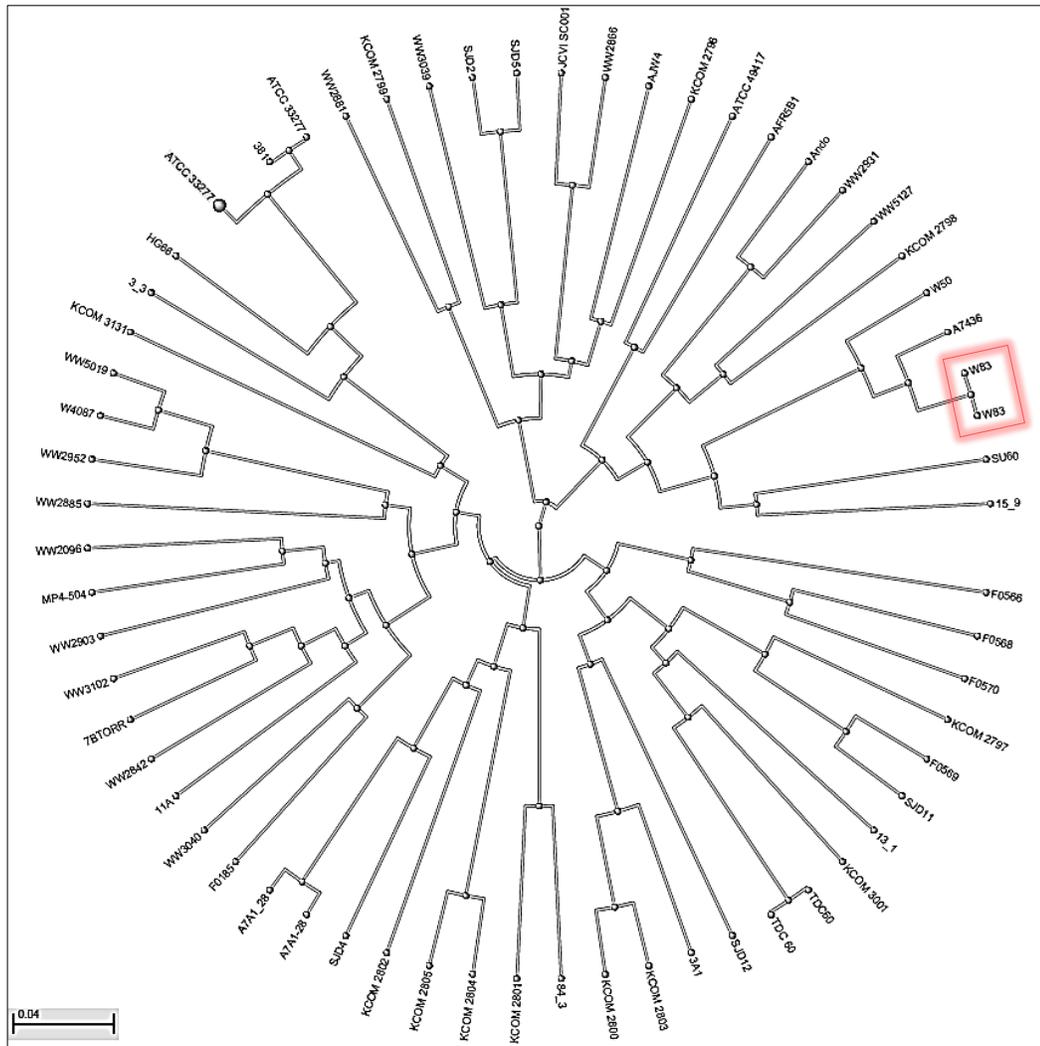


Figura 5 Dendrograma del genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*.²²

El genoma de la *Porphyromonas gingivalis* consiste en genes que vienen del núcleo y dependen de la cantidad de cepas incluidas en ellos para describir sus características en el genoma central. Su genoma es pequeño, y contiene la información genética en diferentes cepas de la *Porphyromonas gingivalis*; de esta manera también se incluyen en el genoma dos grupos: uno aberrante que incluye mutaciones genéticas, y otro que no contiene ningún tipo de información genética, por lo que hay ausencia de genes.

El genoma central completo de la *Porphyromonas gingivalis* está compuesto por un total de 1476 genes, y esto es dependiente del tamaño de la cepa que se estudie. El 80% de los genes que incluye la cepa W83 son parte del genoma central de la *Porphyromonas gingivalis*.

El conjunto de genes centrales es de importancia dado que en ellos se encuentra la presencia de genes virulentos, es por eso que una secuencia del genoma de la cepa W83 se considera altamente virulenta.¹⁵

El genoma de la cepa W83 fue secuenciada y se hallaron 2, 343, 479 pares de bases, con un contenido de G/C promedio de 48.3%. Hay cuatro operones ribosomales (5s-23s-tRNA^{Ala}-tRNA^{Leu}-16S), dos genes ARN estructurales, así como genes de tRNA 53 específicos para 20 aminoácidos.

Los análisis genómicos de la *Porphyromonas gingivalis* han logrado identificar los genes que la componen, encontrando en su ADN un total de 1,990 pautas de lectura abiertas (ORF); de ellos 1, 075 se asignan a funciones biológicas, 184 conservan proteínas hipotéticas, 208 son de función desconocida y 523 codifican proteínas hipotéticas, aproximadamente el 6% tiene cadenas repetidas, además el 85% del genoma las codifica.²²

3.4 Cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*

Existe una gran variedad de cepas de la *Porphyromonas gingivalis*, y todas son diferentes en cuanto a sus fenotipos, pero similares en cuanto a sus propiedades genéticas; de ellas la mejor caracterizada y la más cercana al genoma central de la *Porphyromonas gingivalis* es la cepa W83, considerada la más virulenta de todas, por su contenido genético significativamente relacionado con la periodontitis (figura 6).¹⁰

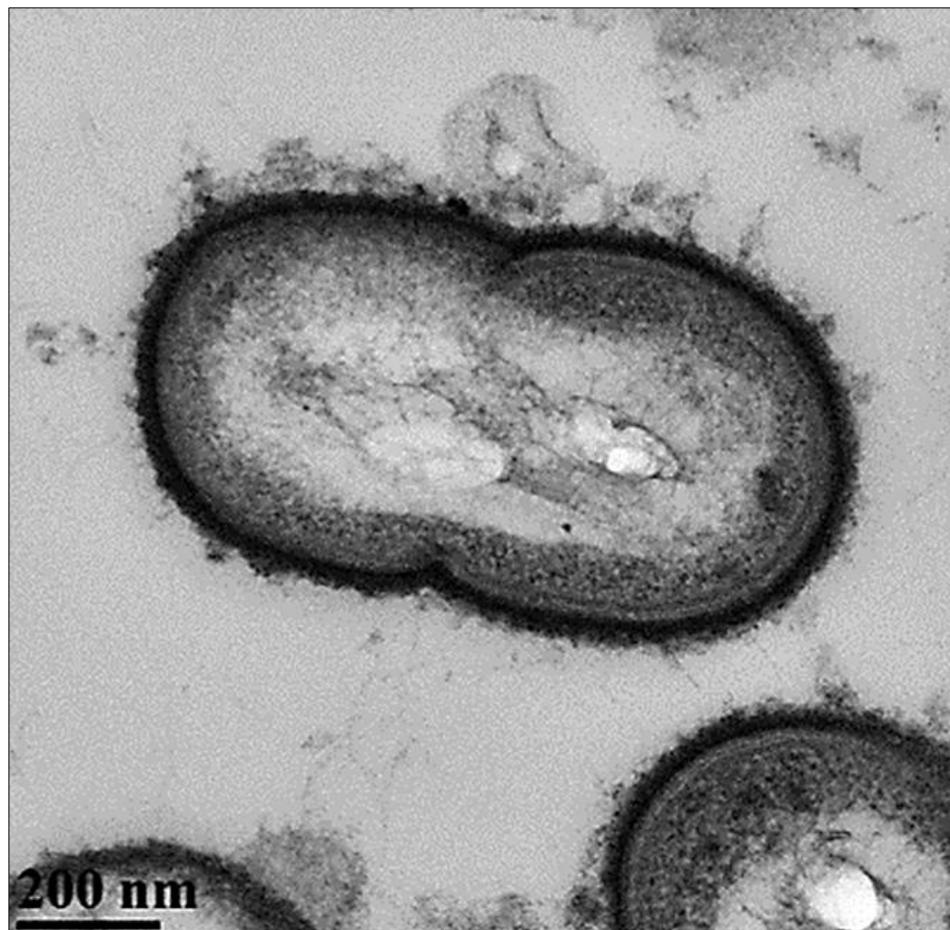


Figura 6 Imagen de microscopio electrónico de transmisión de la *Porphyromonas gingivalis*.

El genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* fue aislado en la década de 1950 por el alemán H. Werner, a partir de una infección oral humana no documentada; y fue llevada al Instituto Pasteur por Madeleine Sebald en 1960. La cepa se obtuvo posteriormente por el canadiense Christian Mouton en 1970.

La Universidad Laval, en Quebec, Canadá, obtuvo en el 2003 una secuencia genómica del ADN de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*, utilizando fenol, cloroformo y derivados del alcohol, para su clonación, secuenciación, montaje y estudio.

La cepa W83 se ha descrito como una cepa altamente virulenta, esta variedad es especial por inducir una respuesta inmune mayor que otro tipo de cepas, por la causa de que en esta cepa se encuentran 39 genes virulentos específicos de la *Porphyromonas gingivalis*.^{15, 2, 22}

Las genómicas estructural y funcional, se han encargado de preparar mapas genéticos de la *Porphyromonas gingivalis*, los cuales proporcionan información sobre las localizaciones y funciones de los genes, posicionando los segmentos de sus cromosomas y alineando la secuenciación de su ADN del genoma completo, con el objetivo de revelar el comportamiento de su sistema biológico.²³

Los mapas genómicos pueden ser de diferentes formas, en esta ocasión el genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* se representa de forma circular, con 9 círculos en su interior que simbolizan los diferentes componentes proteínicos estructurales en su interior (figura 7).¹⁵

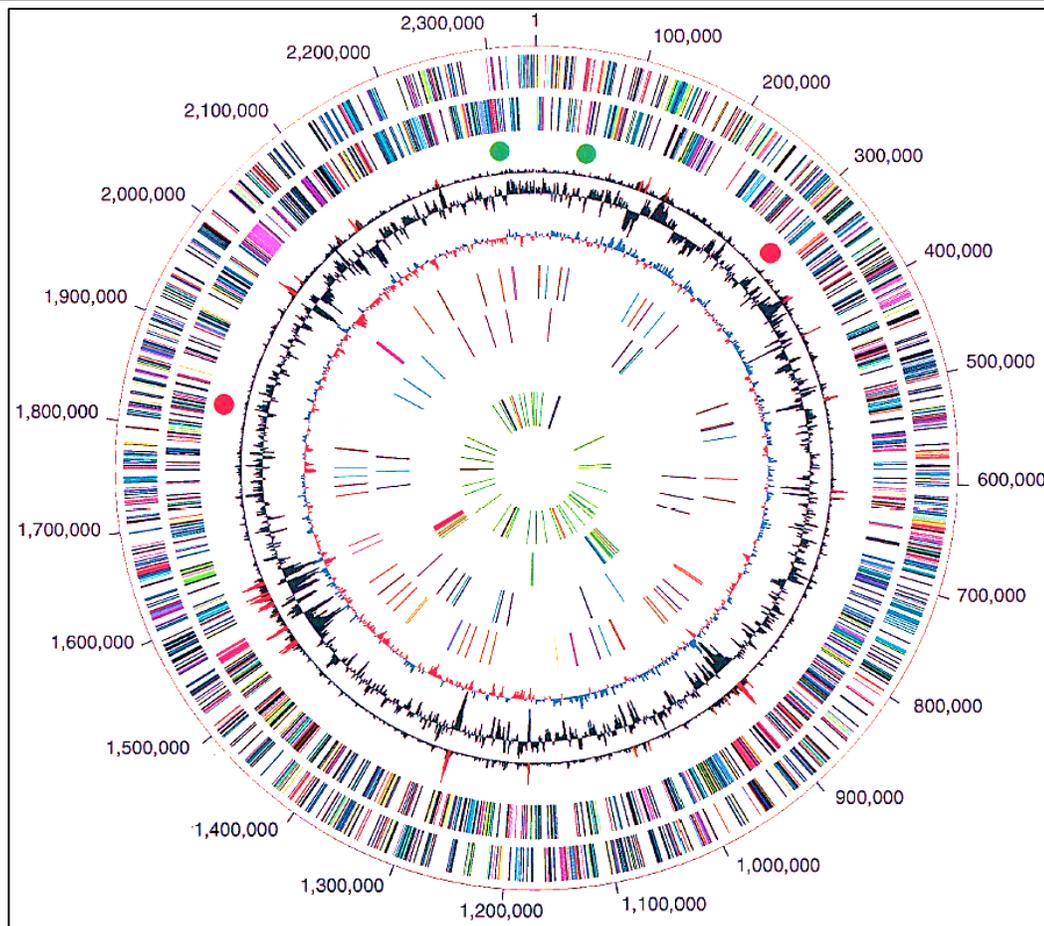


Figura 7 Representación circular del genoma de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*.

El círculo externo muestra las regiones de codificación previstas en colores por categoría:

- **Violeta.** Biosíntesis de aminoácidos
- **Azul claro.** Biosíntesis de cofactores y portadores de proteasas
- **Verde claro.** Membrana celular
- **Rojo.** Procesos celulares
- **Café.** Metabolismo central
- **Amarillo.** Metabolismo de ADN
- **Gris claro.** Metabolismo de energía
- **Magenta.** Metabolismo de fosfolípidos y ácidos grasos
- **Rosa.** Síntesis y destino de proteínas

-
- **Naranja**. Purinas, pirimidinas, nucleótidos y nucleósidos
 - **Oliva**. Regulador de funciones y transducción de señales
 - **Verde oscuro**. Transcripción
 - **Verde azulado**. Transporte y proteínas de unión
 - **Gris**. Función desconocida
 - **Salmón**. Otras categorías
 - **Azul**. Proteínas

El segundo círculo, muestra las regiones de codificación previstas en el filamento negativo.

El tercer círculo presenta dos análisis de la composición de nucleótidos anormales.

El cuarto círculo muestra el porcentaje de los pares de Guanina-Citosina en el genoma.

El quinto círculo muestra la composición anormal de los nucleótidos.

El sexto círculo muestra los elementos de las secuencias de inserción:

- **Naranja**. ISPg1
- **Verde claro**. ISPg2
- **Magenta**. ISPg3
- **Cian**. ISPg4
- **Café**. ISPg5
- **Oro**. ISPg6
- **Verde azulado**. ISPg7
- **Rosa**. ISPg8
- **Violeta**. ISPg9
- **Salmón**. ISPg10
- **Oliva**. ISPg11

El séptimo círculo muestra los elementos transponibles mínimos repetidos invertidos:

- **Magenta.** MITE239
- **Cian.** MITE700
- **Negro.** MITE464

El octavo círculo muestra:

- **Azul.** TN4555
- **Rojo.** CTn
- **Verde.** Otros elementos transponibles

El noveno círculo muestra:

- **Verde.** tRNA
- **Negro.** rRNA
- **Rojo.** sRNA

3.4.1 Genes específicos de la Cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*

En cuanto a la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* se han detectado un conjunto de 39 genes presentes en el genoma central de la bacteria. En cuanto a su diversidad genética, aunque todas las cepas tienen el gen estructural *fimA* que codifica para la proteína fimbriolina, la *Porphyromonas gingivalis* es capaz de intercambiar las secuencias de nucleótidos del ADN entre sus diferentes cepas para generar cambios fenotípicos que favorecen la virulencia de determinadas cepas; por este motivo la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* es la más virulenta de todas las cepas, además su análisis muestra que la mayoría de los genes del genoma central están relacionados con su virulencia.^{15, 9}

3.4.2 Virulencia de la Cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*

La virulencia de las cepas de la *Porphyromonas gingivalis* se clasifica en base a la capacidad que tienen sus estructuras de causar una destrucción de los tejidos blandos con enfermedad periodontal. La cepa más estudiada en cuanto a virulencia es la W83, capaz de extender las lesiones de la enfermedad periodontal y degradar los tejidos periodontales.

Las cepas de la *Porphyromonas gingivalis* no están restringidas en cuanto a virulencia, pero la cepa W83 cuenta con varios mecanismos de virulencia que le permiten atacar a las células del huésped y desarrollar una enfermedad periodontal; por lo que en conclusión, esta cepa tiene un alto grado de virulencia.^{15, 11, 3}

3.4.3 Importancia de la Cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*

La cepa W83 tiene una gran importancia en el genoma de la bacteria, ya que la virulencia de esta bacteria influye junto con los factores que tiene, en el sistema del complemento inflamatorio del huésped. Ataca la primera línea de defensa del organismo, invade las células epiteliales para colonizar los tejidos y seguir causando destrucción en el medio donde se desarrolla; esta cepa es la más virulenta de todas, al contener más del 80% del genoma central de la bacteria pura, y por tener el 95% de actividad proteolítica en sus proteasas se convierte en el principal patógeno periodontal para el inicio, progresión y mantenimiento de la enfermedad periodontal en el huésped.

La investigación de la virulencia de la cepa W83 tiene como finalidad el comprender los factores y mecanismos de virulencia, para en un futuro poder desarrollar tratamientos exitosos que puedan actuar en cualquier parte de su estructura o incluso en alguno de los pasos de su metabolismo antes de que progrese la enfermedad periodontal.³

CAPÍTULO 4 VIRULENCIA DE LA CEPA W83 DE LA *Porphyromonas gingivalis* EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

4.1 La *Porphyromonas gingivalis* en la enfermedad periodontal

Durante el inicio de la enfermedad periodontal, hay un equilibrio entre las bacterias colonizadoras primarias, secundarias y las células del huésped, pero cuando hay un desajuste en el huésped, la *Porphyromonas gingivalis* comienza a comportarse como un patógeno oportunista para intentar colonizar y causar destrucción en la zona gingival. De tal forma que los factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* se encargan de cambiar el mecanismo de inmunidad, iniciando la enfermedad periodontal.

La enfermedad periodontal va a iniciar con una gingivitis, derivada de una inflamación de los tejidos gingivales, la cual al no tratarse a tiempo, y no eliminar el factor inicial que es la estructura del biofilm bacteriano, se extiende hacia apical, creando bolsas periodontales y teniendo infiltrados bacterianos con liberación de toxinas, adhesión celular y crecimiento progresivo que provocan una inflamación severa y formación de bolsas periodontales; destruyendo el equilibrio de la película adquirida y ocasionando la estabilidad de la periodontitis. Si en esta etapa aún sigue sin eliminarse la colonización bacteriana, los desechos metabólicos que producen los colonizadores causarán daños irreversibles al tejido gingival, ligamento periodontal y tejido óseo (figura 8).¹⁴

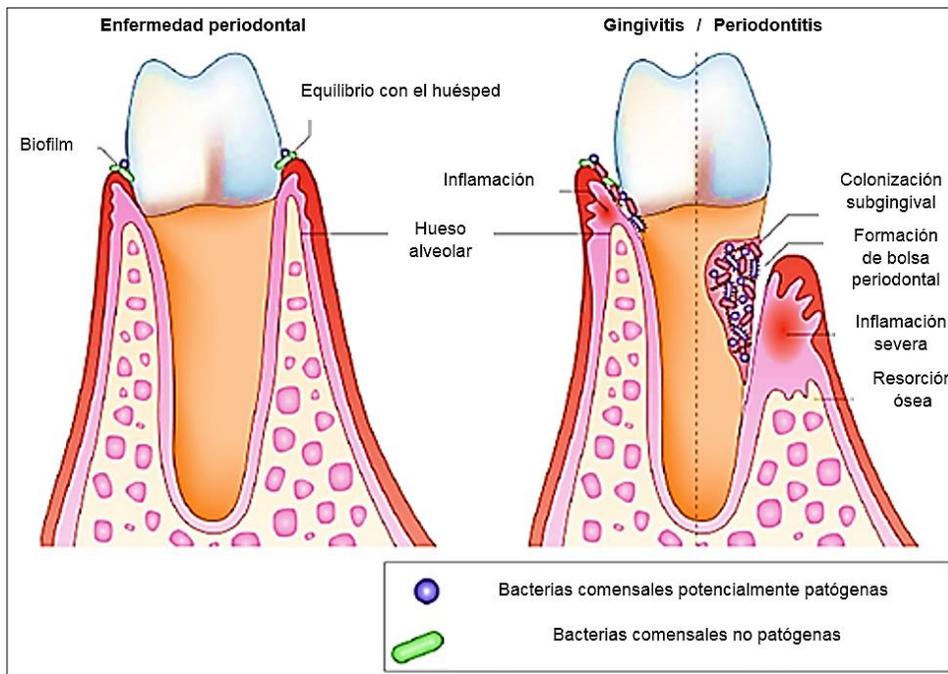


Figura 8 Inicio y progresión de la enfermedad periodontal.

4.2 Implicación de la virulencia de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* en la enfermedad periodontal

Las bacterias de la cavidad oral, son dependientes de los cambios ambientales consecuentes de la higiene oral y la dieta del huésped; y al igual que la *Porphyromonas gingivalis*, frecuentemente regulan su expresión genética para mantener sus propiedades virulentas de la mejor manera. Como los tejidos de la cavidad oral están expuestos a secreciones de toxinas libres en la saliva y el fluido crevicular gingival, son altamente susceptibles para la continuación de la colonización bacteriana.

La presencia subgingival de la *Porphyromonas gingivalis* puede coexistir en la microbiota normal del huésped con las demás bacterias que conforman el biofilm dental, aunque como resultado de un desequilibrio ecológico entre ellas y el huésped, puede competir para iniciar la enfermedad periodontal.

Al ser un patógeno periodontal oportunista, los factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* estarán trabajando para crear un ambiente óptimo para su desarrollo; y se van a encargar de iniciar el proceso de la enfermedad periodontal con la inflamación de los tejidos de soporte del diente, continuando con la destrucción de tejido gingival y óseo; dependiendo siempre de la susceptibilidad del huésped, determinada por una variedad de factores genéticos, ambientales, enfermedades sistémicas y edad, que pueden modificar la respuesta inmune hacia una dirección protectora o predisponer a la enfermedad.^{1, 3, 12, 13, 14} Figura 9.¹⁴

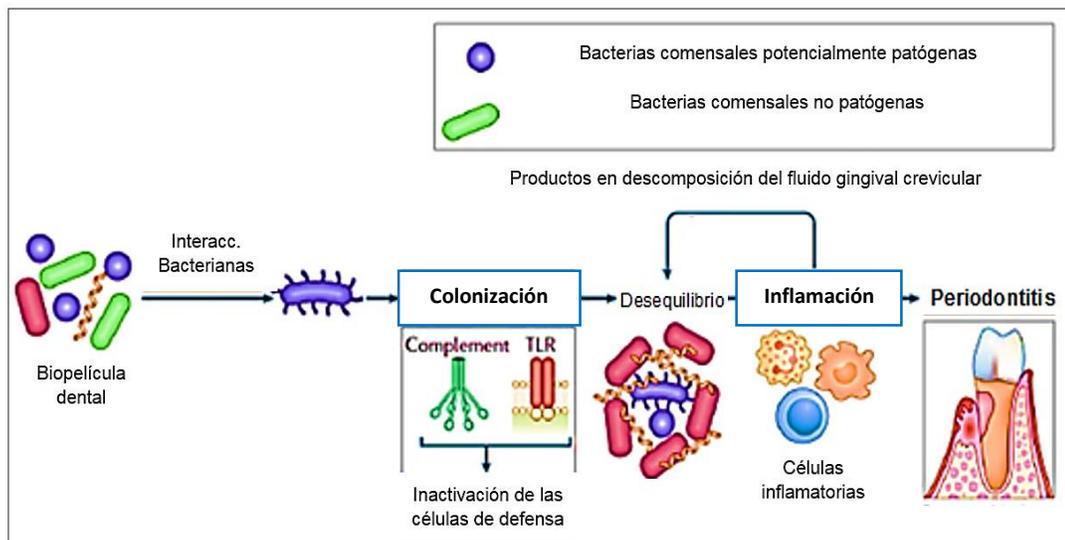


Figura 9 Desarrollo de la enfermedad periodontal.¹⁴

4.3 Mecanismos de virulencia de la cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis* en la enfermedad periodontal

En el biofilm dental participan diferentes bacterias patógenas oportunistas, que en conjunto con la *Porphyromonas gingivalis* conducen a una inflamación y destrucción tisular, suprimiendo la defensa del huésped. Estos microorganismos se refuerzan mutuamente, debido a que los productos en descomposición del fluido gingival crevicular sirven como nutrientes para su crecimiento.

La respuesta inflamatoria del tejido, crea un ciclo de retroalimentación que continúa con la enfermedad periodontal. Aquí participa la inmunidad innata del huésped, que se produce predominantemente en el hígado y es responsable de enviar la primera línea de defensa contra microorganismos invasores e inflamación y se encarga de regular la homeostasis entre los microorganismos que residen en el biofilm dental; etiquetando bacterias para fagocitosis, y conduciendo múltiples células en respuesta a la agresión.

Como resultado final de la inmunidad innata, puede haber una opsonización de bacterias para su fagocitosis o la lisis de las mismas, pero al inactivarse mediante los factores de virulencia de la *Porphyromonas gingivalis*, estas funciones son canceladas; esto causa un desequilibrio en la composición del biofilm dental y una activación de la reacción inflamatoria, lo cual conlleva a una destrucción de los tejidos periodontales y reabsorción ósea debido a que los productos en descomposición del fluido gingival crevicular, proporciona nutrientes para las bacterias, exacerbando la inflamación y contribuyendo a la cronicidad de la enfermedad periodontal (figura 10).¹⁴

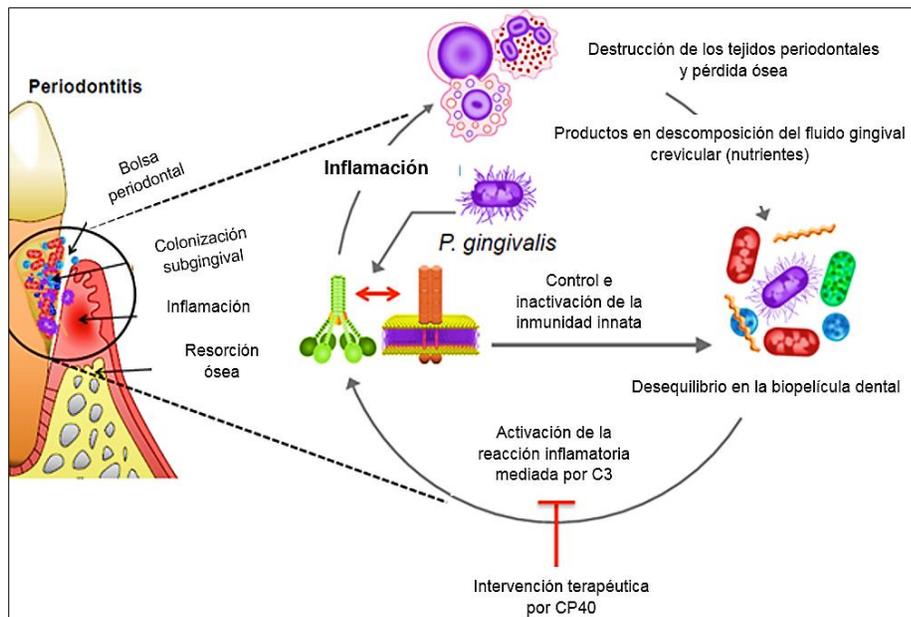


Figura 10 Control e inactivación de la inmunidad innata del huésped.

CONCLUSIONES

La *Porphyromonas gingivalis* es una bacteria gram negativa no móvil anaerobia; que necesita de hemina para poder replicarse, y crear colonias bacterianas; se localiza principalmente en la profundidad de las bolsas periodontales, donde el tiempo que permanezca ahí se va a encargar de destruir los tejidos periodontales mediante sus mecanismos y factores de virulencia.

La principal virulencia de la *Porphyromonas gingivalis* radica en la adhesión a las células que estén a su alrededor, empleando todos sus mecanismos de virulencia disponibles: fimbrias, hemaglutininas, proteasas, adhesinas, etc; que actúan induciendo respuestas inmunes al huésped bloqueando su primera línea de defensa, que es la inmunidad innata, inhibiendo sus funciones protectoras, adquiriendo nutrientes para su desarrollo y crecimiento bacteriano; y manipulando la reacción de las células inflamatorias, causando destrucción tisular, e invasión y diseminación de la *Porphyromonas gingivalis* a otros sitios del organismo.

Cuando el equilibrio entre los microorganismos que conforman la Biopelícula dental se rompe, las bacterias con potencial patógeno exacerban la inflamación de los tejidos periodontales, propiciando nutrientes para continuar con la reproducción y colonización.

El estudio de la patogénesis de la enfermedad periodontal es complejo debido a la gran variedad bacteriana involucrada en el desarrollo de la enfermedad; la progresión depende del número de sitios afectados, el tiempo y la severidad de enfermedad, así como de factores propios del huésped.

Sin embargo, en general la forma de la periodontitis crónica en adultos está asociada a un número significativo de bacterias gram negativas anaerobias, siendo la bacteria más periodontopatógena la *Porphyromonas gingivalis*.

Los mapas genéticos creados en laboratorios mediante cepas de la *Porphyromonas gingivalis*, nos han brindado mucha información acerca de las localizaciones y funciones de sus genes, y eso nos ayuda a conocer el genoma central de la bacteria, y a reconocer sus factores de virulencia, para saber porque la enfermedad periodontal tiene un avance rápido, destructivo y progresivo.

La cepa W83 de la *Porphyromonas gingivalis*, tiene un alto contenido de genoma central de la bacteria, motivo por el cual tiene un alto potencial de virulencia, por los factores de virulencia con los que cuenta: cápsula, fimbrias, membrana externa compuesta por polisacáridos, vesículas que secretan enzimas citotóxicas y compuestos no proteolíticos; en conjunto, se encargan de inhibir y mediar el sistema inmunológico del huésped,

Aunque aún quedan interrogantes, la investigación sigue avanzando y tal vez en un futuro puedan conocerse todos los mecanismos de replicación y virulencia, para crear fármacos que se encarguen de suprimir la actividad de las estructuras involucradas en la virulencia de la *Porphyromonas gingivalis*, y detener el daño periodontal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. FEMS Microbiol Lett. 2012 May 28;333:1-9.
2. Nelson KE, Fleischmann RD, DeBoy RT, Paulsen IT, Fouts DE, Eisen JA, et al. Complete Genome Sequence of the Oral Pathogenic Bacterium *Porphyromonas gingivalis* Strain W83. J Bacteriol. 2003 Sep;185(18): 5591-5601.
3. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life Below the Gum Line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. Microbiol Mol Biol Rev. 1998 Dec;62(4):1244-1263.
4. Olczac T, Sosicka P, Olczac M. HmuY is an important virulence factor for *Porphyromonas gingivalis* growth in the heme-limited host environment and infection of macrophages. Biochem Biophys Res Commun. 2015 Oct 19;467(4):748-753.
5. Orrego CM, Parra GMA, Salgado MYP, Muñoz GE, Fandiño HV. *Porphyromonas gingivalis* y enfermedades sistémicas. CES Odontol. 2015;28(1):57-67.
6. Gerits E, Verstraeten N, Michiels J. New approaches to combat *Porphyromonas gingivalis* biofilms. J Oral Microbiol. 2017;9(1):1300366.

-
7. Pírez M, Mota M. Morfología y estructura bacteriana. Revista en internet. 2000;3(2):23-42.
 8. Lindhe J, Lang N. Periodontología clínica e implantología odontológica. 6a edición. China. Editorial Médica Panamericana. 2017. Pp 213.
 9. Ramos PD, Moromi NH, Martínez CE. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. Odontol. Sanmarquina. 2011;14(1)34-38.
 10. Moyer ZD, Valiuskyte K, Dewhirst FE, Nichols FC, Davey ME. Synthesis of Sphingolipids Impacts Survival of *Porphyromonas gingivalis* and the Presentation of Surface Polysaccharides. Front Microbiol. 2016 Nov;7:1919.
 11. Fitzpatrick RE, Wijeyewickrema LC, Pike RN. The gingipains: scissors and glue of the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. Future Microbiol. 2009;4(4):471-487.
 12. Bascones A, Caballero A. *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas Gingivalis* como principales patógenos periodontales. Av Periodoncia. 2000 Sep;12(2):69-75.
 13. Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ. Microbiology. 7a edición. New York. Mc Graw Hill. 2008. Pp 98, 370, 371, 383-386, 735-738, 743, 744, 991-995.
 14. Olsen I, Lambris JD, Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis* disturbs host-commensal homeostasis by changing complement function. J Oral Microbiol. 2017 Jun 30;9:1340085.

-
15. Brunner J, Wittink FRA, Jonker MJ, de Jong M, Breit TM, Laine ML, et al. The core genome of the anaerobic oral pathogenic bacterium *Porphyromonas gingivalis*. BMC Microbiol. 2010;10:252.
16. Isaza. Glosario de Epidemiología. 1a ed. Colombia: Academia Nacional de Medicina de Colombia; 2015.
17. Cárdenas PME, Cruz LOR, Gándara RJL, Pérez HMA. Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. Elementos 94. 2014;35-43.
18. Castrillón RLE, Macín CSA, Palma RA. Participación de la interleucina 1 β (IL-1 β) en periodontitis. Rev. Odontol. Mex. 2007 Dic;11(4):185-200.
19. Bercy P, Lasserre J. Susceptibility to Various Oral Antiseptics of *Porphyromonas gingivalis* W83 Within a Biofilm. Adv Ther. 2007 Nov/Dec;24(6):1181-1189.
20. Lewis JP. Metal uptake in host-pathogen interactions: role of iron in *Porphyromonas gingivalis* interactions with host organisms. Periodontol 2000. 2010;52: 94-116.
21. Rodríguez MJM. Secuenciación de genomas. Arbor CLXXVII. 2004 Feb;698:285-310.
22. Acuña AL, Primot A, Cadieu E, Roulet A, Barloy HF. Genomic repeats, misassembly and reannotation: a case study with long-read resequencing of *Porphyromonas gingivalis* reference strains. BMC Genomics. 2018 Jan 16;19:54.

23. Encarnación GS. Genómica y genómica funcional en microbiología. Rev Latinoam Microbiol. 2006 Jun;48(2):131.

GLOSARIO

- **Adenosín trifosfato (ATP).** Es un nucleótido fundamental para la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al primer carbono de un azúcar de tipo pentosa, que en su quinto carbono tiene tres grupos fosfato.
- **Apoptosis.** Es un proceso controlado de muerte celular, donde se retiran las células en desarrollo, se eliminan las células infectadas y se mantiene en equilibrio el organismo del huésped.
- **Cepa bacteriana.** Es una población genéticamente idéntica, con las mismas características obtenida de la división celular a partir de una sola célula, en un cultivo puro.
- **Dendrograma.** Representación gráfica, en forma de árbol, de agrupamientos por agregación binaria en una clasificación jerárquica; los grupos se forman al crear conglomerados de variables en cada paso y sus niveles de similitud.
- **Factor de necrosis tumoral-Alfa (TNF- α).** Es una potente citocina que se encarga de la activación de leucocitos, liberación de citocinas y quimiocinas inflamatorias, producción de especies reactivas de oxígeno e intermediarios de nitrógeno, y se encarga de señalar a las células para la apoptosis.
- **Gen.** Unidad mínima de información genética del ADN; es la secuencia de nucleótidos que codifica para una proteína determinada.

-
- **Genoma.** Contenido de genes de un organismo.
 - **Genoma de referencia.** Es un conjunto de datos que tiene como objetivo modelar y representar la secuencia de ADN del genoma de una especie. Los genomas de referencia son ensamblados por científicos para servir como secuencias de ADN representativas para distintas especies. Comúnmente, un genoma de referencia cambia conforme las técnicas de secuenciación y ensamblado de genomas son mejorados.
 - **Genómica.** Área de la genética que se encarga de los estudios estructurales y funcionales del genoma; comprende los diferentes tipos de mapas genéticos, la secuencia de los ácidos nucleicos, el ensamblado, almacenamiento y manejo de esos datos, la identificación de genes, el análisis de su función, la evolución de los genomas y otras áreas interdisciplinarias relacionadas con la amplia variedad de los genomas en los diferentes organismos. La principal diferencia con la genética es que estudia las funciones y estructuras de todos los genes y sus interacciones entre sí.
 - **Genómica estructural.** Rama de la genómica orientada a la caracterización y localización de las secuencias que forman el ADN de los genes.
 - **Genómica funcional.** Consiste en la recolección sistemática de información sobre la función de los genes, mediante la aplicación de aproximaciones experimentales globales que evalúen la función de los genes haciendo uso de la información obtenida de la genómica estructural; normalmente mediante estudios computacionales de los resultados.

-
- **IgG.** Esta proteína especializada es sintetizada por el organismo en respuesta a la invasión de bacterias, hongos y virus.
 - **Inmunidad innata.** Es un sistema de defensas con el cual nace el huésped y que lo protege contra todos los antígenos. La inmunidad innata consiste en barreras que impiden que los materiales dañinos ingresen en el cuerpo. Estas barreras forman la primera línea de defensa en la respuesta inmunitaria.
 - **Interleucinas.** Son citocinas que se desarrollan de manera normal en el organismo.
 - **Interleucina-6 (IL-6).** Es una citocina con propiedades pro-inflamatorias y antiinflamatorias (más predominante), segregada por macrófagos, monocitos, eosinófilos, hepatocitos etc. Es el principal regulador de la respuesta inmunológica y de reacciones de fase aguda, e induce la maduración y activación de neutrófilos, macrófagos, monocitos, fibroblastos, células del endotelio vascular y diferenciación de linfocitos T citotóxicos. La induce el Factor de Necrosis Tumoral Alfa y la Interleucina 1; puede causar fiebre y activar el eje hipofisario-adrenal. Se considera el marcador más relevante de lesión tisular.
 - **Interleucina-8 (IL-8).** Producida principalmente por monocitos, es un factor quimiotáctico que moviliza y activa a los neutrófilos, estimulando la fagocitosis. También es angiogénico.

-
- **IS.** Los elementos de secuencias de inserción (IS) son segmentos de DNA que pueden moverse de una posición cromosómica a otra del mismo cromosoma o diferente. Cuando los IS aparecen en el medio de los genes, pueden interrumpir la secuencia codificante e inactivar la expresión del gen. Producen mutaciones y frecuentes reordenamientos en el DNA.
 - **MITE.** Los elementos transponibles mínimos repetidos invertidos (MITE) son secuencias genéticas móviles muy abundantes en el genoma; llegan a constituir hasta la mitad del ADN de un organismo. Estos elementos son un tipo especial de transposones, muy potentes para la modificación del genoma. Estos elementos, pueden ocasionar mutaciones al colocarse en una posición estratégica con respecto a un determinado gen, o pueden originar algún reordenamiento cromosómico.
 - **ORFs.** Son pautas de lectura abiertas en la secuencia del ADN. Empiezan con una secuencia de iniciación: ATG y terminan con una secuencia de terminación: TAA, TAG o TGA.
 - **Porcentaje de GC.** Indica la cantidad de pares Guanina-Citosina en la molécula de ADN o genoma que está siendo investigado. El contenido GC se usa a veces para clasificar organismos en taxonomía. Esto hace el enlace GC más fuerte también más resistente a la desnaturalización por efecto de la temperatura.

-
- **Procariota.** Dominio que incluye microorganismos unicelulares (como las bacterias) que se reproducen por fusión binaria; contienen información genética, estructuras para producción de energía y sistemas para su crecimiento y reproducción.
 - **Replicación.** Proceso por el cual el ADN se copia para poder ser transmitido a nuevos organismos.
 - **Sistema del complemento.** Constituye uno de los principales mecanismos efectores de la inmunidad innata mediada por anticuerpos, ofrece protección contra la infección por bacterias patógenas y favorece la eliminación de complejos inmunes y de productos de la inflamación.
 - **Transcripción.** Proceso de copia de un gen o fragmento de ADN.
 - **Transposones.** Secuencia de DNA con capacidad para moverse por el genoma, puede insertarse a sí misma o una copia de sí misma en una nueva ubicación.
 - **tRNA.** ARN de transferencia, es un ácido ribonucleico que transfiere las moléculas de aminoácidos a los ribosomas, para ordenarlos a lo largo de la molécula del ARN mensajero.