



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Odontología**

**"LA ADHERENCIA DE *Actynomices naeslundii*  
PROMUEVE LA ACTIVACIÓN DE SEÑALES INTRACELULARES  
EN LOS FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS"**

**Tesis:**

Para optar por el grado de:

**Cirujana Dentista**

**Presenta:**

**Silvia Ruiz Reyes**

**Tutora:**

**Dra. Gloria Gutiérrez Venegas**

México, D.F.

Mayo 2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**DEDICATORIA.**

***Universidad Nacional Autónoma de México.***

***Facultad de Odontología.***

***Unidad de Estudios de Posgrado de la Facultad de Odontología.***

***Laboratorio de Bioquímica en especial a la Doctora Gloria Gutiérrez Venegas por el apoyo en el desarrollo de este proyecto de titulación, y a todos los compañeros que laboran en este laboratorio.***

## **AGRADECIMIENTOS.**

*Principalmente a la Dra. Guillermina Reyes Razo por su enorme esfuerzo cotidiano para brindarme no sólo el apoyo económico sino también moral, gracias a sus exigencias que han comenzado a dar frutos en mi vida académica y personal.*

*A mi familia por sus enseñanzas de la infancia y afecto a mi persona.*

*A l Ingeniero Rafael Salinas Gonzáles por su apoyo y amor incondicional durante todos estos años.*

*A los Miembros de la familia Salinas Gonzáles por su sincera amistad y apoyo moral.*

*Al Doctor Jorge Luis Gaona Arroyo por su apoyo profesional*

*A la familia Ruíz Reyes especialmente a Elba Alicia Ruíz por su amistad incondicional.*

*A Elba Ruiz, a Jose Manuel Delgadillo, a Erika Nieto a Pilar Arroyo Yuriko, a Luis Vivas a Rodrigo Pérez, a Iris Campos a Memo Buendía a Miguel Macías a Leonardo Salinas a Julio Manjares a Carol † a Blanca Delgado a Héctor Ranjel a Omar Ramos a Juan Carlos Guzmán y Adriana, a todos ellos por ser tan diferentes cada uno de ellos y al mismo tiempo por coincidir en una sola idea : que ha sido el brindarme su amistad incondicional.*

*A mis profesores que durante toda mi vida académica me han brindado sus consejos y enseñanzas con paciencia y desinterés*

*Y a todos aquellos que me apoyaron y animaron a concluir este esfuerzo, gracias.*

## ÍNDICE

1.	Abreviaturas	1
2.	Resumen	2
3.	Antecedentes Históricos	3
4.	Introducción	4
4.1	Parodonto	4
4.2	Encía	5
4.3	Anatomía macroscópica de la encía sana	5
4.3.1	Encía libre	6
4.3.2	Encía insertada	6
4.3.3	Encía interdental	7
4.3.4	Anatomía microscópica de la encía sana	8
4.4	Tejido Conectivo	9
4.5	Células del Tejido Conectivo	10
4.5.1	Fibroblastos	11
4.5.2	Fibras colágenas	11
4.6	Matriz	12
4.7	Fibras periodontales	13
4.8	Ligamento Periodontal	14
4.9	Cemento Radicular	16
4.10	Hueso Alveolar	18
4.11	Irrigación Sanguínea del Periodonto	21
4.12	Sistema Linfático del Periodonto	24
4.13	Nervios del Periodonto	25
4.14	Etiología de la Enfermedad Periodontal	27
4.15	Encía Normal	28
4.16	Características Clínicas	28
4.17	Inflamación Gingival	29
4.18	Lesión Gingival Inicial	29
4.19	Lesión Gingival Temprana	30
4.20	Lesión Gingival Establecida	30
4.21	Lesión gingival/ Periodontal Avanzada	31
4.22	Etiología y Patogenia de la Enfermedad Periodontal	32
4.23	Placa Dentobacteriana	34
4.24	Formación de la Placa Dentobacteriana	34
4.25	Estructura de la Placa Dentobacteriana	36
4.26	Placa Supragingival	36
4.27	Placa subgingival	37
4.28	Sarro Dental	38
4.29	Distribución	38
4.30	Estructura de la Célula Procariótica	39
4.31	Envoltura Celular	39
4.32	Membrana Citoplasmática	40
4.33	Pared Celular	40
4.34	Componentes Especiales de las Paredes Celulares Gram-Positivo	41
4.35	Componentes Especiales de las Paredes Celulares Gram-negativo	42
4.36	Lipopolisacáridos	43

4.37	Estructuras Citoplasmáticas	43
4.38	Nucleoide	43
4.39	Flagelos	44
4.40	Pilis (Fimbrias)	45
4.41	A. naeslundii	45
4.42	Naturaleza de la virulencia bacteriana	46
4.43	Adherencia Bacteriana	47
4.44	Factores de virulencia	51
4.45	Patógenos intracelulares y el citoesqueleto de actina	55
4.46	Internalización de bacterias en las células de mamíferos	56
4.47	Componentes de las bacterias periodontopatógenas inducen la producción de citocinas	57
4.48	Citocinas	58
5.	Planteamiento del problema	62
6.	Justificación	62
7.	Hipótesis	62
7.1	Hipótesis verdadera	62
7.2	Hipótesis falsa	62
8.	Objetivos	62
9.	Reactivos y Equipo	63
10.	Metodología	64
11.	Resultados	66
12.	Discusión	70
13.	Conclusiones	72
14.	Bibliografía	73

## 1. ABREVIATURAS.

- **FG** Encía libre
- **AG** Encía adherida
- **MGI** Límite mucogingival
- **CEJ** Límite cementoadamantino
- **AM** Mucosa alveolar
- **GG** Surco gingival
- **OE** Epitelio bucal
- **OSE** Epitelio sulcular
- **JE** Epitelio de inserción
- **CF** Fibras circulares
- **DGF** Fibras dentogingivales
- **DPF** Fibras dentoperiósticas
- **TF** Fibras transeptales
- **PRs** Proteínas salivales ricas en prolina
- **TNF** Factor de Necrosis Tumoral
- **LPS** Lipopolisacáridos
- **An** *Actinomyces naeslundii*
- **PKC** Proteína Kinasa C.

## 2. RESUMEN

De los padecimientos más frecuentes de los tejidos parodontales se encuentran los procesos inflamatorios gingivales y del aparato de inserción dental; son infecciones microbianas relacionadas con la acumulación local de placa dentobacteriana, cálculos y de flora periodontal patógena subgingival, causando inflamación gingival, pérdida de la inserción del ligamento periodontal y como consecuencia la formación de bolsas parodontales así como destrucción de los demás tejidos de soporte de los dientes llegando hasta la resorción del hueso alveolar o de soporte dental lo que desencadena la exfoliación de los dientes. Existe un sistema de defensa con el que cuenta la cavidad bucal, por medio del cual se controlan la mayor parte de las agresiones externas o internas. En este sistema los fibroblastos gingivales tienen un papel muy importante que consiste en la síntesis y mantenimiento de los componentes del tejido conectivo como la colágena, proteoglucanos y ácido hialurónico. Uno de los eventos cruciales en el proceso del desarrollo de las enfermedades infecciosas se produce por la asociación entre el patógeno y el huésped. En la enfermedad parodontal uno de los agentes causales de la misma son los microorganismos presentes en la placa subgingival.

Dentro de los organismos que ocasionan la enfermedad se encuentran bacterias gram negativas y bacterias gram positivas. Dentro de este último grupo existe una bacteria *Actinomyces naeslundii* cuyo papel en la patogénesis de la enfermedad no se ha esclarecido con certeza. En resultados preliminares en el laboratorio encontramos que este microorganismo se adhiere y modifica el citoesqueleto de los fibroblastos gingivales humanos y son estas células las que participan de forma importante en la regeneración de los tejidos parodontales. Por estos antecedentes el propósito de la siguiente investigación es caracterizar los efectos de este microorganismo sobre la activación de vías de transducción en fibroblastos gingivales humanos.

Para el desarrollo de la investigación se realizarán los estudios en cultivos celulares primarios de fibroblastos gingivales humanos. Se obtendrán cultivos de *A. naeslundii* (ATCC-12104), se infectarán los cultivos en una relación de 1:100 células por bacterias. Con la finalidad de caracterizar la activación de las vías de transducción se realizará el marcaje con [<sup>32</sup>P] de los fibroblastos gingivales humanos durante 4 hrs., al término se retirará la marca no incorporada y se infectarán los cultivos con la bacteria durante diferentes tiempos o condiciones del ensayo.

Para el análisis de las proteínas fosforiladas se separarán mediante una electroforesis desnaturante al 10% y se revelarán las fosfo-proteínas mediante el ensayo de autoradiografía. Los experimentos se realizarán por triplicado y se reportará un ensayo representativo. Nuestros resultados muestran que la adherencia de *A. naeslundii* en fibroblastos gingivales humanos activa diversas cinasas entre las que se encuentra la proteína cinasa C debido a que el pretratamiento con inhibidores de esta enzima bloquearon el patrón de fosforilación.

### 3. ANTECEDENTE HISTÓRICOS

La cavidad bucal está habitada por bacterias desde el nacimiento hasta la muerte. Colonizan los tejidos blandos y duros. Se estima que alrededor de 400 especies diferentes son capaces de colonizar la boca y cualquier persona puede albergar 150 o más especies diferentes.

La historia de la microbiología bucal es paralela a la de la microbiología y la enfermedad infecciosa en general. Desde Antonie van Leeuwenhoek, muchos pioneros de la investigación dental han estudiado los microorganismos bucales para determinar su función en la caries dental y en la enfermedad periodontal. W. D. Miller obtuvo fama por su teoría acidogénica de la caries dental y también propuso que la "piorrea alveolar" (término con el que se designaba a la enfermedad periodontal) no la causa una bacteria específica, como en todos se encuentran no sólo una, sino varias especies. Esta es una de las primeras declaraciones que se conocen como la *hipótesis de placa no específica*. Según lo anterior, la placa dental es un conjunto bacteriano homogéneo que causa enfermedad periodontal cuando se acumula al punto de superar las defensas del huésped.<sup>1,2,3</sup>

En 1915 Bass (quien desarrolla la técnica de cepillado) y Johns mencionaban que un microorganismo específico al que llamaron *Entamoeba buccalis* era el causante de la enfermedad periodontal y que se podía aplicar una vacuna en contra de este microorganismo para prevenir la enfermedad. Esta es la llamada *hipótesis de placa específica*, y de acuerdo con ella, la placa dental de sitios de enfermedad periodontal es diferente que en sitios sanos.

A comienzos de la década de 1900 se sugirió que los microorganismos del tipo de las amebas, espiroquetas fusiformes y estreptococos eran los responsables etiológicos. En 1930 y 1940, el papel de éstos microorganismos fue descartado, sólo para resurgir en 1950 con el reconocimiento de que el control de placa era esencial para el tratamiento satisfactorio de estas enfermedades. De esta manera surge la *hipótesis de placa inespecífica* en la que se considera que cualquier acumulación de cualquier especie microbiana en el margen gingival conduciría a la gingivitis y posteriormente a la periodontitis.

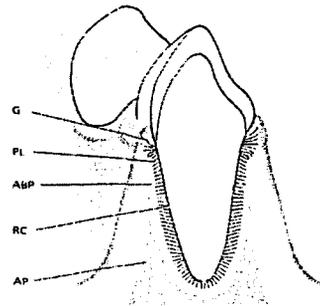
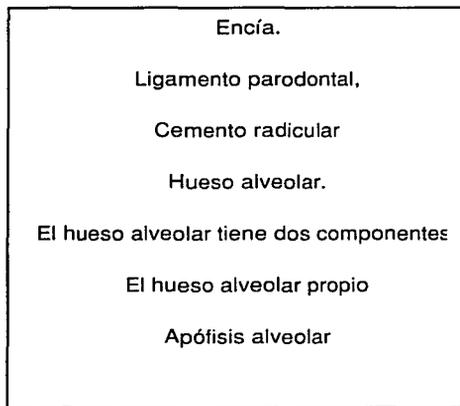
Durante más de un siglo se han utilizado los clásicos "postulados de Koch" para definir una relación causal entre un agente infeccioso y una enfermedad. Estos postulados son: 1) el agente debe ser aislado de cada caso de la enfermedad; 2) no debe ser cultivado a partir de casos con otras formas de la enfermedad o sin patología, 3) después del aislamiento y repetido desarrollo en cultivos puros, el patógeno debe inducir la enfermedad en animales de experimentación.

Sin embargo estos postulados no se han podido aplicar en el caso de la enfermedad periodontal debido a que no solo un agente infeccioso la produce, a la dificultad para implantar patógenos en animales cuya flora bacteriana compite con los patógenos implantados aún en animales libres de gérmenes. Solo el criterio de asociación de Koch sigue vigente.

## 4. INTRODUCCIÓN

### 4.1. PARODONTO

El parodonto o periodonto (peri = alrededor, odontos = diente) también llamado "aparato de inserción" o "tejidos de sostén del diente" cuya función principal es unir el diente al tejido óseo de los maxilares y conservar la integridad de la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. Es el parodonto una unidad funcional, biológica y evolutiva que experimenta cambios con la edad y, está sujeta a alteraciones funcionales, así como modificaciones debido a alteraciones del medio bucal. El parodonto esta constituido por los siguientes tejidos: figura 1.0



**Fig. 1.0 Dibujo esquemático del diente con su parodonto: la encía (G), el ligamento parodontal, (PL), el cemento radicular (CR), y el hueso alveolar es decir el hueso alveolar propio (ABP) y la apófisis alveolar (AP). Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

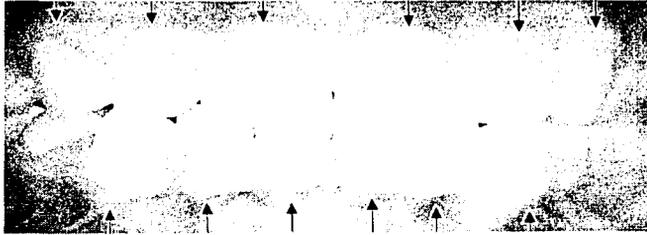
El crecimiento de los tejidos parodontales se produce durante el desarrollo y formación de los dientes.<sup>1,2,3</sup>

## 4.2. ENCIA

### 4.3. ANATOMÍA MACROSCÓPICA

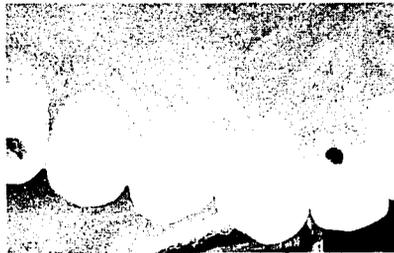
La mucosa bucal (membrana mucosa) se continúa con la piel de los labios y con la mucosa del paladar blando y de la faringe. La membrana mucosa bucal se compone de: Figura 1.1

- Mucosa masticatoria (incluye la encía y el recubrimiento del paladar duro)
- Mucosa especializada (que cubre el dorso de la lengua)
- Mucosa tapizante



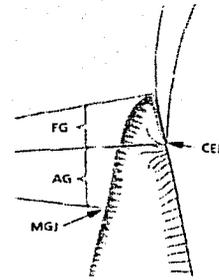
**Fig 1.1** Fotografía de la mucosa oral. La *encia* es esa parte de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar y rodea la porción cervical de los dientes. La *encia* adquiere su forma y textura finales con la erupción de los dientes. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus

En sentido coronario, la *encia* rosada coral termina en el *margin gingival libre*, que tiene un contorno festoneado. En sentido apical, la *encia* se continúa con la mucosa alveolar (mucosa tapizante), laxa y de un rojo oscuro, de la cual está separada por lo que es, habitualmente, un límite fácil de reconocer llamado *límite mucogingival* (flechas) o línea mucogingival. Figura 1.2



**Fig 1-2** Mucosa palatina. No existe una línea mucogingival en el lado palatino, pues el paladar duro y la apófisis alveolar superior están cubiertos por el mismo tipo de mucosa masticatoria. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang

Se distinguen dos partes de la encía: Figura 1.3



- Encía libre (FG)
- Encía adherida o insertada (AG)

(MGI) límite mucogingival, (CEJ) límite cementoamantino.

**Fig 1.3. Clasificación clínica de la encía. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### **4.3.1 LA ENCÍA LIBRE**

Es de color coral, tiene una superficie opaca, consistencia firme y comprende el tejido gingival, las zonas vestibular y lingual o palatina de los dientes, la encía interdientaria o papilar interdientaria. Por el lado vestibular y lingual de los dientes, la encía libre se extiende desde el margen gingival libre en sentido apical hasta el surco apical libre que está ubicado en un nivel que corresponde con el nivel de la unión o límite cementoamantino (CEJ).

El margen gingival libre suele estar redondeado de manera que se forma una invaginación, o surco entre el diente y la encía. La profundidad del surco puede determinar el estado de salud de la encía, la cual en cortes histológicos varía de 1.5 a 1.18 mm, con variaciones de 0 a 6mm. La profundidad de sondeo del surco gingival clínicamente en un hombre es de 2 a 3 mm.

#### **4.3.2. ENCÍA ADHERIDA.**

Tiene una textura firme, rosa coral, y suele mostrar un punteado delicado que le da aspecto de cáscara de naranja. Pero aquel está presente sólo en alrededor de un 40% de los adultos. Este tipo de mucosa está firmemente adherida al hueso alveolar y cemento subyacentes por medio de fibras conectivas y es, por lo tanto, relativamente inmóvil en relación con el tejido subyacente.

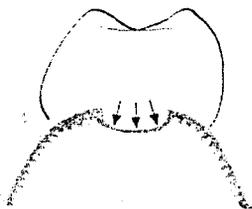
La mucosa alveolar, rojo oscura (AM) ubicada apicalmente del límite cementoadamantino, está unida laxamente al hueso subyacente. Por lo tanto, en contraste con la encía adherida, la mucosa alveolar es móvil. *Figura 1-4*



**Fig. 1.4. (AM) Mucosa Alveolar, (GG) Surco Gingival Libre. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### **4.3.3 ENCÍA INTERDENTARIA.**

La forma de la encía interdientaria (papila interdientaria) está determinada por las relaciones de contacto entre los dientes, la anchura de las superficies dentarias proximales y el curso de la unión cementoadamantina. En las regiones premolar/molar, los dientes tienen superficies de contacto, por lo que las papilas interdientarias en estas zonas tienen una porción vestibular (VP) y otra lingual/palatina separadas por una concavidad o región de col, la cuál está cubierta por un epitelio delgado no queratinizado. *Figura 1.5.*

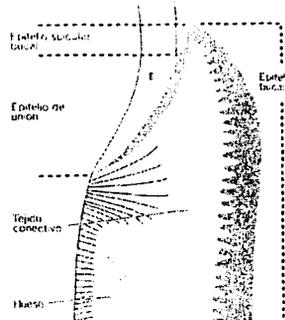


**Fig. 1.5 Col. Las flechas muestran la zona de epitelio delgado no queratinizado. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang.**

#### 4.3.4. ENCIA. ANATOMIA MICROSCOPICA

La encía libre comprende todas las estructuras tisulares ubicadas de forma coronal a una línea horizontal ubicada en el nivel del límite cementoadamantino (CEJ). El epitelio que recubre la encía libre puede diferenciarse así :

- Epitelio bucal (OE), que mira hacia la cavidad bucal
- Epitelio sulcular (OSE), que mira hacia el diente pero sin ponerse en contacto
- Epitelio de inserción (JE) que permite el contacto entre encía y diente.



**Fig. 1.6. Estructuras tisulares de la encía. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring.**

El límite entre el epitelio bucal (OE) y el tejido conectivo subyacente (CT) 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 también llamadas plexo epitelial o red de crestas.



**Fig.1.7. Un modelo, construido según cortes histológicos seriados aumentados, muestra la superficie del epitelio bucal de la encía después de haber extraído el tejido conectivo. (A) Muestra depresiones que corresponden a las papilas conectivas. (B) Proyecciones epiteliales que separan las papilas y forman un conjunto de crestas epidérmicas. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

El epitelio bucal es un epitelio queratinizado, estratificado, escamoso .Las células productoras de queratina comprenden alrededor del 90% de todas las células, pero el epitelio bucal contiene además los siguientes tres tipos de células.

- Melanocitos (sintetizan melanina)<sup>1,2,3</sup>
- Células de Langerhans (reaccionan con antígenos que penetran el epitelio)
- Células inespecíficas (se nombran así por no poseer características ultraestructurales de los otros dos tipos de células).

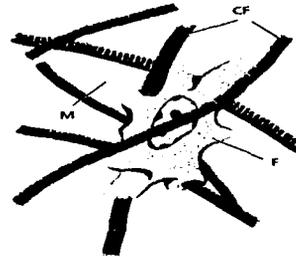
Los tres tipos de células son de tipo estrellado y poseen prolongaciones citoplasmáticas, también reciben el nombre de células claras ya que en cortes histológicos son mas claras que las células productoras de queratina.

#### 4.4 .TEJIDO CONECTIVO

El tejido predominante de la encía y el ligamento periodontal es el conectivo. Los componentes principales del tejido conectivo son:

- Las *fibras colágenas* (alrededor del 60% del volumen de tejido conectivo)
- *Fibroblastos* (alrededor del 5%)
- *Vasos*,
- *Nervios*
- *Matriz* (alrededor del 35%).

**Fig. 1.8 Este dibujo ilustra un fibroblasto (F) ubicado en una red de fibras de tejido conectivo (FC). El espacio intermedio está relleno por la matriz (M) que constituye el "medio" para esa célula.** Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang



#### 4.5. CELULAS DEL TEJIDO CONECTIVO

Los diferentes tipos de células presentes en el tejido conectivo son:

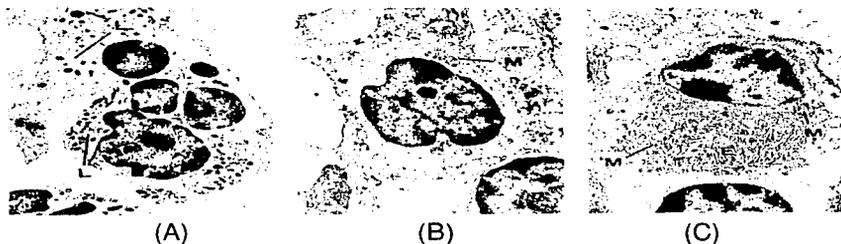
- *Fibroblastos*
- *Mastocitos*
- *Macrófagos*
- *Granulocitos neutrófilos*
- *Linfocitos*
- *Plasmocitos*

#### CÉLULAS

(A) Los **granulocitos neutrófilos** o leucocitos polimorfonucleares poseen un núcleo lobulado y en el citoplasma se encuentran numerosos lisosomas (L) que tienen enzimas lisosómicas.

(B) Los **linfocitos** tiene un núcleo esférico, el espacio entre éste y el citoplasma es estrecho pero contiene numerosos ribosomas, pocas mitocondrias (M) y también se encuentran lisosomas.

(C) Los **plasmocitos** poseen un núcleo esférico ubicado excéntricamente, en el citoplasma se observan numerosas mitocondrias y el retículo endoplásmico (E) está distribuido aleatoriamente y contiene numerosos ribosomas. Figura 1.9



**Fig. 1.9 (A), (B), (C). Células del tejido conectivo. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### 4.5.1 FIBROBLASTO

El fibroblasto es la célula del tejido conectivo más abundante (65% de la población celular total). Está dedicado a la producción de fibras, elastina, proteínas colagenasas, glucoproteínas, glucosa-aminoglucanos y matriz intracelular.

Los fibroblastos son células fusiformes de núcleo ovalado, cuyo citoplasma contiene muchos tonofilamentos, un retículo endoplásmico rugoso y aparato de Golgi muy desarrollado y con gran cantidad de ribosomas y mitocondrias.

Se observa en la periferia de la membrana celular una gran cantidad de vesículas. Los fibroblastos sintetizan las fibras del tejido conectivo y se les puede dividir en:

- *Fibras colágenas*
- *Fibras de reticulina*
- *Fibras oxitalánicas*
- *Fibras elásticas*

#### 4.5.2. FIBRAS COLÁGENAS.

Son abundantes en el tejido conectivo y constituyen componentes esenciales del periodonto. La unidad menor de las fibras de colágeno es la colágena o tropocolágena, esta formada de tres cadenas de polipéptidos entrelazados en forma de hélice.

Cada cadena contiene unos 1,000 aminoácidos, de los cuales un tercio son glicina, el 20 % es prolina e hidroxiprolina.

La síntesis de tropocolágeno se realiza dentro del fibroblasto, desde el cual la molécula será secretada al espacio extracelular. Cuando las fibras de colágeno maduran, se forman cadenas cruzadas covalentes entre las moléculas de tropocolágeno, con el resultado de una reducción de solubilidad colágena vinculada a la edad.

Los cementoblastos y los osteoblastos son células que también poseen la capacidad de producir colágeno. Figura 1.10

(A).Las fibras de reticulina se encuentran presentes en las interfases de los tejidos epitelio-conectivo y endotelio-conectivo



(B). Las fibras oxitalánicas se encuentran en la encía y ligamento parodontal, están compuestas por fibrillas finas y largas de un diámetro de 150 Å



**Fig.1.10 (A), (B). Fibras que producen los fibroblastos. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### 4.6. 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, de electrólitos, de nutrientes, de metabolitos, etc., desde y hacia las células conectivas individuales se produce dentro de la matriz.

Los componentes principales de la matriz del tejido conectivo son macromoléculas de polisacáridos proteínicos. Estos complejos, normalmente, están divididos en proteoglucanos y glucoproteínas.

Los proteoglucanos contienen glucosaminoglucanos que son polímeros de unidades repetidas de disacáridos, cada uno compuesto por un ácido hialurónico más una hexosamina, todos los glucosaminoglucanos están sulfatados (esterificados con sulfato), a excepción del ácido hialurónico. Se han caracterizado 5 tipos de glucosaminoglucanos<sup>4</sup>

- Ácido hialurónico
- Condroitinsulfato
- Sulfato de dermatina
- Queratosulfato
- Heparansulfato

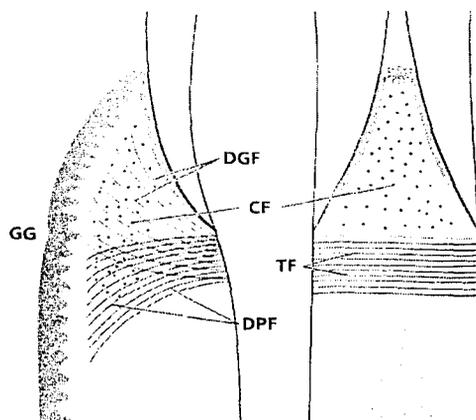
Dentro de las características de los proteoglucanos y los glucosaminoglucanos es que son grandes aniones polivalentes, cuyas cargas negativas se relacionan con los grupos carboxilo y sulfato de los disacáridos. Estas cargas tienen acción electrostática y atraen cationes como el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , y  $\text{Ca}^{++}$  por lo que son importantes en el transporte de agua y electrólitos en el tejido conectivo.

Los proteoglucanos, regulan la difusión y el flujo de líquidos a través de la matriz y son determinantes importantes del contenido líquido del tejido y del mantenimiento de la presión osmótica. En otras palabras, los proteoglucanos actúan como filtros de moléculas y, además, desempeñan un papel importante en la regulación de la migración celular (movimientos) en el tejido. Debido a su estructura e hidratación, las macromoléculas ejercen una resistencia a la deformación, con lo cual sirven de reguladoras de la consistencia del tejido conectivo.

#### 4.7. FIBRAS COLÁGENAS EN LA ENCÍA Y EL LIGAMENTO PARODONTAL

Están dispuestas en grupos de haces con una clara orientación. De acuerdo con su inserción y curso dentro del tejido los haces orientados en la encía pueden dividirse en los siguientes grupos:<sup>1,2,3,22</sup>

- *Fibras circulares (CF)*, que son haces de fibras que siguen un curso dentro de la encía libre y rodean al diente como un manguito o anillo.
- *Fibras dentogingivales (DGF)*, que 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 inter proximales.
- *Fibras dentoperiósticas (DPF)*, que 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. En el área limítrofe entre la encía libre y la adherida, el epitelio carece a menudo del sostén subyacente de haces de fibras colágenas orientadas. En esta zona es donde suele estar presente el surco gingival libre (GC).
- *Fibras transeptales (TF)*, se extienden entre el cemento supraalveolar de dientes vecinos. Las fibras transeptales corren a través del tabique interdentario y están incluidas en el cemento de dientes adyacentes. Figura 1.11 .



**Fig. 1.11 . Fibras colágenas y del ligamento periodontal. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### 4.8. LIGAMENTO PERIODONTAL

El ligamento periodontal es el tejido conectivo blando, muy vascularizado y celular que rodea los dientes y une el cemento radicular con la lámina dura del hueso alveolar propio. En sentido coronario, el ligamento periodontal se continúa con la lámina propia de la encía y está separado de ésta por los haces de fibras colágenas que conectan la cresta del hueso alveolar con la raíz (fibras de la cresta alveolar). Las funciones del ligamento periodontal son: físicas, formativas, nutritivas y sensoriales.

**Función física:** unión del diente al hueso, conservación de los tejidos gingivales, distribución y absorción de las fuerzas oclusales al hueso, generadas durante la función masticatoria, protección de los vasos y nervios contra fuerzas mecánicas.

**Función formativa:** funge como periostio para el hueso y el cemento, ya que sus células participan en la formación y resorción de éstos tejidos durante los movimientos fisiológicos de adaptación a las fuerzas oclusales.

**Función nutritiva y sensorial:** proporciona nutrimentos al cemento, hueso y encía a través de los vasos sanguíneos, y brinda drenaje linfático. La inervación del ligamento proporciona sensibilidad propioceptiva y táctil.

En una radiografía de una región mandibular premolar-molar. El ligamento periodontal está incluido en el espacio entre las raíces (R) de los dientes y la lámina dura o hueso alveolar propio (flechas). El hueso alveolar (AB) rodea la raíz a un nivel aproximadamente de 1 mm apical al límite cementoadamantino (CEJ). El borde coronario del hueso se denomina cresta alveolar (flechas). En las radiografías se pueden distinguir dos tipos de hueso alveolar.

1. La porción de hueso alveolar que cubre el alveolo, también llamada hueso cortical, y a veces denominada como "lámina dura" (flechas).<sup>1,2,3.</sup>
2. La porción de la apófisis alveolar que, en la radiografía, tiene un aspecto de red, se denomina hueso esponjoso. : Figura 1.12



**Fig. 1.12. Radiografía donde se muestra el espacio del ligamento periodontal .**  
Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang.

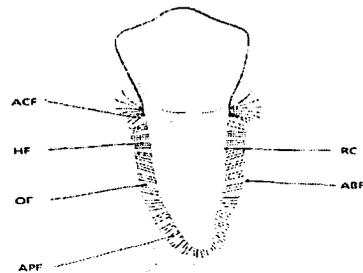
El ligamento periodontal se comunica por conductos vasculares (conductos de Volkmann) en el hueso alveolar propio con los espacios medulares del hueso alveolar. El espacio del ligamento periodontal tiene la forma de un reloj de arena, más estrecho a nivel radicular medio.

El ligamento periodontal es esencial también para la movilidad de los dientes. Esta se determina en gran medida por la anchura, altura y calidad del ligamento periodontal.

Se observa en un dibujo esquemático (figura 1.13), como el ligamento periodontal se ubica entre el hueso alveolar propio (ABP) y el cemento radicular (RC).

El diente está unido al hueso por haces de fibras colágenas que pueden ser divididas en los siguientes grupos principales:

- Fibras de la cresta alveolar (ACF)
- Fibras horizontales (HF)
- Fibras oblicuas (OF)
- Fibras apicales (APF)



**Fig. 1.13. Esquema de las fibras del ligamento periodontal. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

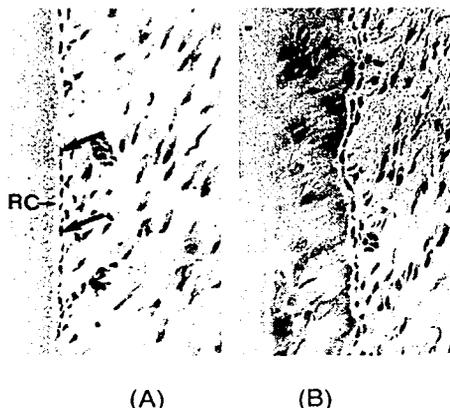
El ligamento periodontal y el cemento radicular se desarrollan a partir del tejido conectivo laxo (el folículo) que rodea al germen dentario. Estas estructuras colágenas experimentan un remodelado continuo (reabsorción de fibras viejas y formación de nuevas).

Las células del ligamento periodontal son: Fibroblastos, cementoblastos, osteoclastos, células epiteliales células nerviosas. Las células epiteliales son los "restos epiteliales de Mallassez" que son restos de la vaina epitelial de Hertwig.

#### 4.9. CEMENTO RADICULAR

El cemento es un tejido mineralizado especializado que recubre las superficies radiculares y, ocasionalmente, pequeñas porciones de las coronas dentarias. Se caracteriza por estar depositándose continuamente durante toda la vida. Como otros tejidos mineralizados, consta de fibras colágenas incluidas en una matriz orgánica.

Su contenido mineral, principalmente hidroxapatita, es de alrededor del 65% en peso. El cemento cumple distintas funciones. Se insertan en él las fibras periodontales dirigidas a la raíz y contribuye al proceso de reparación consecutivo a un daño en la superficie radicular. Se reconocen dos tipos distintos de cemento: Figura 1.14



**Fig. 1.14 (A), (B). Cemento radicular. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

(A) *Cemento primario o cemento acelular*, que se forma conjuntamente con la raíz y la erupción dentaria.

(B) *Cemento secundario o cemento celular*, que se forma después de la erupción dentaria y en respuesta a las exigencias funcionales. Sin embargo, sobre la superficie radicular pueden alternar áreas de cemento acelular y celular.

(A) El cemento radicular (RC) en contacto con la dentina radicular, a la izquierda, es *cemento primario*. Este cemento primario o acelular no contiene células y se forma simultáneamente a la dentina radicular y en presencia de la vaina epitelial de Hertwig. En cierto momento de la formación dentaria, la vaina epitelial de Hertwig, que tapiza la pre dentina recién formada, se quiebra y sus células epiteliales migran al tejido conectivo laxo lateral al germen dentario.<sup>1,2,3</sup>

Los fibroblastos del tejido conectivo laxo ocupan el área vecina a la pre dentina y producen una capa de fibrillas colágenas orientadas aleatoriamente que hacen contacto, sin penetración, con la dentina recién formada. Los fibroblastos se diferencian como

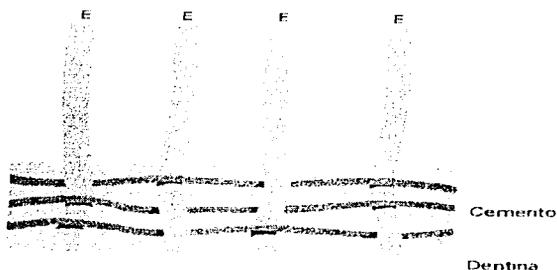
cementoblastos (flechas) y permanecen en la superficie del *cementoide*, que es el precursor del cemento.

(B) Estructura del *cemento secundario* o cemento celular que, a diferencia del cemento primario, contiene células. Está se deposita sobre el primario durante el periodo funcional del diente. El cemento celular se presenta sólo en la parte intraalveolar de la raíz.

Ambos cementos son producidos por cementoblastos que cubren las superficie radicular. Algunas de estas células se incorporan al cementoide, que posteriormente se mineraliza para formar cemento.

Estas células quedan incorporadas al cemento son llamadas **cementocitos** que presentan prolongaciones citoplasmáticas las cuales permiten tener una comunicación con los cementoblastos de la superficie, y esto hace posible el transporte de nutrientes a través del cemento asegurándose la vitalidad de este tejido mineralizado.

Las fibras del ligamento periodontal que se encuentran insertadas tanto en el hueso alveolar como en el cemento acelular se les llama **Fibras de Sharpey** que se encuentran mineralizadas. Figura 1.15



**Fig. 1.15. Fibras de Sharpey . Periodontología .Clínica e Implantología Odontológica.**  
Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang

Durante la formación del cemento acelular, las fibras principales del ligamento periodontal van quedando incluidas, éstas Fibras de Sharpey forman un sistema fibroso extrínseco (E) del cemento y son producidas por los fibroblastos del ligamento periodontal y del tejido conectivo supraalveolar. Existe otro sistema fibroso intrínseco (I) que es formado por los cementoblastos cuyas fibras están orientadas de manera paralela al eje longitudinal de la raíz.

#### 4.10. HUESO ALVEOLAR.

La apófisis alveolar, o *proceso* alveolar, puede ser definida como aquella parte de los maxilares, superior e inferior, que forma y sostiene los alveolos de los dientes. La apófisis alveolar se desarrolla conjuntamente con el desarrollo y erupción de los dientes y se reabsorbe gradualmente cuando los dientes se pierden.<sup>1,5</sup>

Dicho proceso óseo está formado en parte por células del folículo dentario (hueso alveolar propio) por células que son independientes del desarrollo dentario. Junto con el cemento radicular y con 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 por otros contactos dentarios. Figura 1.16.



**Fig. 1.16. Hueso alveolar.** Periodontología Clínica e Implantología Odontológica.  
Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang

En un corte transversal de la apófisis alveolar del maxilar superior a nivel de la porción radicular media de los dientes. Se observa que el hueso que cubre las superficies radiculares es más grueso en la zona palatina que en la vestibular de ese maxilar. Las paredes de los alveolos están tapizadas por hueso *compacto* (flechas) y el área entre los alveolos, incluida la pared ósea compacta, está ocupada por hueso *esponjoso*.

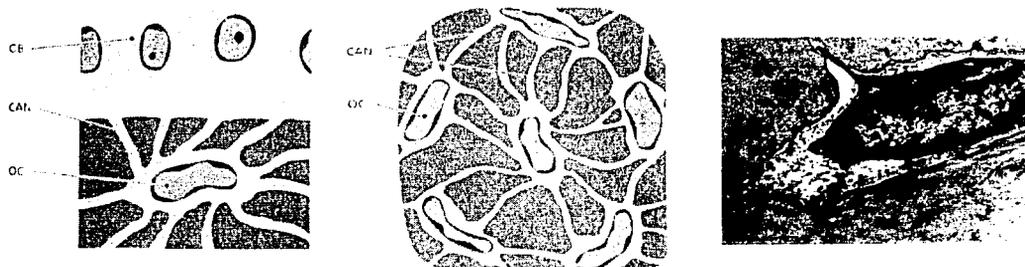
Éste ocupa la mayor parte de los tabiques interdentarios, pero sólo una porción relativamente pequeña de las láminas vestibular y palatina. El hueso esponjoso contiene *trabéculas óseas*, cuya arquitectura y tamaño están en parte determinados genéticamente y en parte son el resultado de las fuerzas a las cuales están expuestos los dientes durante la función.

El hueso compacto, está perforado por múltiples *conductos de Volkmann* a través de los cuales pasan vasos sanguíneos y linfáticos y fibras nerviosas, desde el hueso alveolar hacia el ligamento periodontal. La capa de hueso en la cual se insertan las Fibras de Sharpey se denomina "hueso fasciculado" (hueso alveolar propio) y constituye la superficie interna de la pared ósea del alveolo.

El contenido mineral del hueso, que es principalmente hidroxapatita, representa un 60% en peso. Las unidades estructurales básicas del hueso son los osteoblastos y osteoclastos. Los osteoblastos (OB) producen osteoide, constituido por fibras colágenas y una matriz que contiene principalmente proteoglucanos y glucoproteínas. Esta matriz ósea experimenta una mineralización por depósito de minerales, como calcio y fosfato, que posteriormente se transforma en hidroxapatita.<sup>1,2,3.</sup>

Durante el proceso de maduración y mineralización del osteoide, parte de los osteoblastos (OB) quedan atrapados en el osteoide, estas células presentes en el osteoide y después en el tejido óseo mineralizado, se les llama osteocitos y se encuentran en unas lagunas óseas.

Los osteocitos están comunicados con los osteoblastos de la superficie del hueso debido a que poseen prolongaciones citoplasmáticas que corren por unos canaliculos. Figura 1.17.



**Fig. 1.17 (A) (B) (C). Osteocitos. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

El hueso alveolar está en continua renovación en respuesta a las demandas funcionales. Los dientes erupcionan y migran en dirección mesial, durante toda la vida, para compensar la atrición. Ese movimiento de los dientes implica un remodelado del hueso alveolar. Durante el proceso de remodelado, las trabéculas óseas están siendo continuamente reabsorbidas y reformadas y la masa ósea cortical se disuelve y es remplazada por hueso nuevo.

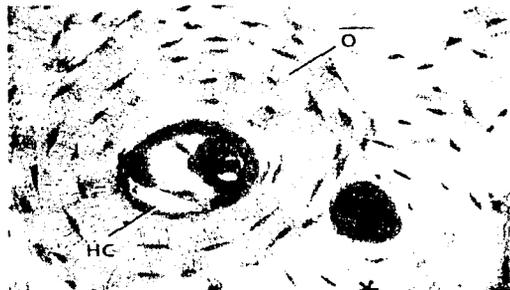
La reabsorción del hueso está vinculada siempre a los *osteoclastos* (OCL). Éstas son células gigantes especializadas en la degradación de la matriz mineralizada (hueso, dentina, cemento) y, probablemente, se generan a partir de los monocitos vasculares. La osteólisis (es decir, la degradación del hueso) 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*.

Durante la degradación del hueso cortical, se forman conductos de reabsorción para los vasos sanguíneos proliferantes. Esos conductos, que en su centro contienen un vaso sanguíneo, se llenan posteriormente con hueso nuevo por la formación de laminillas dispuestas en capas concéntricas en torno del vaso.

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.

Los *osteones* (o sistema Haversiano), que son estructuras cilíndricas longitudinalmente orientadas construidas alrededor de los conductos vasculares (Haversianos).

No son sólo estructurales sino además unidades metabólicas. La nutrición del hueso está asegurada por la incorporación de vasos sanguíneos al tejido óseo. Éstos, rodeados por laminillas óseas, constituyen el centro de un osteón (O). El conducto central (que contiene principalmente el vaso sanguíneo) en un osteón recibe el nombre de conducto de Havers (HC). Se observa el sistema canalicular-lacunar, por el cual se comunican los osteocitos. Los vasos sanguíneos de los conductos haversianos están conectados entre sí por anastomosis que corren por los conductos de Volkmann. Figura 1.18.

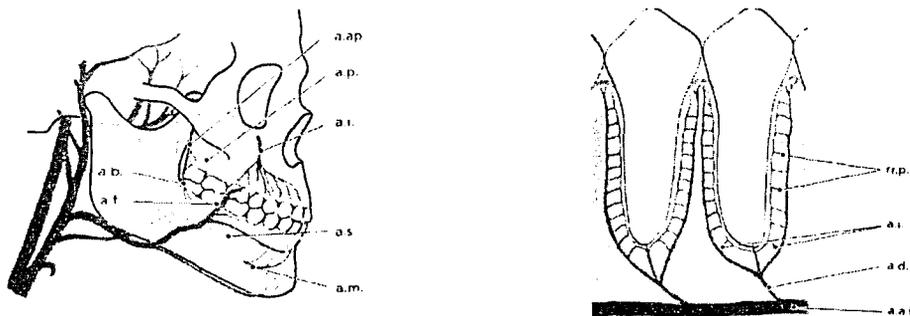


**Fig. 1.18. Sistema Haversiano. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

#### 4.11. IRRIGACIÓN SANGUÍNEA DEL PERIODONTO

Se suele considerar que las diversas arterias irrigan regiones bien definidas de la dentadura. Pero, en realidad, hay múltiples anastomosis entre las distintas arterias. De modo que debe considerarse al *sistema íntegro de vasos sanguíneos*, antes que a grupos individuales de arterias, como la unidad que irriga los tejidos blandos y duros de ambos maxilares.<sup>1,2,3,5</sup>

La *arteria dentaria* (a.d.), que es una rama de la arteria maxilar *superior* o *inferior* (a.a.i.) abandona la *arteria intratabical* (a.i.) antes que ésta penetre en el alveolo dentario. Las ramas terminales de la *arteria intratabical* (*rami perforantes*, rr.p.), penetran en la lámina dura por conductillos en todos los niveles del alveolo. Se anastomosan en el espacio del ligamento periodontal con vasos sanguíneos originados en la porción apical del ligamento periodontal y con otras ramas terminales de la arteria intratabical (a.i.). Antes de entrar en el conducto radicular, la arteria dentaria (a.d.) emite ramas que vascularizan la porción apical del ligamento periodontal. Figura 1.19



**Fig. 1.19. Irrigación del periodonto. La encía recibe aporte sanguíneo de los vasos supraperiósticos que son ramas terminales de las arterias sublingual (as), bucal (ab), facial (af), palatina mayor (ap), infraorbitaria (ai) y alveolar posterosuperior (ap). Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

Esta figura muestra el curso de la arteria palatina mayor (a.p.) esta arteria, que es una rama de la *arteria palatina inferior* o ascendente (de la arteria maxilar superior, "maxilar interna") corre a través del *conducto palatino posterior* hacia el paladar. En su marcha en dirección frontal, esta arteria emite ramas que irrigan la mucosa masticatoria del paladar. Figura 1.20



**Fig. 1.20. Encía vestibular está irrigada por sangre proveniente, sobre todo, de los vasos sanguíneos *supraperiósticos* (sv) que, durante su curso emiten numerosas ramas a**

**Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

El **Plexo subepitelial** (sp), el cual está ubicado por debajo del epitelio bucal de la encía libre y adherida. Figura 1.21

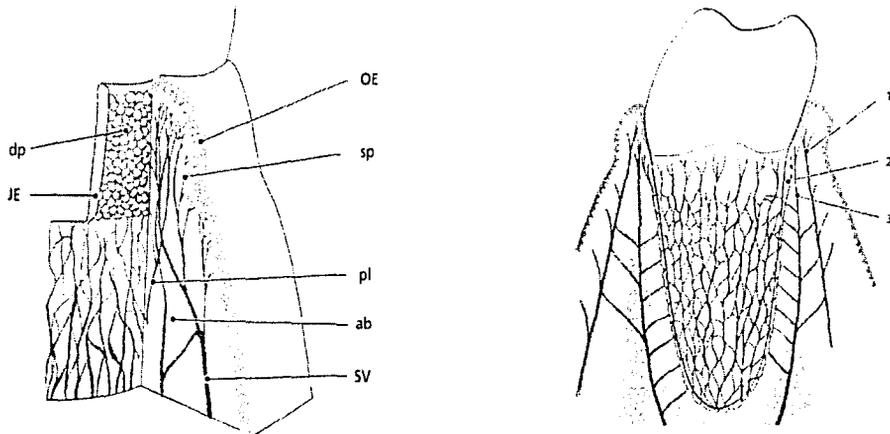


**Fig. 1.21. Plexo subepitelial . Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang**

La encía libre recibe el aporte sanguíneo de: vasos sanguíneos supraparióísticos, vasos sanguíneos del ligamento periodontal, y vasos sanguíneos del hueso alveolar.

En la encía libre, los vasos sanguíneos supraparióísticos se anastomosan con vasos de el hueso alveolar (ab) y el ligamento periodontal (pl) que pasan por la cresta del hueso alveolar .Por debajo de del epitelio de inserción existe el **plexo dentogingival** que se compone de una fina red de vasos sanguíneos.

Los vasos sanguíneos (ramas perforantes) surgidos de la arteria intratabical en el hueso alveolar corren por los conductos de Volkmann presentes en la pared alveolar (VC) hacia el ligamento periodontal (PL) donde se anastomosan , una vez que entran en el ligamento vuelven a anastomosarse para formar una red poliédrica que rodea a la raíz del diente. Figura 1.22.



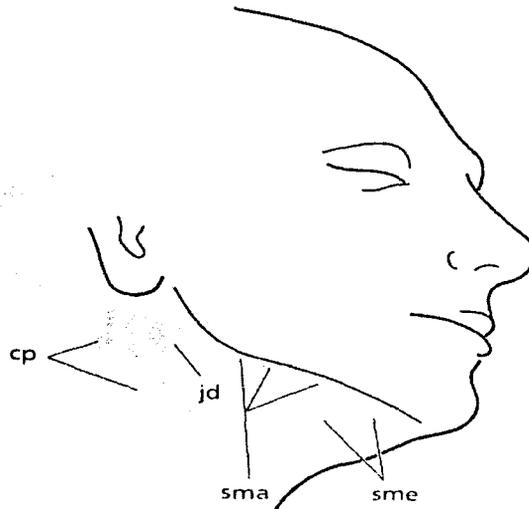
**Fig. 1.22. Plexo dentogingival y red poliédrica que irrigan al periodonto. .**  
Periodontología Clínica e Implantología Odontológica.  
Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang

#### 4.12. SISTEMA LINFÁTICO DEL PERIODONTO

La linfa de los tejidos periodontales drena hacia los ganglios linfáticos de la cabeza y del cuello. La encía labial y lingual de la región incisiva inferior drena hacia los *ganglios linfáticos submentonianos (SME)*.

La encía palatina del maxilar superior drena hacia los *ganglios linfáticos cervicales (cp)*.

La encía bucal del maxilar superior y la encía bucal y lingual en la región premolar-molar mandibular drena hacia los *ganglios linfáticos submandibulares (sma)*. Excepto los terceros molares y los incisivos mandibulares, todos los dientes con sus tejidos periodontales adyacentes drenan hacia los ganglios submandibulares (sma). Los terceros molares drenan hacia el *ganglio linfático yugulodigástrico* y los incisivos mandibulares hacia los *ganglios linfáticos submentonianos (sme)*. Figura 1.23. <sup>1,5</sup>



**Fig. 1.23. Sistema linfático del periodonto. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang.**

#### 4.13. NERVIOS DEL PERIODONTO.

Como los otros tejidos del organismo, el periodonto contiene receptores del dolor, del tacto y de la presión (*mecanorreceptores*). El ligamento periodontal, el cemento, el hueso alveolar, contiene también *propioreceptores*, que aportan información sobre los movimientos y posiciones (es decir, sensibilidad profunda).

Además de los distintos tipos de receptores sensoriales que pertenecen al sistema nervioso somático, hay componentes nerviosos que inervan los vasos sanguíneos del periodonto y que pertenecen al sistema nervioso autónomo.

Los nervios que registran dolor, tacto y presión tienen su centro trófico en el *ganglio semilunar*, o de *Gasser*, mientras que los nervios propioceptores tienen su centro trófico en el *núcleo* mesencefálico, de ubicación más central.

Ambos tipos de nervios llegan al periodonto por la vía del *nervio trigémino* y sus ramas terminales. Debido a la presencia de receptores en el ligamento periodontal es posible la identificación de fuerzas menores. Es bien conocido que un movimiento que lleva a los dientes de la mandíbula al contacto con las caras oclusales de los dientes superiores se interrumpe de forma refleja y se convierte en un movimiento de apertura si al morder se detecta un objeto duro.

De este modo, los receptores en el ligamento periodontal, junto con los propioceptores en músculos y tendones, desempeñan un papel esencial en la regulación de los movimientos y de las fuerzas masticatorias.

La encía labial de los incisivos, caninos y premolares superiores está inervada por ramas labiales superiores del nervio infraorbitario. La encía bucal en la región molar del maxilar superior está inervada por ramas del *nervio dental superior posterior*.

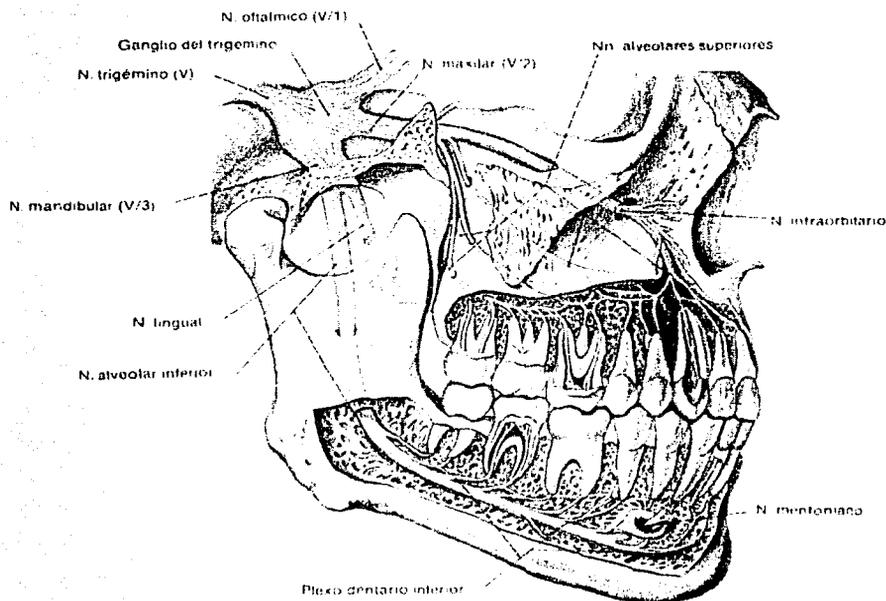
La encía palatina está inervada por el nervio palatino mayor, excepto el área de los incisivos, que está inervada por el nervio esfenopalatino largo, *n. pterigopalatino*.

La encía lingual del maxilar inferior está inervada por el nervio sublingual. La encía vestibular de los incisivos y caninos inferiores está inervada por el nervio mentoniano, y la vestibular de los molares por el nervio buccinador.

Las zonas de inervación de estos dos nervios con frecuencia se superponen en la región premolar. Los dientes del maxilar inferior, incluido su ligamento periodontal, están inervados por el nervio dentario inferior o alveolar inferior, mientras que los del maxilar superior están inervados por el plexo dentario superior o alveolar superior.

Los pequeños nervios del periodonto siguen casi el mismo curso que los vasos sanguíneos. Los nervios de la encía corren en el tejido superficial hacia el periostio y emiten varias ramas al epitelio bucal en su camino hacia la encía libre.

Los nervios entran en el ligamento periodontal a través de las perforaciones en la pared alveolar (conductos de Volkmann). En el ligamento periodontal, los nervios se unen en haces mayores que siguen un curso paralelo al eje longitudinal del diente. Figura 1.24. <sup>1,2,5</sup>



**Fig. 1.24. Nervios del parodonto. Atlas de Anatomía Humana. Sobota**

#### 4.14. ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

Las reacciones inflamatoria e inmunitaria frente a la placa microbiana constituyen los rasgos predominantes de la gingivitis y la periodontitis. La reacción inflamatoria es visible microscópica y clínicamente en el periodonto afectado y representa la respuesta del huésped a la microflora de la placa y a sus productos

El epitelio de unión singularmente poroso tiene una notable dinámica celular y fluida y en todo momento procura preservar la continuidad epitelial a través de la interfase de tejido duro y blando. Los procesos inflamatorios e inmunitarios en los tejidos periodontales son una respuesta no sólo a una especie microbiana, sino a gran cantidad de microorganismos y sus productos, que actúan durante un período relativamente prolongado. Las bolsas periodontales pueden contener más de 400 especies diferentes de microorganismos, cada una con distinto potencial inductor de enfermedades, lo que varía según el medio y la etapa de la colonización. La enfermedad periodontal ha sido a veces denominada como **"infección bacteriana mixta"** para destacar que contribuye más de una especie al desarrollo de la enfermedad.

La destrucción periodontal puede deberse tanto a las enzimas virulentas producidas por las bacterias que inducen la inflamación, como a una reacción inmunitaria a los productos de desecho o al componente lipopolisacárido de la membrana externa de los organismos gramnegativos.

Cada sitio afectado en su boca representa un microambiente "individualizado" o "específico". En algunos sitios, la lesión inflamatoria puede estar limitada a la encía (gingivitis) durante largos períodos sin un progreso visible de la enfermedad hacia los tejidos más profundos. En otros sitios puede estar produciéndose destrucción periodontal activa y puede ser una consecuencia de una variedad de factores. Los hallazgos de los estudios epidemiológicos revelaron de forma constante que la experiencia y extensión de la enfermedad periodontal aumenta con la edad y con la higiene bucal inadecuada.

Las personas normales que mantengan un nivel alto de higiene bucal tienen pocas probabilidades de padecer enfermedad gingival o periodontal. No obstante, estudios clínicos experimentales a corto plazo demostraron que los microorganismos comienzan rápidamente a colonizar las superficies dentarias limpias cuando el individuo se abstiene de la limpieza dentaria mecánica, en pocos días se visualizan signos clínicos y microscópicos de gingivitis.

Estas alteraciones inflamatorias se resuelven o revierten cuando se reanudan las medidas de higiene dentaria correctas.<sup>22</sup> De donde, los microorganismos que forman la placa dental contienen o liberan componentes que inducen a la gingivitis.

La mayoría de los tipos de enfermedad periodontal son trastornos asociados a la placa que se inician como una manifiesta inflamación de la encía. Si se deja sin tratar, en personas susceptibles, puede extenderse a porciones más profundas del periodonto. Esta respuesta puede ser modificada por hormonas, como en el caso de la pubertad y el embarazo (con el resultado de encía edematosa o hipertrofiada o ambas cosas) o por fármacos, como fenitoína, ciclosporina o nifedipina (fármacos que inducen la hipertrofia gingival).

#### **4.15. ENCÍA NORMAL**

La encía normal se caracteriza clínicamente por su color rosado y consistencia firme; el margen gingival tiene un contorno festoneado. Las papilas dentarias están firmes, no sangra por un sondeo suave y llenan el espacio por debajo de las áreas de contacto. Las encías tienen a menudo un aspecto punteado y el margen es fino como el borde de un cuchillo entre el diente y el tejido blando. Las encías normales, teóricamente, están libres de inflamación histológica, pero esta situación "ideal" sólo puede ser establecida experimentalmente en seres humanos después de varias semanas de un control minucioso cotidiano de la placa.

La inflamación gingival resulta de una sobrecarga de bacterias probablemente debida a un escaso control de la placa. Las alteraciones de los sistemas Inmunitarios o inflamatorios pueden producir como consecuencia una inflamación gingival manifiesta.

La periodontitis crónica, requiere cierta predisposición adicional referida al huésped, por ejemplo, un defecto neutrofílico, un ataque microbiano abrumador o una incapacidad para desarrollar una respuesta inmune eficaz a los microorganismos de la placa.<sup>1,2,3</sup>

#### **4.16. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS**

#### **4.17. INFLAMACIÓN GINGIVAL.**

Dentro de los 10 a 20 días de acumulación de placa, se establecen signos de gingivitis en la mayoría de las personas, aunque esto varía, con algunos individuos intrínsecamente resistentes y otros más propensos a una gingivitis manifiesta. Esta gingivitis se presenta con un enrojecimiento de las encías, tumefacción y tendencia incrementada del tejido blando a sangrar ante un suave sondeo. Aun en esta etapa, los signos clínicos son reversibles después de la eliminación de la placa microbiana con medidas de control eficaces.

Las alteraciones clínicas pueden parecer sutiles en las primeras etapas de la gingivitis, pero las modificaciones histopatológicas subyacentes son bastante marcadas. Se producen cambios en la red vascular, con apertura de muchos lechos capilares. El líquido exudado y las proteínas invaden los tejidos y se produce una penetración de células inflamatorias en el tejido conectivo subyacente al epitelio de unión. El infiltrado celular inflamatorio comprende principalmente linfocitos, macrófagos y neutrófilos. Al aumentar la infiltración celular, se modifica la composición estructural y celular de los tejidos.<sup>23,25,26,27</sup>

En 1976, Page y Schroeder <sup>25</sup> clasificaron la progresión de la inflamación gingival y periodontal en función de la evidencia clínica e histopatológica disponible entonces. Dividieron la lesión en progreso en cuatro fases:

- inicial,
- temprana
- establecida y
- avanzada.

#### 4.18. LESIÓN GINGIVAL INICIAL

Esta lesión inicial o muy temprana, siendo típica de la encía sana clínicamente, podría ser considerada como un estado fisiológico. Podría ser una consecuencia de las características singulares de la región del epitelio de adherencia: el epitelio es muy poroso; tiene espacios intracelulares relativamente grandes

Se produce rápidamente inflamación en cuanto se deposita placa en el diente. En 24 horas son evidentes unos cambios acentuados en el plexo microvascular por debajo del epitelio de unión en cuanto llega más sangre al área. Histopatológicamente, es evidente la dilatación de las arteriolas, capilares y vénulas.

El resultado es un incremento de la permeabilidad del lecho microvascular, de modo que se exudan líquidos y proteínas hacia los tejidos .

Se puede tomar muestras de este líquido crevicular gingival (GCF), mediante la colocación de tiras de papel filtro en el margen gingival para absorber el exudado. El volumen del exudado es proporcional a la gravedad de la inflamación gingival presente. La concentración de las diversas proteínas plasmáticas, proteasas tisulares, inhibidores y productos de degradación y enzimas leucocitarias en la hendidura gingival son considerados marcadores muy útiles del proceso inflamatorio y se están utilizando como marcadores diagnósticos de la enfermedad periodontal. <sup>32</sup>.

Simultáneamente a las alteraciones vasculares, la migración de los leucocitos desde el sistema vascular dentogingival está reforzada por las moléculas de adhesión, la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM- 1) y la molécula-1 de adhesión leucocitaria endotelial (ELAM-1) .Y otras adhesinas presentes en las células del epitelio de unión<sup>26</sup> , y por la presencia de factores quimiotácticos microbianos y del huésped. Estas moléculas ayudan a los leucocitos a unirse a las vénulas postcapilares y ayudan a las células a dejar el vaso sanguíneo. Probablemente a los 2 a 4 días de acumulación de placa, la respuesta celular está bien establecida.

#### **4.19. LESIÓN GINGIVAL TEMPRANA .**

La lesión gingival temprana, o precoz, se produce aproximadamente siete días después de acumulación de placa. Sólo se puede dar una aproximación del tiempo requerido pues existe una variación acentuada entre distintos seres humanos.

La variación vista en el hombre puede ser debida a diferentes capacidades de retención de la placa tanto del sujeto como del sitio o a diferencias entre los sujetos en rasgos como los niveles hormonales. Histológicamente, los vasos por debajo del epitelio de unión permanecen dilatados, pero su cantidad aumenta debido a la apertura de lechos capilares previamente inactivos.

Linfocitos y neutrófilos constituyen la infiltración leucocitaria predominante en esta etapa y se observan muy pocos plasmocitos en la lesión <sup>27,29</sup>. Dentro de la lesión, los fibroblastos degeneran; se produce destrucción de colágeno en el área infiltrada que es necesaria para que los tejidos puedan ser separados para dejar lugar a las células infiltrantes. Las alteraciones inflamatorias son apreciables clínicamente en esta etapa y, aproximándose al término de la segunda semana de acumulación de placa, se pueden hallar depósitos subgingivales.

#### **4.20. LESIÓN GINGIVAL ESTABLECIDA .**

Hay un incremento del exudado líquido y migración de leucocitos hacia los tejidos y la hendidura gingival. Clínicamente, esta lesión presentará una tumefacción edematosa mayor que la "gingivitis temprana" y puede ser considerada una "gingivitis establecida". <sup>32</sup>

En la lesión establecida clásica se ven grandes cantidades de plasmocitos maduros. La pérdida de colágeno continúa en ambas direcciones, lateral y apical, al expandirse el infiltrado celular inflamatorio.

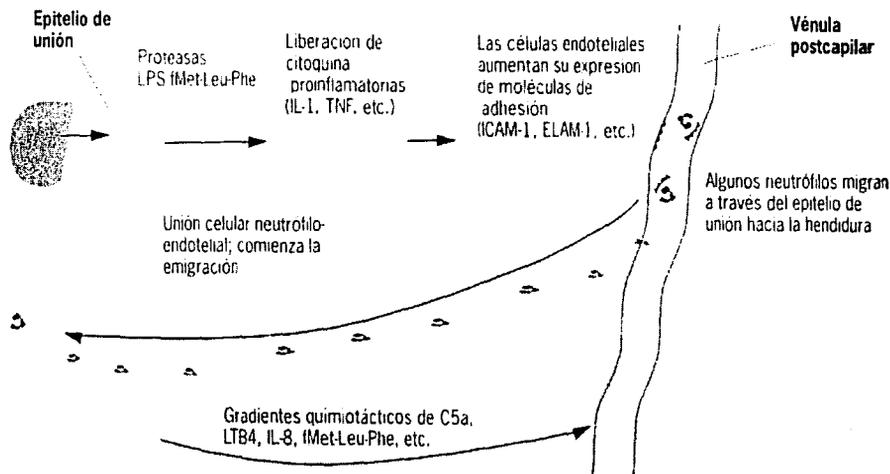
Durante este tiempo, el epitelio dentogingival continúa proliferando en un intento por mantener la integridad epitelial y una barrera a la penetración microbiana. El epitelio de la bolsa no está adherido a la superficie dentaria y tiene una fuerte infiltración leucocitaria, con predominio de neutrófilos que eventualmente migran a través del epitelio hacia la hendidura gingival o bolsa.

Parecen existir dos tipos de lesión establecida, uno se mantiene estable y no progresa por meses o años <sup>24</sup>, mientras que el segundo se hace más activa y se convierte en lesiones periodontales destructivas.

Un estudio más reciente comparó las densidades de plasmocitos en sitios con periodontitis progresiva activa y en sitios con bolsas profundas y gingivitis sin pérdida significativa de inserción durante dos años. La densidad de los plasmocitos (51,3%) estaba mucho más incrementada en los sitios activos, que en los inactivos (31,0%).

#### 4.21. LESIÓN GINGIVAL / PERIODONTAL AVANZADA

La etapa final en este proceso es conocida como lesión avanzada. Al profundizar la bolsa, probablemente debido al epitelio que se extiende apicalmente en respuesta a la irritación de la placa y a episodios destructivos de corta duración, la placa continúa su crecimiento en profundidad y florece en su nicho ecológico anaerobio. El infiltrado de células inflamatorias se extiende lateralmente y más apicalmente en los tejidos conectivos. La lesión avanzada tiene todas las características de la lesión establecida, pero difiere en forma importante en cuanto a que existe pérdida de hueso alveolar, el daño a las fibras es amplio, el epitelio de unión migra apicalmente desde el límite cemento adamantino y hay amplias manifestaciones de lesión tisular inflamatoria. La lesión ya no está localizada y el infiltrado celular inflamatorio se extiende lateral y apicalmente en el tejido conectivo. Los plasmocitos constituyen el tipo celular predominante en la lesión avanzada. Hay similitudes entre la lesión establecida de una gingivitis crónica y la lesión avanzada de periodontitis crónica. Figura 1.24.<sup>33</sup>



**Fig. 1.25. Esquema de liberación de mediadores de la inflamación. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang.**

#### 4.22. ETIOLOGÍA Y PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal se desarrolla por lo regular a partir de la gingivitis. Sin embargo, no todas las gingivitis dan lugar a una periodontitis. La cantidad de virulencia de los microorganismos (patógenos) por una parte, y el estado inmunológico del paciente, son decisivos en la actividad inflamatoria y en la progresión. La periodontitis es el resultado del progreso inflamatorio de la encía a las estructuras del periodonto. Dando como resultado la reabsorción del hueso alveolar y pérdida de la inserción, seguida por la formación de bolsas periodontales.<sup>31</sup>

Como consecuencia de esta migración es que el epitelio se unión llega hasta la raíz del diente. El proceso inicia afectando las fibras dentogingivales y dentoperiósticas, posteriormente se ven afectadas las fibras del ligamento periodontal. La pérdida de tejido conectivo en la superficie de unión con la raíz es irreversible ya que el epitelio de la bolsa periodontal impide la reinserción de las fibras de colágeno. Las sustancias microbianas estimulan a las células epiteliales para que produzcan citoquinas proinflamatorias y otros mediadores químicos de la inflamación. En las primeras etapas, los neutrófilos (leucocitos polimorfonucleares o 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.<sup>37</sup>

De esta manera, los PMN son atraídos al área junto con otros leucocitos, como los monocitos, macrófagos y linfocitos. Los macrófagos son probablemente el único tipo de célula fuera del neutrófilo que tiene una función útil en la hendidura, es decir, que pueden fagocitar PMN muertos y agonizantes y así retirarlos del área. La acumulación de PMN y su actividad en la hendidura gingival tiene como resultado la liberación de muchas enzimas que ocasionan efectos perjudiciales para los tejidos del huésped 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.<sup>19,36</sup>

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 hacer más espacio para las células de la 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 citoquinas que directa e indirectamente degradan aun 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 frustrada, la bolsa profundizará, el tejido de granulación se extenderá, se perderá hueso y ligamento y, finalmente, desaparecerán bastantes estructuras de sostén del diente como para causar la exfoliación. La patogenia de la enfermedad periodontal origina la destrucción de los tejidos de soporte del diente y es consecuencia de las acciones frustradas e ineficaces de los sistemas de defensa del huésped en respuesta a la acumulación de placa. Este proceso patogénico difiere en extensión y gravedad de un individuo a otro y en cada uno y las razones son multifactoriales.<sup>37,38.</sup>

Sin embargo, se reconoce cada vez más que existe un fuerte componente genético en la susceptibilidad a la enfermedad periodontal. La placa microbiana desarrolla un papel fundamental en el proceso patogénico, de modo que el único método universalmente aceptado para detener la destrucción periodontal es por medio de una estrategia antimicrobiana, para lo que suelen ser eficaces el alisado radicular y el escrupuloso mantenimiento de la higiene bucal. A continuación se muestra un cuadro de la clasificación de la enfermedad periodontal y otros trastornos que afectan al parodonto. Cuadro I.<sup>39,40</sup>

### **Cuadro I.**

#### **A. Periodontitis del adulto:**

1. Clasificación I, II, III, IV de la AAP.
2. Epidemiología: periodontitis de evolución moderada y rápida.
3. Clínica basada en tratamiento: refractaria recurrente
4. Clínica basada en la historia: periodontitis ulcerosa necrosante aguda recurrente y periodontitis juvenil poslocalizada..

#### **B. Periodontitis juvenil:**

1. Periodontitis localizada juvenil.
2. Periodontitis generalizada juvenil.

#### **C. Periodontitis con complicaciones sistémicas:**

Periodontitis con alteraciones primarias de neutrófilos

- a. Agranulocitosis.
  - b. Neutropenia cíclica.
  - c. Síndrome Chedial-Higashi.
  - d. Anormalidades en la adherencia de neutrófilos
  - e. Síndrome de Job.
  - f. Síndrome del "leucocito perezoso".
  - g. Anormalidades en la función de neutrófilos.
2. Periodontitis en padecimientos sistémicos con deterioro de neutrófilos secundario o relacionado.
    - a. Diabetes sacarina tipo 1 y II.
    - b. Síndrome Papillon-LeFèvre.
    - c. Síndrome de Down.
    - d. Enfermedades inflamatorias del intestino: enfermedad de Crohn.
    - e. Síndrome preleucémico.
    - f. Síndrome de Addison.
    - g. S.I.D.A.

3. Otros padecimientos sistémicos relacionados con alteraciones en la estructura del aparato de inserción periodontal.

- a. Síndrome Ehlers-Danlos (VIII).
- b Escleroderma
- f. Histiocitosis (granuloma eosinofílico).
- c. Sarcoidosis.
- g. Hipertiroidismo.
- d. Hipoadrenocorticismo

#### **D. Transtornos diversos que afectan al periodonto. Abscesos periodontales**

1. Quistes periodontales
2. Anquilosis.
3. Resorción radicular
4. Lesiones por comunicación periodonto-pulpa.

#### **4.23. PLACA DENTOBACTERIANA.**

Se puede definir como una biopelícula que se compone de bacterias en una matriz compuesta principalmente por polímeros bacterianos extracelulares y productos salivales o exudados gingivales o ambos.

Considerando que, la acumulación de bacterias sobre superficies sólidas no es un fenómeno odontológico exclusivo.

Las biopelículas se forman en todas las superficies inmersas en medios acuosos naturales. Se forman en medios líquidos donde las bacterias reciben un aporte nutritivo regular presentándose una formación rápida de capas visibles de microorganismos acompañada de polímeros producto de la excreción bacteriana.

El tratamiento con sustancias antimicrobianas no tiene mucho éxito hasta que se eliminen los depósitos mecánicamente.<sup>34,35</sup>

#### **4.24. FORMACIÓN DE LA PLACA.**

La capacidad de adherirse a las superficies es una propiedad general de casi todas las bacterias. Inmediatamente después de la inmersión de un sustrato sólido en el medio líquido de la cavidad bucal o después de la limpieza de una superficie sólida en la boca, las macromoléculas hidrofóbicas comienzan adsorberse a la superficie para formar una película adecuada denominada película adquirida. Esta película está compuesta de una variedad de glucoproteínas (mucinas) salivales y anticuerpos la película altera la carga y la energía libre de la superficie, que a su vez aumenta la eficiencia de la adhesión bacteriana. Las bacterias se adhieren de manera variable a estas superficies recubiertas. Algunas poseen estructuras para la adhesión específicas, tales como sustancias poliméricas extracelulares y fimbrias, que les permiten adherirse rápidamente al contacto.

Otras bacterias requieren una exposición prolongada para unirse firmemente. Su comportamiento cambia una vez adheridas a las superficies. Esto implica un crecimiento celular activo de las bacterias antes inactivas y la síntesis de nuevos componentes de la membrana exterior. La masa bacteriana se incrementa debido al desarrollo continuo de los microorganismos adheridos, a la adhesión de nuevas bacterias y a la síntesis de polímeros extracelulares.<sup>38,39</sup>

Con el espesor incrementado, la difusión hacia adentro y hacia afuera de la biopelícula se hace cada vez más difícil. Se genera un gradiente de oxígeno como resultado de la rápida utilización por las capas de bacterias superficiales y a la escasa difusión del oxígeno a través de la matriz de la biopelícula. Suelen terminar por darse condiciones completamente anaeróbicas en las capas más profundas de los depósitos.

El oxígeno es un factor ecológico determinante importante, pues las bacterias varían su capacidad de crecimiento y multiplicación con los diferentes niveles de oxígeno. También se producen gradientes de disminución de los nutrientes suministrados por la fase acuosa, es decir, la saliva. Como resultado del metabolismo bacteriano se generan gradientes inversos de productos de fermentación.

Los productos de la dieta disueltos en la saliva son una fuente importante de nutrientes para las bacterias de la placa supragingival. Pero, una vez constituida una bolsa periodontal más profunda, las condiciones de nutrición de las bacterias se alteran debido a que está muy limitada la penetración de las sustancias disueltas en la saliva.<sup>40</sup>

Dentro de la bolsa profunda, la fuente nutricional principal para el metabolismo microbiano proviene de los tejidos periodontales y de la sangre. Muchas bacterias que se encuentran en la bolsa producen enzimas hidrolíticas con las cuales pueden degradar las macromoléculas complejas del huésped a péptidos y aminoácidos simples. Estas enzimas pueden ser un factor primordial en los procesos destructivos de los tejidos periodontales.

La colonización primaria se debe a cocos gram-positivos facultativos. Se absorben a las superficies cubiertas por película poco tiempo después de la limpieza mecánica. La placa recolectada después de 24 horas se compone sobre todo de estreptococos, de los que el *S. sanguis* es el más destacado.

En la fase siguiente, bacilos gram-positivos, que inicialmente están presentes en números muy bajos, aumentan gradualmente y terminan por superar a los estreptococos. En la etapa de desarrollo de la placa predominan los filamentos gram-positivos, particularmente los *Actinomyces*. Las superficies receptoras de los cocos y bacilos gram-positivos permiten la posterior adherencia de organismos gram-negativos, que tienen menor capacidad para adherirse a la película directamente. De esta manera pueden adherirse *Veillonella*, fusobacterias y otras bacterias anaerobias gram-negativas.

La heterogeneidad de la placa, así, gradualmente, crece y, con el tiempo, alcanza grandes cantidades de organismos gram-positivos. El intercambio de nutrientes entre las diferentes especies, así como las interacciones negativas, es decir, la producción de bacteriocinas, desempeñan cierto papel en el establecimiento de la comunidad bacteriana estable.

Debido a la influencia de los factores ambientales locales, en distintas zonas se desarrollan tipos estructuralmente diferentes de placas. Ejemplos de esto son la placa de las superficies adamantinas lisas o la placa de las hendiduras gingivales superficiales.

La acumulación de placa a lo largo del margen gingival origina una reacción inflamatoria de los tejidos gingivales. La presencia, de esta inflamación tiene una influencia profunda sobre la ecología local. La disponibilidad de sangre y de los componentes del fluido gingival promueve el crecimiento de las especies bacterianas gram-negativas con mayor potencial periodontopatógeno. En razón de su capacidad enzimática de digerir las proteínas, muchos de estos microorganismos no dependen de una disponibilidad directa de una dieta de hidratos de carbono. Estas bacterias no producen polímeros extracelulares y generan una placa dental poco adherida en la bolsa periodontal en formación.

En resumen, inmediatamente después de la inmersión de superficies duras no descamantes en el medio fluido de la cavidad bucal, la adsorción de macromoléculas conducirá a la formación de una *biopelícula*. En la adhesión microbiana a esta capa glucoproteica participarán, primero, los formadores primarios de placa, como los cocos y bacilos gram-negativos anaerobios facultativos. Después, la colonización de receptores de estos microorganismos involucrará a bacterias gram-negativas anaerobias estrictas, en tanto que los formadores primarios de placa se multiplican para formar colonias.

#### 4.25. ESTRUCTURA DE LA PLACA DENTAL

La placa dental microbiana se clasifica de acuerdo con su localización en:

- supragingival
- subgingival

**4.26 PLACA SUPRAGINGIVAL** Se refiere a aquellas agregaciones bacterianas que se encuentran en las superficies dentales aunque puede encontrarse dentro del surco gingival.

Es detectable clínicamente después de dos días en los que no se haya removido mecánicamente. Puede ser de color blanco o amarilla siendo más gruesa en el tercio cervical o gingival y en las zonas interproximales de los dientes.

Las superficies dentarias, el esmalte y el cemento expuesto, se cubren de una fina película de glucoproteínas, que si es eliminada se vuelve a formar en minutos. Esta película desempeña un papel importante en la adherencia selectiva de las bacterias a la superficie dental, siendo las bacterias cocoides y leucocitos polimorfonucleares los primeros en adherirse.

Durante las primeras horas, las bacterias que resisten el despegamiento de la película pueden comenzar a proliferar y a formar pequeñas colonias de microorganismos morfológicamente similares. Un ejemplo es el de las configuraciones en forma de mazorca resultantes del crecimiento de cocos en la superficie de un microorganismo filamentosos. Otro rasgo de la placa más antigua es la presencia de bacterias muertas y lisadas que pueden aportar nutrientes adicionales a las bacterias aún viables de la vecindad o como material de anclaje para asegurar la retención en la placa.

El material presente entre las bacterias de la placa dental recibe el nombre de matriz intermicrobiana y constituye aproximadamente el 25% del volumen de la placa. Tres pueden ser las fuentes que contribuyen a la matriz intermicrobiana: los microorganismos de la placa, la saliva y el exudado gingival.

Las bacterias pueden excretar varios productos metabólicos. Algunas pueden producir diversos polímeros de carbohidratos extracelulares que sirven como almacenamiento de energía o como material de anclaje para asegurar la retención en la placa.

Los glúcidos de la matriz han sido muy estudiados y por lo menos algunos de los polisacáridos de la matriz de la placa están bien caracterizados: fructanos (levanos) y glucanos. Los fructanos son sintetizados en la placa a partir de la sacarosa de la dieta y constituyen un almacenamiento de energía que puede ser utilizado por los microorganismos en tiempos de aporte escaso de azúcar. A partir de ésta también se produce la síntesis de los glucanos. Un tipo de éstos es el dextrano, que también sirve de almacenamiento de energía. Otro glucano es el mutano, que no se degrada con facilidad, y que actúa como esqueleto de la matriz.

En los días siguientes continúa el crecimiento de la placa con el asiento de cocos gram-negativos, así como fuso espirales gram-positivos y gram-negativos. A las tres semanas se observa, especialmente en la proximidad del borde de la encía un marcado aumento de fusiformes. Por efecto de la liberación de sustancias, la flora bacteriana provoca en el tejido una fuerte migración de los leucocitos PMN y una exudación en el *sulcus* (barrera leucocitaria contra las bacterias). Con la aparición de la gingivitis se debilita el epitelio de unión, por lo que las bacterias pueden penetrar en la región subgingival entre el diente y el epitelio de la bolsa gingival.

**4.27. PLACA SUBGINGIVAL.** Se encuentra por completo dentro del surco gingival o en bolsas periodontales, esta compuesta por bacterias unidas unas a la superficie dental otras al revestimiento epitelial de la bolsa de manera que resisten la remoción del líquido crevicular.

La placa subgingival, estructuralmente, se asemeja a la supragingival, en particular con respecto de la placa asociada a gingivitis sin formación de bolsas profundas.

Adyacente al material cuticular que recubre la superficie dentaria aparece una acumulación muy densa de microorganismos. Las bacterias son cocos, bacilos y filamentos gram-positivos y negativos. También se encuentran espiroquetas y diversas bacterias flageladas, en especial en la extensión apical de la placa. La capa superficial suele estar menos condensada y se interponen leucocitos regularmente entre la placa y el recubrimiento epitelial de la hendidura gingival.<sup>1,2,3</sup>

Las bacterias situadas subgingivalmente parecen tener capacidad para invadir los túbulos de dentina cuyas aberturas hayan quedado expuestas como consecuencia de las reabsorciones del cemento impulsada por la inflamación.

Ese hábitat podría servir como fuente para la recolonización del espacio subgingival después del tratamiento de la enfermedad periodontal. En resumen, hay cuatro nichos ecológicos distintos de composición probablemente diferente:

1. la superficie dentaria
2. el medio líquido del exudado gingival
3. la superficie de las células epiteliales y
4. la porción superficial del epitelio de la bolsa.

#### **4.28. SARRO DENTAL**

También es llamado cálculo dental se produce como resultado de la calcificación de las proteínas salivales, el sarro suele representar la placa bacteriana mineralizada.

#### **4.29. DISTRIBUCIÓN, DIAGNÓSTICO Y ASPECTO CLÍNICOS:**

Al sarro supragingival se le reconoce como una masa de moderada dureza de color blanco cremoso a amarillo oscuro o pardo. El grado de formación de sarro no depende sólo de la cantidad de placa bacteriana presente, sino también de la secreción de las glándulas salivales.

El sarro subgingival se puede hallar por exploración táctil solamente, pues su formación se produce hacia la zona apical del margen gingival y, por lo tanto, no suele ser visible. Los depósitos pequeños o los remanentes después de la instrumentación radicular apenas podrían ser visualizados radiográficamente. Si se abre el margen gingival con un chorro de aire o si se separa con un instrumento odontológico, podría llegar a verse una masa dura calcificada negra de superficie áspera irregular. Por consiguiente, se encuentra sarro subgingival en la mayoría de las bolsas periodontales, extendiéndose habitualmente desde el límite cementoadamantino y llegando hasta cerca del fondo de la bolsa. Pero se suele hallar una banda de 0,5 mm hacia la zona coronaria de la extensión apical de la bolsa periodontal, zona que se presenta libre de depósitos mineralizados debido a que el líquido sulcular gingival exudado por los tejidos blandos periodontales actúa como freno para la acumulación microbiana igual que el sarro supragingival, el subgingival constituye también un medio ideal para la adhesión.<sup>1,2,3</sup>

En algunas personas, el tiempo requerido para la formación de sarro supragingival es de 2 semanas, tiempo en que ya el depósito puede contener aproximadamente el 80% del material inorgánico hallado en el sarro maduro, en pocos días puede haber ya muestras de mineralización. No obstante, la formación de sarro dental con la composición cristalina madura del sarro viejo puede requerir de meses a años. La placa supragingival se forma de proteína salival y placa subgingival mineralizadas en presencia de exudado inflamatorio en la bolsa. Por lo tanto, es evidente que el sarro subgingival representa un producto secundario de la infección y no una causa primaria de periodontitis.

#### 4.30. ESTRUCTURA DE LA CÉLULA PROCARIÓTICA

La célula procariótica es más simple que la célula eucariótica a cualquier nivel con una excepción: la pared celular puede ser más compleja.

Los rasgos importantes de anatomía del procarionte deben proporcionar :

1. El encapsulamiento de los volúmenes internos de la célula y la separación del ambiente externo.
2. La replicación (la duplicación) de su información genética.
3. La síntesis de todos los componentes de la célula.
4. La generación, almacenamiento, y utilización de compuestos ricos en energía.
5. La entrada y salida de moléculas específicas.

Adicionalmente existen otras funciones pero no necesariamente .

1. el movimiento celular .
2. transferencia de información genética a otras células.
3. el almacenamiento de materiales de la reserva como carbohidratos, que pueden usarse después para la producción de energía.
4. la formación de un tipo celular diferente llamado endosporas.<sup>7,8</sup>

#### 4.31. ENVOLTURA CELULAR.

Las capas que rodean a la célula procariótica se conocen, en términos generales, como envoltura celular. La estructura y organización de ésta difiere en las bacterias grampositivas y las gramnegativas; muchas bacterias tanto eubacterias como arqueobacterias grampositivas y gramnegativas, poseen un reticulado de proteína tipo subunidad cristalino bidimensional, o moléculas de glucoproteína (capa S) como el componente más externo de la envoltura celular cuya función se asocia con la protección de enzimas de degradación, de bacteriófagos, mantiene la forma celular y puede estar implicada en la adherencia celular.

#### 4.32. MEMBRANA CITOPLÁSMICA

##### Estructura

La membrana citoplásmica de las bacterias, también conocida como membrana celular, es una "membrana unitaria" típica que se compone de fosfolípidos y proteínas; Las membranas de los procariotes se distinguen de las células eucarióticas por la ausencia de esteroides.

##### Función.

Las principales funciones de la membrana citoplásmica son: 1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos; 2) transporte de electrones y fosforilación oxidativa, en especies aerobias; 3) excreción de exoenzimas hidrolíticas; 4) portar a las enzimas y las moléculas transportadoras que intervienen en la biosíntesis de DNA, polímeros de la pared celular y lípidos de membrana, y 5) porta a los receptores de membrana y otras proteínas de los sistemas quimiotácticos y otros de transducción sensorial.

#### 4.33. PARED CELULAR.

Las capas de la envoltura celular que se ubican entre la membrana citoplásmica y la cápsula se conocen colectivamente como la "pared celular". En las bacterias grampositivas la pared celular está constituida principalmente por peptidoglucano y ácido teicoico; en las gramnegativas, la pared celular incluye al péptidoglucano y a la membrana exterior.

Las bacterias se clasifican como grampositivas o gramnegativas según su respuesta a la técnica de tinción de Gram. Este procedimiento, denominado así por el histólogo Christian Gram, quien desarrolló este procedimiento diferencial de tinción en un intento para teñir bacterias en tejidos infectados. Las células se tiñen primero con cristal violeta y yodo, y luego se lavan con acetona o alcohol. La última etapa decolorará a una bacteria gramnegativa, pero no a las bacterias grampositivas.

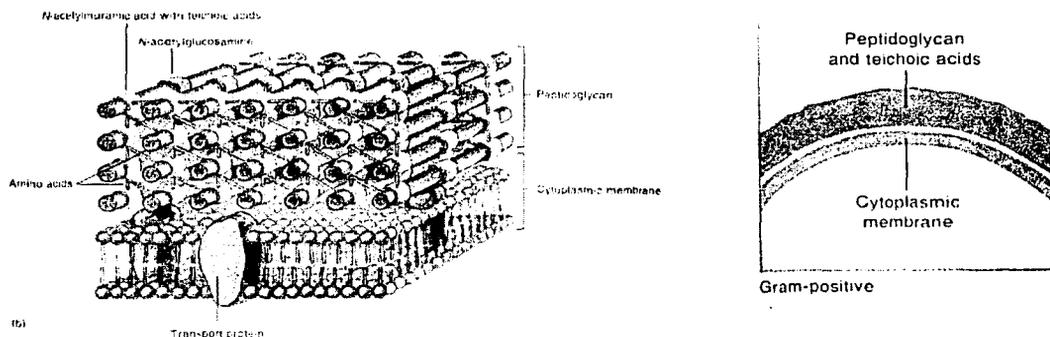
La diferencia entre las bacterias gramnegativas y las grampositivas reside en la pared celular; las grampositivas pueden decolorarse con la adición de acetona o alcohol si se les quita la pared celular antes de la tinción, pero antes del paso de lavado. Además de la protección osmótica que proporciona, la pared celular desempeña una función esencial en la división celular funcionando como un primordio para su propia biosíntesis. Varias capas de la pared son los sitios de importantes determinantes antigénicos de la pared celular, y un componente, el lipopolisacárido de las paredes celulares gramnegativas, ocasiona la actividad inespecífica de endotoxina de la bacteria gramnegativa.<sup>6,7,8,9,10</sup>

##### Capa de péptidoglucano

Éste es un polímero complejo que consiste para fines descriptivos de tres partes: compuesto de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico alternantes, un conjunto de cadenas laterales tetrapeptídicas idénticas, fijadas al ácido N-acetilmurámico y un conjunto de puentes peptídicos transversos idénticos

#### 4.34. COMPONENTES ESPECIALES DE LAS PAREDES CELULARES GRAMPOSITIVAS.

La envoltura celular de las células grampositivas es relativamente sencilla; está constituida por 2 a 3 membranas; la membrana citoplasmática, una capa de péptidoglucano gruesa, y en algunas bacterias una capa externa llamada cápsula. La mayor parte de las paredes celulares de las bacterias grampositivas contienen considerables cantidades de ácidos teicoico y teicurónico. Figura 1.26.



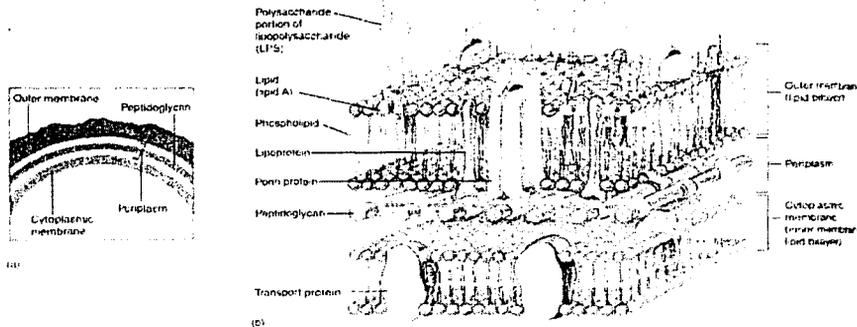
**Fig. 1.26 Componentes especiales de las paredes celulares grampositivas**  
Microbiology, a human perspective, Nester.

**Ácidos teicoico y teicurónico:** Éstos son polímeros hidrosolubles que contienen ribitol o residuos de glicerol unidos por medio de enlaces fosfodiéster, y que tienen uno o más aminoácidos o sustitutos del azúcar. Hay dos tipos de ácidos teicoicos: el ácido teicoico de la pared, unido de manera covalente al péptidoglucano y el ácido teicoico de la membrana (ácido lipoteicoico).

Los ácidos teicurónicos son polímeros semejantes, pero en las unidades repetidas hay carbohidratos con radicales ácidos (como el ácido N-acetilmanosurónico o el o-glucosurónico) en lugar de ácidos fosfóricos. Estos compuestos se sintetizan en lugar de los ácidos teicoicos cuando la existencia de fosfatos es limitada.<sup>6,7,8,9,10</sup>

#### 4.35. COMPONENTES ESPECIALES DE LAS PAREDES CELULARES DE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS.

Las paredes celulares de las bacterias gramnegativas contienen tres componentes que yacen exteriores a la capa de péptidoglucano: lipoproteína, membrana externa y lipopolisacárido. Figura 1.27.



**Fig. 1.27. Componentes especiales de las paredes celulares de bacterias gramnegativas** Microbiology, a human perspective, Nester.

**Lipoproteína:** Las moléculas de una lipoproteína sirven para entrecruzar la membrana exterior y las capas de péptidoglucano. Su función consiste en estabilizar la membrana exterior y fijarla en la capa de péptidoglucano.

**Membrana externa:** La membrana externa es una estructura de dos capas; su hoja interna semeja en composición a la de la membrana citoplásmica, mientras que los fosfolípidos de la hoja externa son sustituidos por moléculas de lipopolisacárido (LPS). Como resultado, las hojas de esta membrana son asimétricas.

La capacidad de la membrana externa para excluir moléculas hidrófobas constituye una característica poco común entre las membranas biológicas, y actúa protegiendo a la célula (en el caso de las bacterias entéricas) de las sales biliares.

Tiene conductos especiales, constituidos por moléculas de proteína denominadas porinas, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrófilos de bajo peso molecular como azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membrana externa de manera relativamente lenta, lo cual explica la resistencia relativamente alta a los antibióticos de las bacterias gramnegativas.

**4.36. LIPOPOLISACÁRIDOS (LPS):** Los lipopolisacáridos de las paredes celulares de las bacterias gramnegativas consisten en un lípido complejo denominado lípido A, al cual se le fija un polisacárido constituido por un centro y una serie terminal de unidades repetidas.

El lipopolisacárido (LPS) que es extremadamente tóxico para los animales se ha denominado la endotoxina de las bacterias gramnegativas debido a que está unido firmemente a la superficie celular y sólo es liberado cuando las células son lisadas. Cuando el LPS se disocia en el lípido A y polisacárido, toda la toxicidad está ligada con el lípido A. Por otra parte, el polisacárido representa un antígeno principal de superficie de la célula bacteriana; El denominado antígeno O.

El LPS está fijado a la membrana externa mediante enlaces hidrófobos. Es sintetizado sobre la membrana citoplásmica y es transportado a "su posición externa final. Se requiere la presencia de LPS para que numerosas proteínas de la membrana externa efectúen su función.

No todas las bacterias gramnegativas tienen membranas externas de LPS compuestas por unidades de oligosacáridos repetidos.

**Espacio periplasmático:**

El espacio entre la membrana interna y la externa, llamado espacio periplasmático, contiene una capa de mureína y una solución de proteína similar a un gel.

Las proteínas periplasmáticas incluyen proteínas de fijación para sustratos específicos (por ejemplo, aminoácidos, azúcares, vitaminas e iones), enzimas hidrolíticas (por ejemplo, fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa) que rompen sustratos no transportables en transportables, y enzimas destoxicantes (por ejemplo,  $\beta$ lactamasa y amino- glucósido fosforilasa) que inactivan a ciertos antibióticos.

**4.37. ESTRUCTURAS CITOPLÁSMICAS**

Las células procarióticas carecen de plástidos autónomos, como mitocondria y cloroplastos; en su lugar, las enzimas de transporte electrónico están situadas en la membrana citoplásmica. Los pigmentos fotosintéticos (carotenoides, bacterioclorofila) de las bacterias fotosintéticas se encuentran en arreglos especializados de la membrana que pueden tener un aspecto de vesículas estéricas o de capas aplanadas como láminas situadas por debajo de la membrana celular.

Las bacterias frecuentemente almacenan materiales de reserva bajo la forma de gránulos insolubles, que están depositados como polímeros neutros, osmóticamente inertes. Los gránulos se usan como fuentes de carbono cuando se restablece la síntesis de proteínas y de ácido nucleico.

**4.38. NUCLEOIDE**

Equivalente al núcleo eucariótico, puede observarse mediante microscopio de luz en material teñido. Es Feulgen positivo, indicando la presencia de DNA. Existen dos formas de cromosoma: circular y lineal.

#### 4..39. FLAGELOS.

Los flagelos bacterianos son apéndices filiformes compuestos en su totalidad por proteína, miden de 12 a 30 nm de diámetro. Son los órganos de la locomoción para las formas que los poseen. Se conocen tres tipos de ordenamientos: monotrico (flagelo polar simple), lofotrico (flagelos polares múltiples), peritricos (flagelos distribuidos en la totalidad de la célula).

Un flagelo bacteriano está constituido por varios millares de moléculas de una subunidad proteínica llamada flagelina. Son altamente antigénicas (**antígenos H**), y algunas de las respuestas inmunitarias a la infección están dirigidas contra estas proteínas. El flagelo está fijo al cuerpo celular bacteriano por medio de una estructura compleja constituida por un gancho y un cuerpo basal. El gancho es una estructura curva corta que parece actuar como articulación universal, entre el motor en la estructura basal y el flagelo. El cuerpo basal porta una serie de anillos: un par en las bacterias grampositivas y dos pares en las gramnegativas. Figura 1.28.<sup>8,7,8,9,10</sup>

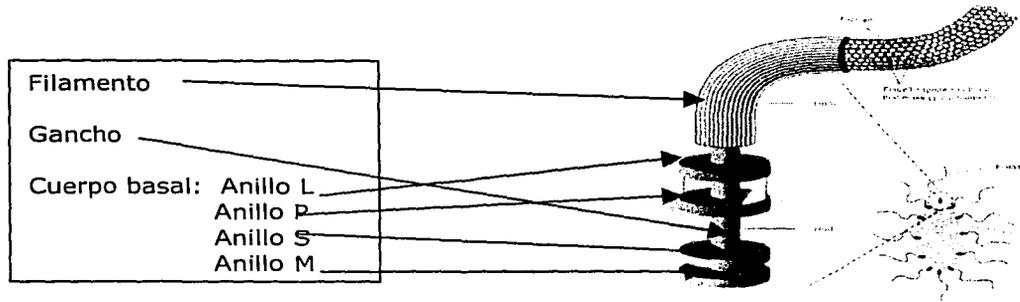


Fig. 1.28. Esquema de un flagelo. Microbiology, a human perspective, Nester

#### 4.40. FIMBRIAS.

Muchas bacterias gramnegativas poseen apéndice: rígidos en la superficie denominados **fimbrias** (pili) Son más cortas y más delgadas que los flagelos; están constituidas por subunidades proteínicas: estructuradas llamadas **pilinas**. Pueden diferenciarse dos clases, las fimbrias ordinarias que intervienen en la adherencia de las bacterias simbióticas a las células del huésped, y las fimbrias sexuales que unen a las células donadora y aceptora en la conjugación bacteriana

La virulencia de ciertas bacterias patógenas no sólo depende de la producción de toxinas, sino también de los "antígenos de colonización", que en la actualidad se han reconocido como fimbrias ordinarias que dan a las células propiedades adherentes. Figura1.29.



Fig. 1.29. Fimbrias. Microbiology, a human perspective, Nester et al.

#### 4.41. *Actinomyces naeslundii*

*A. naeslundii* es una bacteria filamentososa grampositiva la cual coloniza preferentemente lengua y otras superficies mucosas, puede colonizar la cavidad oral previa a la erupción dental, induce enfermedad periodontal así como caries radicular.

La adherencia a células mucosas y estreptococos orales se da vía fimbria tipo 2 relacionada específicamente con lecitina para  $\beta$ -galactósidos y galactosamina, y se ha asociado en algunos casos de actinomycosis.

Las diferencias en modelos de la colonización reflejan las habilidades relativas de unión a receptores diferentes en las diferentes superficies de la boca.

*A. viscosus* y *A. Naeslundii* poseen un apéndice largo llamado fimbria, el cual contiene algunos de los antígenos que diferencian las dos especies.

Les ayuda este apéndice a *A. viscosus* y a *A. naeslundii* a unirse a las superficies del huésped y a otras bacterias en la placa dental. Aunque se han descrito dos tipos morfológicamente e inmunológicamente similares de fimbrias.

Tipo 1 está involucrado en la adhesión a la biopelícula que cubre los dientes, específicamente a las proteínas ricas en prolina y a la estaterina.

Tipo 2 funciona en las interacciones de *Actinomyces* con el epitelio del huésped y las membranas celulares de los glóbulos rojos de la sangre.

Las fimbrias tipo 2 tienen una adhesina que las permite unirse específicamente a oligosacáridos que terminan en uniones  $\beta$ -galactósidas o N-acetilgalactosamina.

Los galactósidos designado la membrana como glucoproteínas o glucolípidos están a menudo en una posición penúltima en el ácido sialico. *A. naeslundii* y *A. viscosus* pueden promover su propia adhesión pegándose el ácido del sialico, mientras exponen los galactósidos.

Existen dos genoespecies de *A. naeslundii*, genoespecie 1 y genoespecie 2, basándose en pruebas de aglutinación mediada por anticuerpos para la identificación intergenérica subgrupos de *A. n.*

*A. naeslundii* y *A. viscosus* producen neuramidasa lo cual las hace capaces de generar criptotipos que ayudan a la unión a las superficies de los tejidos.

#### **4.42. LA NATURALEZA DE LA VIRULENCIA BACTERIANA**

Un microorganismo patógeno es capaz de producir enfermedad en un huésped susceptible. Algunas bacterias son extremadamente patógenas como por ejemplo *Treponema pallidum* y *Vibrio cholerae*. Cuando una bacteria produce enfermedad se dice que es virulenta .

La virulencia es el producto de variables que interactúan y que involucran tanto al huésped como a la bacteria. Un factor de virulencia es la propiedad o característica de un microorganismo que le permite causar enfermedad.

La suma total de los factores de virulencia de una bacteria patógena incluyendo los mecanismos por los cuales la bacteria evade los mecanismos de defensa del huésped, son lo que permiten que se establezca una infección y daño a las células del huésped.

La infección es definida como una invasión y colonización del huésped por microorganismos patógenos o por sus productos, resultando en enfermedad del huésped.

Una bacteria puede establecer una infección por dos mecanismos:

- 1) colonización e invasión de los tejidos del huésped, y
- 2) la producción de toxinas que pueden diseminarse y producir efectos citotóxicos en tejidos distantes del sitio inicial de infección.

Para que ocurra una infección el agente infeccioso debe tener la capacidad de:

- 1) Tener acceso a los tejidos del huésped
- 2) Reproducirse sobre o dentro del tejido del huésped
- 3) Resistir los mecanismos de defensa del huésped
- 4) Causar daño en los tejidos del huésped.

#### 4.43. ADHERENCIA BACTERIANA

Para que una bacteria cause enfermedad, primero debe introducirse y establecerse por si mismas en el tejido del huésped. El mecanismo inicial es la adherencia a los tejidos del huésped.

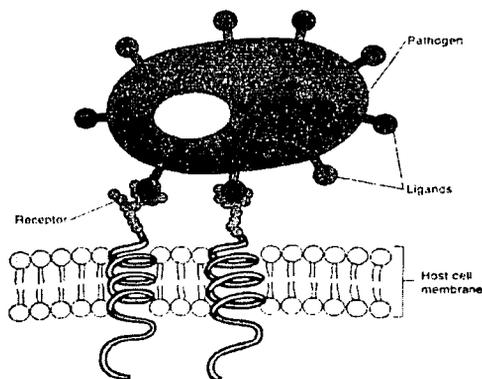
En la inmensa mayoría de las enfermedades, un individuo comienza a ser infectado por la colonización de las superficies mucosas del tracto respiratorio, tracto intestinal y o genitourinario.

Debido a que las secreciones incluyendo la saliva, la acción de los cilios, peristaltismo, descamación, excreciones, toser, estornudar, etc; remueven bacterias sueltas, adherirse a las células del huésped es un requisito para todos los patógenos de las superficies mucosas, incluyendo la cavidad oral. Está estimado que cada persona produce aproximadamente un litro de saliva al día.<sup>13, 14, 15, 16.</sup>

El requisito de que la adherencia bacteriana a los tejidos del huésped previo a la infección esta basada en las siguientes evidencias:

- Experimentos *in vitro* han indicado la propensión de ciertas bacterias de infectar tejidos específicos que se compara con la habilidad de estas bacterias de adherirse a estos tejidos. No se ha demostrado una alta incidencia de infección por patógenos específicos que esté asociada con una pobre adherencia por estos patógenos en el tejido *in vivo*.
- Por ejemplo, muchas especies de estreptococos colonizan la cavidad oral pero con predilección por diferentes sitios. *S. salivarius* se encuentra preferentemente en el dorso de la lengua y sobre la mucosa bucal, mientras que *S. mutans* y *S. mitis* se encuentran abundantemente en la placa dental, pero en bajas concentraciones en la superficie de la mucosa. *In vitro*, se encontró que estas especies se adhieren a células de tejidos del mismo tipo de tejido que coloniza pero no se adhieren a células de otra superficie dental.
- Se encontró que las variantes que reducen la capacidad de adherencia *in vitro* también disminuyen la infectividad *in vivo*. Por ejemplo ciertos tipos de colonias de *Neisseria gonorrhoeae* que tienen una capacidad limitada de adherirse a las células epiteliales genitales eran incapaces de causar infección a humanos *in vivo*.
- La capacidad de adherencia bacteriana a células epiteliales de individuos propensos a ciertas infecciones bacterianas es en algunas ocasiones más elevada que en los tejidos de individuos no infectados. Por ejemplo en el caso de *E. coli* se adhiere con facilidad a las células epiteliales del tracto genitourinario de mujeres que tienen infecciones recurrentes en el tracto genitourinario que en el tracto genitourinario de mujeres normales.<sup>(7)</sup>

La adherencia bacteriana esta mediada por estructuras que se encuentran en la superficie de las bacterias llamadas *adhesinas* , que reconocen receptores específicos en la superficie de la célula del huésped. La distribución de los receptores en la célula huésped para ciertas adhesinas bacterianas determina el tejido y el tropismo o especificidad bacteriana. Figura 1.30



**Fig. 1.30 . Esquema de adherencia bacteriana .Microbiology a human perspective. Nester Roberts. Pearsall second edition. (6)**

Debido a que la superficies del tejido y las bacterias están cargadas negativamente, las bacterias deben superar esta repulsión por medio de cargas y localización de hidrofobicidad. Con esta finalidad las adhesinas bacterianas se localizan comúnmente sobre la superficie de los apéndices como lo son las fimbrias.

Se sabe de muchos mecanismos de adherencia de bacterias patógenas, por ejemplo la cepa T14V de *Actinomyces viscosus* el agente etiológico de la caries radicular en ratones y muy probablemente en humanos, sintetiza dos tipos antigénicamente diferentes de fimbrias, designados como fimbria tipo1 y tipo2. Las fimbrias tipo 2 media la adherencia sensible a lactosa hacia en especies como estreptococos y eritrocitos tratados con neuraminidasas.

Las fimbrias tipo1 median la absorción de la cepa T14V a la saliva tratada con hidroxiapatita(SHA), una superficie que imita los dientes bañados con saliva. Esta absorción no es inhibida por lactosa. Los receptores sobre SHA para la fimbria tipo 1 de *Actinomyces viscosus* es una clase específica de proteínas salivales, proteínas ricas en prolina (PRPs). Los componentes salivales responsables de promover la adherencia fueron analizados por electroforesis, descubriéndose una familia de proteínas ricas en prolina (PRPs), y un segundo grupo contenía proteínas estaterinas.

Estas proteínas PRPs y estaterinas son las únicas fosfoproteínas características presentes en la saliva. Las PRPs son un grupo de proteínas que poseen ciertas características. Tres grandes proteínas designadas como PRP-1, PRP-2, y PIF-lentas fueron aisladas y se encontró que están formadas por 150 aminoácidos, la diferencia entre estas tres proteínas se encuentra en el aminoácido 4 y en el 50.

PIF lentas tiene en el residuo 4 aspargina y aspartato en el residuo 50, mientras que PRP-1 son aspartato y aspargina respectivamente, en tanto que PRP-2 posee en ambos residuos aspartato. Las PRPs comprenden del 30 a 40 % de las proteínas salivales.<sup>17, 18, 19, 20, 21</sup>

Otras PRP de menor tamaño ( sólo tiene 106 residuos) que son PRF-rápidas, PRP-3 y PRP-4 al aislarlas se encontró que se encuentran ordenadas de manera igual a las tres anteriores con sus modificaciones en los residuos 40 y 50 .Se cree que estas proteínas derivan de una proteólisis post-transicional.<sup>(15,16,17,18,19)</sup>

Las PRPs son altamente asimétricas con respecto a su carga, poseen de 13 a 15 aminoácidos cargados negativamente dentro de los primeros 30 residuos y dos residuos con fosfoserina. En contraste el segmento amino terminal posee muchos residuos de aminoácidos básicos.

Las estaterinas tienen una marcada carga asimétrica y dos residuos de fosfoserinas una de ellas ubicada al final de la molécula.

Muchos estudios han establecido que las PRP-s y las estaterinas se unen con gran afinidad a las superficies de hidroxiapatita por medio de sus segmentos aminoterminal, pero no se ha encontrado que este segmento promueva la adherencia bacteriana.

Es interesante la relación estructural entre la PRP-1 y la cadena alfa del colágeno en el segmento carboxilo terminal, considerando que la matriz de la dentina y el cemento son ricas en colágeno, y que las fibras de colágeno son los elementos estructurales más abundantes del tejido conectivo, incluyendo el ligamento periodontal y la membrana basal. Considerando que la destrucción del colágeno es un rasgo característico de la enfermedad periodontal en el avance de la caries dental.

*Porphyromonas gingivalis* algunos *Streptococcus mutans* como *S cricetus* y *S rattus* se unen de manera ávida a sustratos colagenosos. Es posible que esta afinidad por los elementos colagenosos participe facilitándoles la invasión a *Porphyromonas gingivalis* a través de la membrana basal dentro del tejido conectivo gingival.

De manera similar la afinidad de varias cepas cariogénicas de *Streptococcus* por el colágeno puede tener un rol en el proceso cariioso al facilitar la penetración bacteriana a las células del cemento y dentina previa desmineralización del esmalte.

Desde que estas proteínas son componentes de la saliva tienen predilección por absorberse en la superficie de los dientes, es por esto que se piensa que la fimbria tipo 1 es la principal adhesina involucrada en la adherencia de *A viscosus* en la superficie de los dientes *in vivo*.

El grupo A de estreptococos (*S pyogenes*, el agente causal de faringitis, fiebre reumática y glomerulonefritis) se adhiere a las células epiteliales por medio de la proteína M que esta presente en el complejo lipoteicoico (LTA) que forma parte de la superficie del estreptococo.

Las moléculas del LTA consisten en fosfato de glicerol que se pegan a la membrana citoplasmática por medio de uniones covalentes a la membrana de glucolípidos.

El receptor de las células epiteliales del huésped para las adhesinas del LTA parece ser la fibronectina que es una proteína de membrana. Al purificar el LTA y anticuerpos para LTA se bloquea la adherencia de estreptococos a las membranas celulares.<sup>17, 18, 19, 20, 21</sup>

La fimbria tipo 1 es una de muchas adhesinas que median la adherencia de *E coli* a las células epiteliales del huésped. Desde que la adherencia de la fimbrias tipo 1 a las células epiteliales puede ser inhibida en presencia de mannososa, esto parece indicar que el receptor de las células epiteliales contiene mannososa, y desde que se trataron las células con concanavalina A, una lecitina de una planta que se une a residuos de mannososa, lo que previene la adherencia de *E coli* a las células epiteliales.

Una vez que la bacteria a colonizado el tejido blanco, las fimbrias pueden ser perjudiciales para la bacteria ya que su presencia incrementa el riesgo de ser fagocitadas. Por consecuencia, después de la primera colonización la bacteria sufre un cambio fenotípico y no vuelve a sintetizar fimbrias. Estos cambios parecen ser el caso de *E coli*.

Mientras que *E coli* infecta el tracto urinario bajo contiene elevados niveles de fimbrias tipo 1. De cualquier manera, una vez que la infección progresa a los riñones, las células bacterianas contiene pocos o ninguna fimbria.

Parece obvio que la adherencia bacteriana a los tejidos del huésped promueve la colonización y facilita la penetración a los tejidos blancos por bacterias virulentas.

Esta adherencia de la bacteria con el huésped permite una asociación entre la bacteria y el tejido lo que facilita la actividad de las toxinas al ser liberadas directamente al tejido blanco. Es el caso de *Vibrio cholerae* cuya adherencia a las células de la mucosa intestinal facilita la liberación local de la toxina cólera a las células del intestino.

Otro ejemplo es el caso de *S mutans* que produce ácido láctico como producto de su metabolismo y cuyos suficientes niveles de éste ácido causan desmineralización del esmalte apareciendo de este modo clínicamente la caries. Si los estreptococos no se encontraran adheridos o cerca de las superficies dentales, el ácido láctico sería rápidamente diluido y neutralizado por la saliva.<sup>17, 18, 19</sup>

Los progresos en la caracterización de receptores que promueven la unión de las bacterias a los dientes y a las células epiteliales de la mucosa oral ha sugerido que segmentos moleculares ocultos pueden estar involucrados.

Como los receptores crípticos, refiriéndonos a ellos como criptitopes Gr. *Kryptos* = oculto GR. *Topo* = sitio, <sup>15,116,17,18,19</sup> los cuales pueden ser expuestos de diferentes maneras. Segmentos ocultos de proteínas salivares ricas en prolina evidentemente expuestas cuando experimentan o sufren un cambio conformacional cuando son absorbidas por la apatita.

Adhesinas de *A. viscosus* y otras bacterias de la placa dental son capaces de unirse a estos criptitopes, y esto les facilita a estos organismos la unión a las proteínas ricas en prolina de la superficie de apatita y la interacción de éstas proteínas en solución. Los criptitopes pueden ser expuestos como resultado de una acción enzimática. Muchas bacterias incluyendo *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*, y *Porphyromonas intermedias*, poseen adhesinas que se unen a receptores de galactosa los cuales pueden ser expuestos posteriores a un tratamiento con neuraminidasas.

De manera similar la adhesión de algunas bacterias gramnegativo como *Porphyromonas gingivalis*, se facilita cuando las superficies de los tejidos es tratada con ciertas proteasas o enzimas lisosomales derivadas de leucocitos polimorfonucleares humanos. <sup>20,21</sup>

#### 4.44.FACTORES DE VIRULENCIA

Durante el proceso de infección las bacterias pueden causar daño no solo por la adherencia a los tejidos y por los mecanismos de defensa del huésped, sino que además pueden causar daño directamente al tejido por la producción de toxinas e indirectamente por la inducción de una respuesta inmunopatológica. Las bacterias patógenas tienen a menudo una variedad de factores que contribuyen a causar la enfermedad o, es decir, para ser virulento. Estas capacidades son conocidos como factores de virulencia.

#### Cuadro II. Factores importantes de virulencia de algunas bacterias

<p>Pili u otros ligandos que, facilitan el acoplamiento de la bacteria a la célula huésped.</p> <p>Mecanismo de reordenamiento trigger de actina en células no fagocíticas, que causa la endocitosis de la bacteria.</p> <p>Cápsulas, proteína A y enzimas que interfieren con la fagocitosis.</p> <p>Exotoxinas</p> <p>Endotoxinas</p> <p>Enzimas con efectos tóxicos</p> <p>Super antígenos</p> <p>Proteasas que son específicas para bloquear la secreción de IgA</p> <p>Habilidad de los antígenos para evadir la respuesta de anticuerpos del huésped</p>
--

Los pilis o fimbrias normalmente funcionan como adhesinas. Muchas bacterias patogénicas poseen más de un tipo de fimbrias y por lo tanto éstas más de un tipo de adhesinas. Los pilis de bacterias gram- negativas se adhieren a células vecinas facilitando la transferencia de DNA de célula a célula. Este mecanismo de intercambio de DNA media la transferencia de genes para adquirir resistencia a antibióticos así como de genes de virulencia (incluyendo genes que codifican para varios tipos de fimbrias) entre células bacterianas.<sup>20,21</sup>

*S mutans* requiere de su cápsula tanto para la adherencia como para ser virulento, pero la cápsula que funciona como adhesina es relativamente rara para las bacterias patogénica. Evidencias recientes sugieren que la cápsula de algunos patógenos como *A viscosus*, *Neisseria meningitidis* y *S pneumoniae* pueda reducir realmente la adhesión.

De cualquier modo el efecto global de la presencia del polisacárido extracelular es un aumento sustancial en la virulencia. Esto es principalmente debido a las propiedades antifagocíticas de las cápsulas.

Muchos patógenos que poseen cápsulas disminuyen la opsonización y como consecuencia tienen propiedades antifagocíticas.

En infecciones mixtas la presencia de cápsula de una de las especies bacterianas puede proteger a sus bacterias vecinas de ser fagocitadas. Los polisacáridos de las cápsulas pueden además impedir también los efectos de antibióticos *in vivo* impidiendo al antibiótico entrar en el contacto directo con la membrana exterior bacteriana o pared de la célula. Los lipopolisacáridos (endotoxinas o LPS) proveen un amplio espectro de propiedades fisiopatológicas, y dependiendo de la cantidad de exposición del huésped, puede producirse colapso cardiovascular o la muerte dentro de una hora o dos.

Resultados experimentales indican que un shock hemorrágico irreversible es el resultado principalmente de la adsorción de LPS por el intestino. La mayoría de las propiedades de las endotoxinas biológicas son directamente atribuibles a lípido A, sin embargo, la mitad del polisacárido confiere la resistencia a los neutrófilos, es el antígeno más importante para muchas especies bacterianas, y también tiene las funciones para neutralizar los componentes del suero.

El papel específico de el LPS en muchas enfermedades crónicas no esta muy bien definido, pero muchas características de la fiebre tifoidea y septicemia meningococcica son comparables con los efectos conocidos del LPS.

Las endotoxinas no son neutralizadas completamente por los anticuerpos y son estables al calor aún si son autoclaveados. Es por ello que aparatos médicos, especialmente los que son usados para administraciones intravenosas, que pudieran estar contaminados por organismos gram negativos si no están esterilizados por autoclave no deben ser usados. Existe evidencia de que el LPS puede contribuir en el daño a tejidos, especialmente en la resorción ósea en las enfermedades periodontales.

Muchos LPS de bacterias periodontopatógenas han sido purificados y sus efectos biológicos han sido estudiados.

La composición química de el LPS de *Bacteroides sp*, *Porphyromonas sp*, *Eikenella corrodens* y *Capnocytophaga* difieren del clásico LPS de *E coli* y *Salmonella typhimurium*, mientras que *A actinomycetemcomitans* estimula la resorción ósea en ensayos *in vitro*.

El mecanismo por el cuál el LPS produce resorción ósea es desconocido, pero la captación de Calcio se ve inhibida. Por consiguiente la resorción ósea puede ser debida por la estimulación de la actividad osteoclática por el LPS. Además de sus efectos en el hueso, estos mismos LPS son también mitogénicos para las células de B y El LPS de *A actinomycetemcomitans* agrega plaquetas y es tóxico a los macrófagos. Muchas bacterias patógenas incluyendo a aquellas que se cree son periodontopatógenas, producen abundantes cantidades de abultamientos membranales, lo cuál puede ser un mecanismo de entrega de membrana de LPS limitado a los sitios distantes en la ausencia de lisis de las bacterias.

Estos abultamientos pueden tener implicaciones importantes en las enfermedades periodontales, especialmente desde que ha sido demostrado que el LPS puede encontrarse en los tejidos periodontales en ausencia de penetración por las bacterias.

Además de mantener la forma de células bacterianas y servir como una barrera proteccionista, los péptidoglucanos pueden tener propiedades asociadas a la virulencia. Por ejemplo, activa el complemento, tiene actividad pirogénica, interfiere con la fagocitosis, y puede contribuir para dañar las trompas de Falopio durante las infecciones de gonococos. Los péptidoglucanos de bacterias orales han demostrado ser mitogénicos y que estimulan la pérdida ósea en ensayos *in vitro*.

Al purificar muestras de péptidoglucano de bacterias orales como *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Eikenella* y *Actinomyces* mostraron ser tóxicos hacia los macrófagos en altas concentraciones (mayores de 50 microgramos/mililitro), y a concentraciones mas bajas inhibían significativamente la actividad lisosomal.

Tanto las bacteria gram-positivo como las gram-negativo producen proteínas capaces de introducirse por difusión, o exotoxinas que dañan directamente a los tejidos. Estas toxinas son lábiles al calor, tienen efectos necróticos directos sobre los tejidos.

Las exotoxinas son secretadas activamente por el organismo o filtradas por la pared celular bacteriana. La mayoría de las exotoxinas se vuelven inactivas cuando se someten a ebullición a 60 °C a 100 ° C durante 30 minutos, una excepción notable es la toxina del staphylococo que se encuentra en la comida. Generalmente, las exotoxinas son llevadas por el torrente sanguíneo desde el punto de infección a las partes distantes del cuerpo donde ellos pueden causar los efectos dañinos. En el caso de toxina de botulismo la ingestion de cantidades diminutas de la toxina en la comida es suficiente para causar la parálisis que es característica de la enfermedad. En este caso, la colonización bacteriana e infección no son los requisitos previos necesarios.

Algunas exotoxinas se llaman A-B toxinas porque tienen dos partes, A y B. La porción A es una enzima que constituye la parte tóxica, y la porción B se une a los receptores de la célula huésped, permitiendo al enzimas tóxico entrar en la célula. Ejemplos de estas toxinas A-B son las enfermedades como difteria, cólera, tétanos, y disentería por *Shigella*. Una porción de estas toxinas son enzimas que remueven el grupo ADP-ribose de la coenzima NAD y lo une a alguna proteína de la célula del huésped, inhibiendo la función de esa proteína. Por ejemplo, la toxina de cólera actúa en una proteína que normalmente regula los niveles de AMP cíclico en la célula, causando la pérdida de iones y la pérdida de líquidos de manera desenfrenada en el intestino y resultando en una diarrea acuosa severa que a menudo es fatal. <sup>(6)</sup>

Las acciones farmacológicas de la mayoría de las exotoxinas requiere varios días de actividad. Muchas exotoxinas son los plásmidos codificados, y algunos han sido clonado. Pocas exotoxinas de la cavidad oral han sido aisladas e identificadas. *Actinomyces comitans* produce una leucotoxina que es lábil al calor, destruye LPMNs humanos y de mono que se encuentran en la sangre y fluido crevicular. La actividad de esta leucotoxina no requiere de que la bacteria sea fagocitada, pero si requiere de la adherencia de la célula blanco como paso inicial y prerrequisito en la reacción citotóxica. La actividad de ésta leucotoxina puede ser inhibida por medio del suero de pacientes con periodontitis juvenil. Muchas especies de bacterias patógenas sintetizan una variedad de enzimas que emplean cuando se confrontan con las células del huésped. Bacterias gram-negativo contiene enzimas proteolíticas e hidrolíticas en su espacio periplasmático.

Adicionalmente tanto las bacterias gram- negativas como las gram positivas producen enzimas extracelulares líticas que incrementan la virulencia de algunas cepas patogénicas. El funcionamiento de éstas enzimas consiste en proveer nutrientes para el crecimiento bacteriano y contribuyen en la invasión.

Por ejemplo *Porphyromona gingivalis* produce una colagenasa así como niveles altos de peptidasas que son activas cuando están en contacto con péptidos que tienen prolina y glicina, péptidos que son encontrados en componentes del colágeno del ligamento peridontal.

Especies de *Capnocytophaga* producen peptidasa y fosfatasas alcalinas que degradan proteínas del hueso.

Muchas bacterias patógenicas producen enzimas que degradan proteínas del suero humano. IgG, IgM, C3 y C5 son degradadas por cepas de *P. gingivalis*, mientras que cepas de *Prevotella intermedia* degrada IgG y C3. La degradación de componentes serosos puede causar reducción en la fagocitosis y por consecuencia en la actividad bactericida de los PMNs.

La proteasa IgA es un factor de virulencia muy importante en algunas infecciones bacterianas de membranas mucosas, particularmente en el caso de gonorrea. Desde que se sabe que IgA es el anticuerpo más importante presente en secreciones mucosas y es un potente mecanismo de defensa del huésped que previene la adherencia bacteriana a las células del huésped, no sorprende que algunos patógenos produzcan IgA proteasas.

Entre los microorganismos orales que producen esta enzima se encuentran los *Streptococos* y especies asociadas a enfermedad periodontal destructiva como lo son especies de *Bacteroides* y *Capnocytophaga*.

Las IgA proteasas de *Porphyromonas* destruyen es sus totalidad la molécula de IgA, a diferencia de otras IgA proteasas solo se pegan a un sitio de la molécula.

#### **4.45. PATÓGENOS INTRACELULARES Y EL CITOESQUELETO DE ACTINA.**

Muchos patógenos explotan el citoesqueleto durante la infección, y esta puede ser durante su entrada o internalización a las células de mamíferos después del encuentro con los receptores produciéndose una serie de eventos que culminan en la internalización de los microorganismos.

El reordenamiento de actina es un hecho común en la mayoría de los eventos de internalización como ejemplos tenemos a *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Neisseria* tanto las bacterias y otros factores celulares están involucrados en la invasión son factores específicos de cada bacteria.

Otro paso durante el cual los patógenos se enganchan al citoesqueleto de actina es el que se lleva a cabo dentro del citosol, ya que existen bacterias y virus capaces de moverse dentro de la célula. El movimiento se acopla al proceso de polimerización de actina polarizado, con la formación de filamentos de actina.

El citoesqueleto es una dinámica red constituida por proteínas estructurales intracelulares responsables de dar forma, movilidad, migración, polaridad y mantener los contactos intracelulares involucrados en la arquitectura tisular.

Los diferentes roles que juega el citoesqueleto principalmente se relacionan con el ensamblaje y desensamblaje.

La formación de bloques básicos del citoesqueleto incluyen los filamentos de actina (7nm de diámetro), los microtúbulos (25nm de diámetro) y una variedad de filamentos intermedios (10 nm de diámetro). Cada tipo de filamento está constituido por polímeros lineales con subunidades de proteínas globulares. Que son ensamblados y desensamblados dentro de una precisa regulación, en ocasiones a una velocidad asombrosa.

La alta plasticidad del citoesqueleto es a menudo explotada por los patógenos cuando entran a la célula.<sup>11,12</sup>

La actina monomérica (G actina) es una proteína globular de unos 43 kDa. Estudios *in vitro* han mostrado que los filamentos de actina (F actina) ensamblados, empiezan en un ordenamiento termodinámicamente inestable que rápidamente hace que los filamentos crezcan por adición de nuevos monómeros. El proceso de ensamblado, formación u ordenamiento es conocido como paso de nucleación el cual es un evento proporcionalmente limitado.

#### 4.46. INTERNALIZACIÓN DE BACTERIAS EN LAS CÉLULAS DE MAMÍFEROS

Muchos microorganismos patógenos tienen la capacidad de inducir su propia internalización dentro de células no fagocíticas. El proceso es similar a los fagocitos y requiere de una reorganización del citoesqueleto de actina por debajo de membrana plasmática que contacta con el patógeno.

La explotación del citoesqueleto por las bacterias patógenas durante su internalización puede ser dividida en 2 mecanismos generales de acuerdo con el tipo de cambio morfológico que ocurre en la célula del huésped. Estos mecanismos: Zipper y Trigger fueron propuestos primeros, para partículas fagocitadas. Figura 1.31

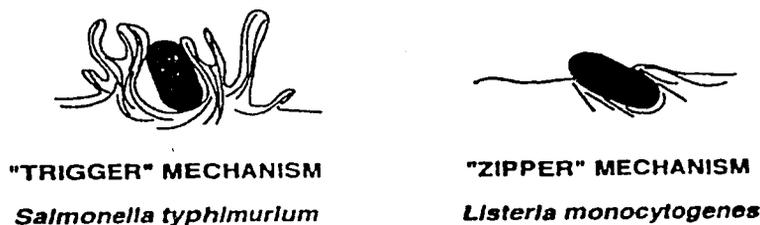


Fig 1.31. Mecanismo de fagocitosis inducida por patógenos bacterianos. *Salmonella* induce pliegues en las membranas celulares y *Listeria* se interna en forma de zipper. (Tomada de Mengaud et al 1996. E cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of listeria monocytogenes into epithelial cells. Ce1184; 923-032.)

La internalización de *Yersenia*, *Listeria* y *Neisseria* no produce un mayor reordenamiento en la superficie celular recordando el clásico modelo de fagocitosis zipper de los eritrocitos y macrófagos vía receptores Fc. Las células se comunican con su medio ambiente a través de una serie de receptores de superficie celular que reconocen y unen moléculas presentes en el medio ambiente extracelular. Toda célula responde a estímulos externos, usualmente por medio de receptores sobre la superficie externa de la célula, lo que produce cambios dentro de la célula.

Las señales extracelulares se transmiten a través de la membrana plasmática por medio de proteínas receptoras, que son instrumentos que convierten la unión del ligando extracelular en un fenómeno bioquímico intracelular. La conversión una señal extracelular a una intracelular se conoce como transducción de señales., siendo los receptores de superficie los que activan vías de señalización intracelular y así la señal es transmitida hacia el interior de la célula.

La activación de señalización intracelular se inicia por la activación de proteínas tirosin cinasas, enzimas que afectan la actividad de otras añadiendo un grupo fosfato. La fosforilación de enzimas y otras proteínas por proteínas cinasas es un mecanismo general por el cual las células regulan su actividad bioquímica ya que presentan muchas ventajas como mecanismo de control.

- Es rápido y no requiere nueva síntesis de proteínas para cambiar la actividad bioquímica de una célula.
- Se revierte fácilmente la acción por medio de proteínas fosfatasas que eliminan el grupo fosfato.
- La fosforilación de proteínas crea sitios de unión para otras proteínas. Esto no altera la actividad intrínseca de las moléculas implicadas. La fosforilación se emplea como marca, permitiendo el reclutamiento de otras proteínas que se unen a sitios fosforilados.

Las proteínas pueden fosforilarse en los siguientes tipos de aminoácidos: sobre tirosina, serina, treonina o histidina. Cada una de estas requieren una clase de proteínas cinasa para añadir el grupo fosfato, sólo los residuos tirosina y serin- treonina son relevantes en la señalización dentro del sistema inmune.

Es la adherencia bacteriana la que llega a promover además la fosforilación de proteínas de alto peso molecular, por medio de las enterotoxinas bacterianas que promueven la activación de nucleótidos de proteínas cinasas en células blanco. Además la fosforilación regula la mitosis o apoptosis celular

#### **4.47. COMPONENTES DE LAS BACTERIAS PERIODONTOPATOGENAS INDUCEN LA PRODUCCIÓN DE CITOCINAS.**

Se piensa que citocinas proinflamatorias como las interleucinas (IL)IL-1, IL-6,IL-8 y el factor de necrosis tumoral (TNF) son unos de los mayores mediadores patológicos en enfermedades inflamatorias que van desde la artritis hasta las enfermedades periodontales

Los estímulos que inducen la producción de citocinas proinflamatorias en diferentes enfermedades inflamatorias son inciertos pero en la enfermedad periodontal es obvio que el estímulo es la acumulación de bacterias en la región subgingival.<sup>20</sup>

Actualmente es aceptado que un limitado numero de especies bacterianas son los agentes etiológicos de la enfermedad inflamatoria periodontal. De cualquier manera en los últimos años han incrementado el numero de reportes concernientes a otros componentes o productos bacterianos que estimulan o inhiben citocinas relacionadas con monocitos, fibroblastos y linfocitos.<sup>(12,13)</sup>

#### 4.48. CITOCINAS Y PERIODONTITIS

El término de citocina se refiere a un largo y diverso grupo de pequeñas proteínas y glucoproteínas que tiene un inmenso rango de funciones biológicas potentes .

Se descubrieron las citocinas primero en el contexto de investigación en el mecanismo de pirogénesis e inmunología celular, la primera citocina en ser descubierta era la molécula pro-inflamatoria ahora conocida como interleucina-1.

Existe una relación compleja entre la capacidad de producir citocinas y la habilidad de producir una respuesta inflamatoria productiva, uno de los resultados es en el mantenimiento de la homeostasis y supervivencia del organismo.

El número de citocinas que se ha descubierto durante los últimos 20 años excede a las 100. Muchas interleucinas son producidas por células mesenquimatosas que estimulan muchas poblaciones celulares diferentes adicionales a los leucocitos. La mayoría del citocinas se han agrupado de acuerdo a las primeras actividades atribuidas y existen actualmente 6 grupos de citocinas: interleucinas, citocinas citotóxicas, colonias de factores estimulantes, interferones, factor de crecimiento y quimiocinas.

Aunque las citocinas pueden compartir nombres similares sus acciones pueden ser muy diferentes. Quizás una clasificación más mecánica es basada en el tipo de receptor a que los unen las citocinas.

Se han encontrado IL-1, TNF e IL-6 en el fluido crevicular gingival de pacientes con periodontitis. Dentro del rango de citocinas encontradas en el tejido gingival inflamado, se encuentran IL-4, IL-5, IFN $\gamma$  y TGF $\beta$  <sup>(19)</sup>

Cuadro III. Es obvio que LPS bacteriano es el responsable de estimular la producción de citocinas. De cualquier manera, otros componentes bacterianos pueden jugar roles mayores en la inducción de la síntesis local de citocinas. <sup>(19)</sup>

<b>Tabla III. Factores bacterianos capaces de estimular síntesis de citocinas</b>
<b>Estructuras de bacterias gram-positivas</b>
Proteína A
Ácido Lipoteicoico
Super antígenos de estafilococos
Lipoarabinomanano
<b>Estructuras de Bacterias Gram-negativas</b>
Lipopolisacárido(LPS)
Lípido A (LAP)
Porinas
<b>Otros componentes de la pared celular</b>
Proteínas de la superficie celular
Fimbrias o pilis
Lipopéptidos
Lipoproteínas
Muramil dipéptido
Péptidoglucano
Polisacáridos
<b>Otros productos o componentes bacterianos</b>
Toxinas
Proteasas
Super antígenos

En la siguiente tabla se muestran componentes bacterianos que han mostrado la capacidad de inducir la producción de una variedad de citocinas pro y anti-inflamatorias en células mamíferas o de ratón de bacterias.<sup>19,20</sup>

Tabla IV		
Estructura	Célula Blanco	Citocina
Proteína A	HPBMCs	IL-1 $\alpha$ , IL-4, IL-6, TNF $\alpha$ , IF $\gamma$
Ácido Lipoteicoico	HPBMCs	IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ ,
Lipoarabinomano	HPBMCs	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, TNF $\alpha$ ,
Proteína micobacteriana (58kDa)	HPBMCs	TNF $\alpha$ ,

Otros componentes de bacterias tanto Gram-negativas como Gram -positivas inducen la síntesis de citocinas ,tal como se muestra en los siguiente cuadros.

Tabla V		
Estructura gramnegativa	Célula Blanco	Citocinas
LAP	HPBMCs	IL-1 $\beta$ ,
Porinas	HPBMCs	IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , GM-CSF, IFN $\gamma$
Proteínas extramembranales	Macrófagos de Murinos	IL-6, TNF $\alpha$ ,
Lipoproteínas	Macrófagos de Murinos	TNF $\alpha$ ,

Estructuras gram positivo y negativo	Célula Blanco	Citocinas
Péptidoglucano	HPBMCs	IL-1 $\beta$ ,
Péptidoglucano	Macrófagos de Murinos	IL-1 $\beta$ , GM-CSF
Péptidoglucano dañado	HPBMCs	IL-1 $\beta$ , IL-6, G-CSF
Carbohidratos de la superficie celular	HPBMCs	IL-1, TNF $\alpha$ ,
Polisacárido capsular	Macrófagos	IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ,
Pili	Células epiteliaes	IL-6
Proteínas superficiales	HPBMCs	IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ,
Exotoxinas	HPBMCs	IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La etiología de la enfermedad periodontal desde el punto de vista clínico se relaciona con la presencia de placa dentobacteriana, la cuál se compone de microorganismos cuyos factores de virulencia conducen al desarrollo de la enfermedad.

La activación de señales intracelulares a partir de estos factores de virulencia lleva a entender la patología a nivel molecular, en donde la bacteria y el fibroblasto hacen que se desencadenen reacciones de fosforilación. Siendo la vía por la cuál se activan el propósito de nuestro estudio.

## 6. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

*Actinomyces naeslundii* Como agente microbiológico causal de enfermedad periodontal y caries radicular, es importante profundizar en los mecanismos moleculares que induce en los fibroblastos humanos, para explicar el origen de la enfermedad periodontal..

## 7. HIPÓTESIS

Uno de los factores de virulencia importantes en la patogénesis de las enfermedades orales se inicia por el contacto entre el microorganismo y los fibroblastos gingivales humanos. En experimentos preliminares se encontró que el *A. naeslundii* se adhiere a los fibroblastos gingivales humanos, entonces partiendo de estos resultados proponemos que la adherencia del microorganismo promueve la activación de señales intracelulares.

**7.1 HIPÓTESIS VERDADERA:** Si los fibroblastos gingivales humanos son puestos en contacto con *A naeslundii* entonces se producirá la activación de señales intracelulares vía PKC

**7.2 HIPÓTESIS NULA :** Si los fibroblastos gingivales humanos son puestos en contacto con *A naeslundii* entonces no se producirá la activación de señales intracelulares vía PKC

## 8. OBJETIVOS

Determinar si proteínas de *Actinomyces naeslundii* inducen reacciones de fosforilación que se relacionan con diferentes mecanismos de transducción de señales en las células. Caracterizar la vía de transducción involucrada en el evento de la adherencia de *Actinomyces naeslundii* en fibroblastos gingivales humanos.

## 8. MATERIAL Y MÉTODO.

<b>Material: Equipo:</b>	
Baño maría de temperatura controlada	. Riossa
Campana de Flujo Laminar	Nuaire.
Centrífuga Clínica	. Cole Palmer
Equipo de Electroforesis	Hoefffer Mighty small.
Fuente de Poder	marca Owl-scientific.
Incubadora de CO <sub>2</sub>	marca Nuaire.
Microscopio de objetivos invertidos	Olympus.

<b>REACTIVOS</b>	<b>MARCA O LABORATORIO</b>
Acido Acético Glacial	BAKER
Acrilamida	SIGMA
Agar Sangre	DIFCO
Alcohol-acetona	BAKER
Antibiótico-antimicótico	GIBCO
Suero Bovino Fetal	GIBCO
Azul de Bromofenol	SIGMA
Marcador de peso molecular	GIBCO
Bis-acrilamida	SIGMA
Cristal violeta	HARLECO
Fósforo [ <sup>32</sup> P]-PBS libre de ácido	AMERSHAM PHARMACIA BIOTECH
Metanol	BAKER
Glicina	BAKER
Infusión cerebro corazón	MERK
Medio de cultivo de Hanks	GIBCO
Suero de carnero	MICROLAB
Temed	BAKER
Trisma-base	SIGMA
Yoduro de Potasio	REASOL

## **MATERIAL:**

### **Cultivo celular**

Los fibroblastos gingivales humanos, fueron obtenidos de pacientes sanos procedentes de las clínicas de cirugía y exodoncia de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Las células se obtuvieron a partir de explantes de tejido gingival y se crecieron en un medio de cultivo Dulbecco modificado por Eagle adicionado con 10 % de suero bovino fetal, 1% de antibiótico -antimicótico en una atmósfera húmeda y en presencia de 95% de aire y 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Los fibroblastos se utilizarán en los diferentes ensayos cuando las células se encuentren en estado de semiconfluencia.

## **BACTERIA**

*Actinomyces naeslundii* ( ATCC 12104) se sembró en cajas de petri con medio de agar gelosa sangre enriquecidas con 5% de suero de caballo. Se crecieron en jarras de anaerobiosis con sistema Gaspack a 37 °C durante toda la noche.

Se realizan diferentes pruebas como control de la identificación de la bacteria como: tinción de gram, pruebas bioquímicas de fermentación de rafinosa , actividad de catalasa y oxidasa .Se realizaron por triplicado en cada ocasión que se realizó el ensayo.

## **TINCIÓN DE GRAM:**

Se fija el frotis del inóculo bacteriano y se tiñe con cristal violeta al 0.5% durante 20 segundos. Se lava con agua y se adiciona solución de yoduro de potasio al 1% durante 1 minuto. Se lava la solución de yodo con una solución de alcohol al 95% o acetona durante unos segundos se lava con agua. Se tiñe con safranina al 1% durante 30 segundos. Y se observan las muestras en microscopio con iluminación de campo claro 100x.

## **PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

### **RAFINOSA:**

Para estudiar la fermentación de rafinosa se preparó agua en presencia de peptona al 0.1%, con rojo fenol al 1% y rafinosa al 1% la solución se esterilizó y los inóculos se incubaron a 37°C y se revisaron cada 24 hrs. Como control positivo se utilizó *Escherichia coli* y como control negativo *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

### **CATALASA:**

Se emulsifica el cultivo en 0.5 ml. de una solución de Tween 80 al 1% y 0.5 ml de la muestra se incuban con 20 volúmenes de peróxido de hidrógeno. Una reacción efervescente indica la presencia de actividad de catalasa. Como control positivo se utilizó *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

## **OXIDASA:**

Se remojan pequeños fragmentos de papel filtro en una solución de tetrametil-p-fenilenediamina dihidrocloruro al 1% y sobre el papel se adiciona un inóculo de la bacteria si la reacción vira a color azul la bacteria es positiva a la actividad de este enzima. Como control positivo se utilizó *Actinobacillus actinomicetemcomitans* y como control negativo *Escherichia coli*.

## **MARCAJE METABÓLICO DE CÉLULAS CON [<sup>32</sup>P].**

Los fibroblastos gingivales humanos se crecieron hasta subconfluencia y se incubaron durante cuatro horas en medio de cultivo libre de fosfato en presencia de 50 $\mu$ Ci de [<sup>32</sup>P] a 37°C . Al término se retiró la marca no incorporada y las células se lavaron durante tres ocasiones con buffer de fosfato salino (PBS) frío. Posteriormente las células se infectaron con *Actinomyces naeslundii* a diferentes tiempos, que se indican en los pies de figura, en una concentración de 1X10<sup>8</sup> y en una relación de células por bacteria de 1:50 respectivamente. En los ensayos en los que se utilizó la inhibición de la vía de transducción, los inhibidores se incubaron junto con las células durante 4 horas del marcaje y permanecieron durante el tiempo en que transcurrió la infección con la bacteria

## **ANÁLISIS DE FOSFOPROTEÍNAS.**

Al término de la reacción las células se lavaron con PBS frío durante tres ocasiones y se obtuvieron las células mediante raspado en una solución de PBS en presencia de ortovanadato de sodio al 1mM. La proteína total (100  $\mu$ g ) se separó un gel de acrilamida SDS al 10 %. Los geles se secaron y analizaron por autorradiografía.

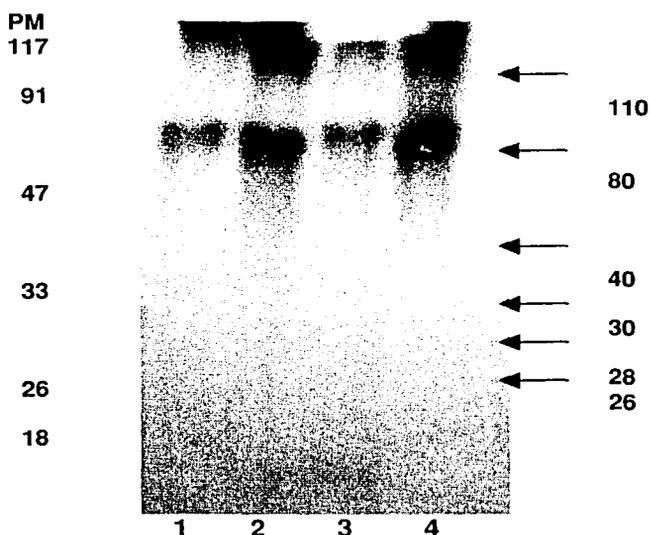
## **10.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los experimentos se realizaron por triplicado y se analizaron por densitometría y se obtuvo la desviación media  $\pm$  error estándar. Se colocó un experimento representativo

## 11. RESULTADOS

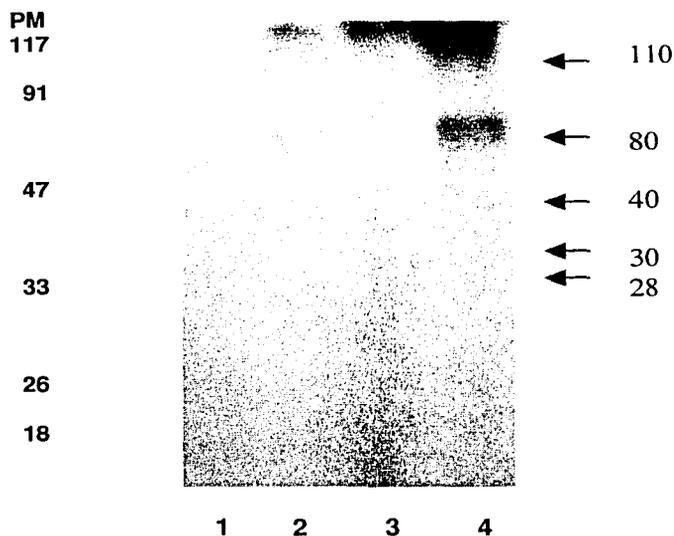
### Fosforilación de fibroblastos gingivales humanos en respuesta a la infección con *Actinomyces naeslundii*.

La incubación de fibroblastos gingivales humanos por varios tiempos con *Actinomyces naeslundii* causa un incremento en la fosforilación de una proteína de alto peso molecular (fig.1). La principal fosforilación de proteínas de los fibroblastos gingivales humanos se encuentran en proteínas con pesos moleculares aproximados a 110 y 80 k Da. A las 3 horas de infectar al cultivo encontramos la fosforilación de otras proteínas de pesos moleculares menores de aproximadamente 40, 30, 28 y 26. Las proteínas de peso molecular aproximado a 80 presentan la mayor fosforilación posiblemente porque la proteína presenta múltiples sitios de fosforilación. La fosforilación presenta un patrón bifásico, disminuye después de 6 horas de infectar los cultivos con la bacteria, posiblemente la fosforilación de proteínas disminuya por la activación de fosfatasas y aumenta nuevamente a las 9 hrs. de la infección.



**Fig. 1** Curso temporal de la infección con *A naeslundii* en cultivos de fibroblastos gingivales humanos. Los fibroblastos gingivales humanos se crecieron en cajas de 6 pozos hasta la subconfluencia, se marcaron durante 4 hrs con 50  $\mu$ Ci de  $^{32}$ P y se infectaron con la bacteria en relación de 1:50 por cada célula se adicionaron cincuenta células bacterianas. Las muestras se lavaron en PBS + 1 mM de ortovanadato de sodio. Carril 1) Control la cuál tiene *A. naeslundii* ; 2) 3 hr; 3) 6 hrs; 4) 9 hrs. Al término se cuantificó la proteína (100  $\mu$ g) se separaron en un gel acrilamida-SDS al 10% el gel se visualizó mediante autoradiografía.

Por otra parte en otra serie de experimentos encontramos que la infección con diferentes dosis de la bacteria no altera el patrón de la fosforilación, pero sí se observa un incremento en la fosforilación de las proteínas de 110 y 80 k Da, y a dosis de  $1 \times 10^8$  bacterias encontramos la fosforilación en proteínas de 40, 30 y 28 kDa. (Fig. 2).

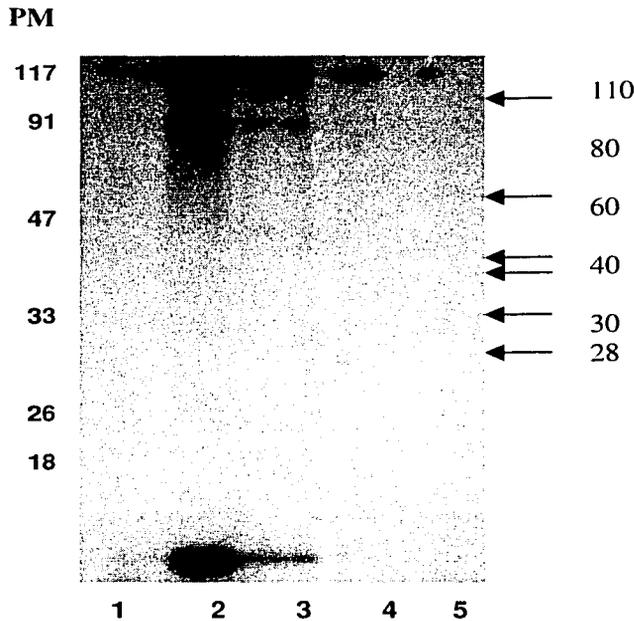


**Fig. 2 Dosis respuesta de la infección con *A. naeslundii* en cultivos de fibroblastos gingivales humanos.**

Los fibroblastos gingivales humanos se crecieron en cajas de 6 pozos hasta la subconfluencia, se marcaron durante 4 hrs con  $50 \mu\text{Ci}$  de  $[^{32}\text{P}]$  y se infectaron diferentes concentraciones de la bacteria Carril 1) Control; 2)  $1 \times 10^6$ ; 3)  $1 \times 10^7$  hrs; 4)  $1 \times 10^8$ . Durante 3 hrs. Al término las muestras se lavaron en PBS + 1 mM de ortovanadato de sodio. Al término se cuantificó la proteína (100  $\mu\text{g}$ ) se separaron en un gel acrilamida-SDS al 10% el gel se visualizó mediante autoradiografía.

**La fosforilación de los fibroblastos gingivales humanos requiere de la integridad de la bacteria.** La incubación con bacterias muertas no afectó de manera relevante el patrón de fosforilación, lo que sugiere que se requiere de proteínas intactas para que se efectúe la fosforilación de proteínas intracelulares (Fig. 3-3).

La infección con la bacteria HB101 (que contiene un plásmido que codifica para que no se efectúe la adherencia íntima que sí se presenta con la cepa EPEC) no produce ningún efecto en el patrón de fosforilación (Fig. 3-4.5) Estos resultados nos sugieren que el efecto que tenemos sobre la fosforilación de proteínas es exclusivo de *A naeslundii*.

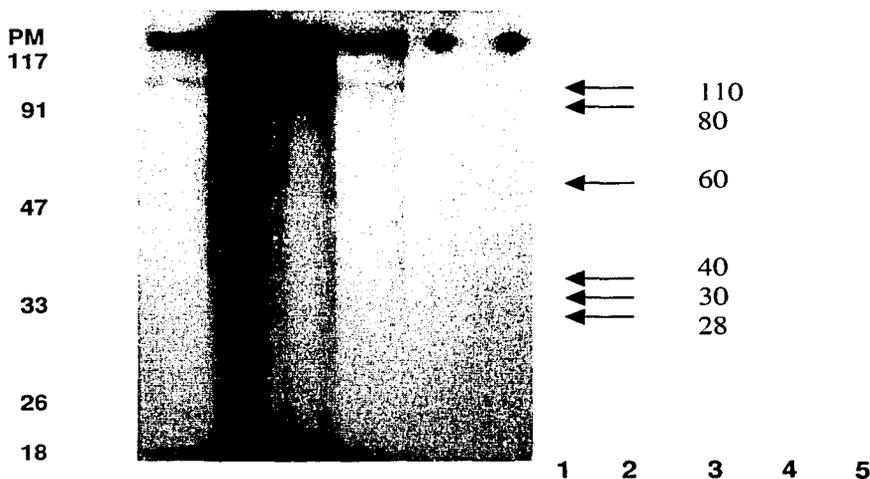


**Fig. 3 Efecto de *A. naeslundii* y *E. coli* sobre la fosforilación de proteínas en fibroblastos gingivales humanos.**

Los fibroblastos gingivales humanos se crecieron en cajas de 6 pozos hasta la subconfluencia, se marcaron durante 4 hrs con 50  $\mu\text{Ci}$  de  $[^{32}\text{P}]$  y se infectaron con diferentes concentraciones de la bacteria Carril 1) Control; 2) *A naeslundii*  $1 \times 10^8$ ; 3) *A naeslundii*  $1 \times 10^8$  hrs hervida en baño maría por 30 min; 4) *E. coli* HB100  $1 \times 10^8$  5) *E. coli*  $1 \times 10^8$ . Durante 3 hrs. Al término las muestras se lavaron en PBS + 1 mM de ortovanadato de sodio. Se cuantificó la proteína (100  $\mu\text{g}$ ) se separaron en un gel acrilamida-SDS al 10% el gel se visualizó mediante autoradiografía.

### Efecto de inhibidores de cinasas sobre la fosforilación de proteínas en fibroblastos gingivales humanos.

Los cambios en la fosforilación de proteínas de fibroblastos gingivales humanos son promovidos por cinasas que se agrupan en dos familias. Enzimas que promueven la transferencia de grupos fosfato provenientes de ATP a residuos de tirosina (Tirosín-cinasas) o por la fosforilación de serina o treonina (Serín-Treonin cinasa). Con el objetivo de establecer si los cambios en la fosforilación de proteínas se debía a la activación de enzimas que participan en la vía de tirosín cinasas o bien al grupo de las treonín-cinasas, por lo que se preincubaron las células con la marca y con inhibidores específicos de las diferentes vías de comunicación intracelular. Para la inhibición de la proteína cinasa C se utilizó calfostin C y bisindolilmaleimida encontrando que estos agentes bloquean la fosforilación inducida por *A. naeslundii* (carril 4,5,) y observamos que la incubación con inhibidores de tirosin-cinasas (Fig. 4, carril 4) bloquean de forma parcial la fosforilación inducida por *A.naeslundii*. Finalmente encontramos que al inhibir la vía de AKT con wortmanina (Fig. 4, carril 3) no se presentaron efectos sobre la fosforilación inducida por la bacteria.



6

### Fig. 4 Dosis respuesta de la infección con *A. naeslundii* en cultivos de fibroblastos gingivales humanos.

Los fibroblastos gingivales humanos se crecieron en cajas de 6 pozos hasta la subconfluencia, se marcaron durante 4 horas con 50  $\mu\text{Ci}$  de  $[^{32}\text{P}]$  y se preincubaron e ausencia o presencia de inhibidores. Carril 1) Control; 2) *A. naeslundii*  $1 \times 10^8$ ; 3) Wortmanina 50 nM; 4) Herbimicina A  $1\mu\text{M}$  como inhibidor de Tirosin-cinasa; 5) Calfostin C 100 nM; 6) Bisindoleilmaleimida  $1\mu\text{M}$ . Al término las muestras se lavaron en PBS + 1 mM de ortovanadato de sodio. Al término se cuantificó la proteína (100  $\mu\text{g}$ ) se separaron en un gel acrilamida-SDS al 10% el gel se visualizó mediante autoradiografía.

ESTO TIENE QUE SALIR  
DE LA BIBLIOTECA

## 12. DISCUSIÓN

La adherencia de *Actinomyces naeslundii* en cultivos de fibroblastos gingivales humanos promueve la fosforilación de varias proteínas. Este reporte es la primera evidencia que muestra que la adherencia de *A. naeslundii* promueve cambios en el patrón de fosforilación en cultivos celulares de fibroblastos gingivales humanos. Demostramos de igual forma que el incremento en la fosforilación de proteínas de los fibroblastos gingivales humanos se produce, de forma específica, en respuesta a la adherencia de *A. naeslundii* ya que el infectar el cultivo con una cepa de *E.coli* no adherente como HB101 no se altera el patrón fosforilación de estas células.

Nosotros hemos encontrado que la infección de cultivos de fibroblastos gingivales humanos con *A. naeslundii*, muestran que las bacterias se adhieren a estas células, lo que promueve un cambio en la organización del citoesqueleto. Además y mediante técnicas de inmunohistoquímica encontramos que la adherencia de esta bacteria ocasiona un aumento en la forma fosforilada de la proteína cinasa C alfa y translocación del factor de transcripción NFkB.<sup>41</sup>

Es importante señalar que el aumento en el patrón de fosforilación de las proteínas celulares está catalizado por un grupo de enzimas denominadas cinasas y que intervienen en la transferencia de un grupo de fosfato donado por el adenosín trifosfato a diversas proteínas celulares en residuos de tirosina por lo que a este grupo de enzimas se les denomina tirosín-cinasas y otro grupo de cinasas cataliza la transferencia del grupo fosfato en residuos de serina o treonina por lo que se les designa serín-treonín cinasas, estas cinasas por lo general están asociadas a los eventos de comunicación intracelular mediante vías de transducción específicas.

Por otra parte existen reportes que señalan que algunas enterotoxinas activan a proteínas cinasas dependientes de nucleótidos cíclicos de células blanco <sup>42</sup>. De igual forma en otros estudios en los que se somete a células epiteliales a permeabilización y posteriormente se incuban con nucleótidos cíclicos o con análogos no hidrolizables de nucleótidos cíclicos no mimetizan el patrón de fosforilación inducido por enterobacterias. Sin embargo el tratamiento con agentes que promueven la movilización intracelular de calcio provocan un patrón de fosforilación similar al que ocasiona la infección de cultivos celulares con bacterias enteropatógenas. <sup>43,44.</sup>

Estos resultados sugieren que la adherencia de bacterias en diversos tipos celulares activan vías de transducción, entre las vías involucradas se encuentra la vía de inositoltrifosfato-calcio. En esta vía de transducción la asociación de agonistas a receptores ubicados en la superficie celular promueven la disociación de una proteína heterotrímica que actúa como una molécula acopladora y que se denomina proteína Gq, la activación de esta proteína se produce cuando la subunidad alfa de esta proteína se asocia a la molécula efectora denominada fosfolipasa C, misma que utiliza como sustrato al fosfatidilinositol-bifosfato y lo hidroliza en inositol trifosfato y diacilglicerol.

El inositol trifosfato es una molécula polar que interactúa con receptores ubicados en el retículo endoplásmico y promueve la apertura de un canal de calcio, lo que conlleva a un aumento en la concentración intracelular de calcio que junto con el diacilglicerol activan a la proteína cinasa C que es una enzima con actividad de serín-treonin cinasa y que regula un gran número de eventos fisiológicos en los que se encuentran la apoptosis, proliferación y diferenciación celular <sup>45,46,47</sup>

En nuestras investigaciones encontramos que el patrón de fosforilación inducido por la adherencia de *A. naeslundii* en cultivos de fibroblastos gingivales es sensible a la inhibición de la proteína cinasa C y el patrón de fosforilación se inhibe de forma parcial al bloquear la actividad de tirosín cinasas, lo que sugiere que la fosforilación inducida por la adherencia bacteriana en estas células se debe a la activación de serín-treonin cinasas y en menor proporción por tirosín-cinasas.

En otras investigaciones existen evidencias convincentes que señalan que la proteína cinasa C juega un papel significativo en la fosforilación de proteínas de las células Hep-2 ya que en cuanto se infectan los cultivos celulares con bacterias enteropatógenicas el patrón de fosforilación obtenido es similar al que se presenta cuando las células se tratan con fármacos que activan a la proteína cinasa C, así mismo señala que el patrón de fosforilación se afecta cuando se utilizan cepas de *E.coli* que alteran de forma significativa el patrón de organización del citoesqueleto.<sup>48</sup> En estos sistemas se ha demostrado que la activación de la proteína cinasa como resultado de la adherencia bacteriana ocasiona un incremento en el pH por efecto del flujo de protones.<sup>49</sup>

Aunque nuestras investigaciones demuestran que *A.naeslundii* promueve la fosforilación de proteínas en fibroblastos gingivales humanos no conocemos cual es la relevancia fisiológica de este evento, aunque en resultados preliminares demostramos que *A.naeslundii* promueve la translocación de NFκB al núcleo celular y como es bien sabido este factor está involucrado en la síntesis del factor de necrosis tumoral y citocinas, por lo que nuestras investigaciones futuras estarán encausadas en identificar la contribución de esta bacteria en el desarrollo de la enfermedad periodontal y por otra parte estudiar con mayor profundidad el cambio en el patrón de fosforilación inducida por la adherencia bacteriana debido a que se presenta un incremento discreto en la fosforilación de proteínas de los fibroblastos gingivales humanos.

En estudios realizados con componentes bacterianos como lipopolisacáridos se ha observado que el tratamiento con esta endotoxina proveniente de bacterias gram-negativas induce una amplia fosforilación de proteínas de diferentes pesos moleculares en lisados celulares. Por otra parte como *A. naeslundii* es una bacteria de tipo gram-positivo posiblemente el ácido lipoteico participa en la activación de transducción de señales pero deberá realizarse una mayor investigación con esta molécula. Así mismo sería conveniente estudiar si la infección de los cultivos con esta bacteria tiene efectos importantes sobre la viabilidad celular y que sea este motivo el que impida ver un mayor espectro en el patrón de proteínas fosforiladas.

De igual forma algunos reportes señalan que una fimbria tipo 2 asociada a lectina de *A. naeslundii* puede interaccionar con células epiteliales<sup>50</sup>. La proteína receptora en las células presenta una masa molecular de 160 kDa, de la cual se desconoce su naturaleza molecular pero existen evidencias de que presenta una gran similitud con el receptor a fibronectina. Se señala de igual forma que la adherencia se aumenta después de tratar con sialidasa a fin de remover la ácido siálico, que en ensayos in vivo existen evidencias que señalan que la bacteria sintetiza la sialidasa lo que potencia la adherencia de la bacteria en diversos tipos celulares. Por lo que nosotros debemos realizar otras investigaciones a fin de esclarecer si en la fosforilación encontrada participa el ácido lipoteico o alguna fimbria de *A. naeslundii*. Finalmente sería de gran importancia identificar la naturaleza molecular de las proteínas fosforiladas, en investigaciones futuras nos abocaremos a estudiar si la proteína fosforilada en 80 kDa corresponde a alguna de las isoformas de la proteína cinasa C.

En conclusión *A. naeslundii* no solamente participa en la adherencia a hidroxiapatita. Sino que se ha encontrado que este microorganismo se encuentra también en la placa subgingival y en ensayos *in vitro* se puede adherir a células epiteliales, por lo destacaría que este microorganismo intervenga en el desarrollo de la enfermedad periodontal.

### 13. CONCLUSIONES

- Al infectar cultivos celulares de fibroblastos gingivales humanos con *A. naeslundii* se observó un incremento en el patrón de fosforilación de proteínas.
- La fosforilación de estas proteínas se produce por la adherencia de *A. naeslundii* de forma específica.
- La fosforilación de proteínas inducida por la adherencia bacteriana es sensible a la inhibición de proteína cinasa C
- La fosforilación de proteínas inducida por la adherencia bacteriana se inhibe de forma parcial al tratar con inhibidores de tirosin-cinasas.

#### 14. BIBLIOGRAFIA

- 1) Jan Lindhe, Thorkild Karring, Niklaus P. Lang. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Tercera edición. Edit. Panamericana. 2000.
- 2) Genco, Goldman, Periodoncia.. Primera edición. Editorial: Interamericana. Mac Graw- Hill 1993.
- 3) F. A. Carranza, D. A. Perry Manual de Periodontología Clínica.. Primera edición. Editorial. Interamericana. Mac Graw-Hill.1988.
- 4) Genesser. Histología. 20 edición 1996.Editorial Médica Panamericana
- 5) Sobota. Atlas de Anatomía Humana. Volumen 1. Decímonovena edición 1992.Editorial Médica Panamericana
- 6) .Nester. Roberts. Pearsall. Anderson. Microbiologyy ahuman perspective.second edition 1998. Edit. Saunders
- 7) Niesengard &Newuman Oral Microbiology and Inmunology..Second Edition.Editorial Saunders 1994
- 8) C H. Collins. Patricia M. LÍen Microbiological Methods..Sixth Edition. 1991.Ed 8utterworth Heineman
- 9) Lubert Stryer. Bioquímica.. Cuarta edicion 1995.Ed Reverte.Universidad de Stanfor.
- 10) Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica..15 edición. 1996.Editorial Manual Moderno
- 11) Friedich Marks. Protein Phosphorylation. 1997.Editorial VCH Weinhem.N. y 12) T Pawson.Guest .Cell Signalling. P.J Parker, Editors 1996.
- 13) R.J. Gibbons, D. I H AY, w. C. Childs 111 and G. Davis.Role of cryptic (criptitopes) in bacterial adhesion to oral surfaces. 1990. J Dent Res.Suppl,107S-114S
- 14) R.J. Gibbons, D. I HAY. Human SalivaryAidic Proline- Rich Proteins and Statherin Promote the Attachment ofActinomyces viscosus L Y7 to Apatitic Surfaces. 1987.Infection and Immunity VOL 56(2): 439-445.
- 15) R. J. Gibbons, D. I. HAY, J. O. Cisar and W. 8. Clark. Adsorbed Salivary Proline- Rich Protein 1 and Statherin: Receptors for Type 1 Fimbriae ofActinomyces viscosus T14-J1 on Apatitic Surfaces.1988. Infection and Immunity. Vol.56, (1,1) : 2990-2993

- 16) R J. Gibbons. Bacterial Adhesion to Oral Tissues: A Model for Infectious : Diseases. 1989. J Dent Res. 68(5) :750-760
- 17) J Dent Res .R J. Gibbons. Role od Adhesion in Microbial Colonization of Host Tissues: A Contribution of Oral Microbiology. 1996. 75(3): 866-870.
- 18) Haffajee, A. D; Dzink, J. L Y Socransky, S. S. Microbial Etiological Agents of Destructive Periodontal Diseases. 1988. Journal of Clinical Periodontology. 15: 255-262
- 19) Wilson M, Reddik, Henderson. Citokine-n inducing components of periodontopathogenic bacteria. 1996. J .periodont Reseach. 31:393-407
- 20) T J Baldwin, S F Brooks, S Knutton, H A Manjarrez Hernandez and PH Williams Protein phosphorylation by PKC in Hep-2 cells infected whith enteropathogenic E coli. 1990. Infect and Immunity. 58 (3): 761-765
- 21) Kvam. E. Topografhy of principal fibers. 1973. 81.553-557. Scandinavian Journal of Dental Reseach
- 22) Loe y.H; Theilade, E y Jensen. Experimental gingivitis in man.1965. Journal of Periodontology 36: 177-187 24)
- 23) Hellden L Y Lindhe. Enhaced emigration of crevicular leucocytes mediated by factors in human dental plaque. 1973. Scandinavian Journal of dental reseach 81: 123-129
- 24) Lindhe y Rylander. Experimental gingivitis in young dogs.1975. Scandinavian Journal od Dental Reseach 83:314-326.
- 25) Page and Schoeder. Pathogenesis of infalmatori periodontal disease a sumary of currente work .1976. Journal of Periodontology 33:235-249.
- 26) Moughal, Na. Adonogranaki E, Thornhill. M. H y Kinane. Endotelial celleducocyte adhesion melcule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecul-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue durin healt and experimentally induced gingivitis. 1992. Journal of Periodontology. .68(4) :350-360
- 27) Listgarten, MA y Ellegaard. Experimental gingivitis in the monkey. Relationship of leucocytes in junctional ephitelium, sulcus depth and conective tissue inflamation scores. 1973. Journal of Periodontology Reseach. 11: 255-262
- 28) Payne and ,W.A, Page. R.C, Ogilvie. A L y Hall. Histopathological Features of initial and early Stages of Experimental gingivitis in mano 1975 .Journal of Periodontology Reseach. 87:114-126.

- 29) Seymour y cols. Experimental gingivitis in humans A histochemical and immunological characterisation of the lymphoid cell subpopulations. 1983. Journal of Periodontology Reseach 18: 375-385..
- 30) Brex Mc Gautschi M Gehr, P Lanng , NP. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. 1987 .Journal of Periodontology Reseach 18: 375-385.
- 31) Liljenberg B .Linhe, J, Berglundh, T y Dahlen .  
Some micriobiological, Histopathological and immnohistochemical characteristics of progressive periodontal disease. 1980. Journal of Clinical Periodontology 21 :720-727.
- 32) S chichester, U K: Jhohns viley Structure and Function of Biofilms. Wilderer 1989 pp 1-17.
- 33) Keinberg I and cols. Biochemistri of dental plaque. 1970. Archives of oral biology 4:43-90.
- 34) Socransky SS and Haffajee Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal disease. 1990. j,. D Risk. Assesment in Dentistry University of North Carolina Dental ECOLOGY p79- 90..
- 35) Dificulties encountered in the search for the etiological agents of destructive periodontal disease. 1987. Journal of Clinical Periodontology 14: 588-593. Socransky SS and Haffajee
- 36) Preus,H.R,Olsen,1 y Gjermo and cols. Bacteriophage infection a posible mechanism of increased virulence of bacteria associated with rapidly destructive periodontitis. 1997. Acta Odontológica Scandinava 45: 49-54
- 37) .Leblanc,D,J Lee,Ln; Abu- AL Jaibat ,A R. Identification of plasmids in A a and construction of intergeneric shultle plasmid.Oral1995. Microbiology and Immunology 8: 94-99
- 38) Thomas Lehener, Jerry Mc Ghee. Strains isolated from periodontal les ion s of patients with rapidly destructive periodontitis. 1993 Oral Microbiology and immunology 4 : 219-221.
- 39) .R. J. Gibbons, D. I. Hay, W. Childs 111 and G. Davis. Role of Cryptic Receptors (Cryptitopes) in bacterial adhesion To Oral Surfaces. 1990. Archis of oral Biol. Vol 35 pp 1075-1145.
- 40) Charles.A.Jooneway Jr,Paul.Travers,Mark Walport, J.Donald Capa. El Sistema Inmunitario en condiciones de salud y enfermedad .Editorial MASSON .2000 .

41) Gutiérrez-Venegas G., and Miguel Pérez Garzón. Actin accumulation and signal transduction in human gingival fibroblasts infected with *Actinomyces naeslundii* in vitro. EN PRENSA

42) Jonge, H., and S.M. Lohmann. 1985. Mechanisms by which cyclic nucleotides and other intracellular mediators regulate secretion. CIBA Found. Symp. 112: 116-138)

43) Colbran, R.J., C.M. Scworer, Y. Hashimoto, Y.L. Fong, D.P. Rich, M.K. Smith and T.R. Soderling. 1989. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. Biochem. J. 258: 313-325.

44) Manalan, A.S. and C.B. Klee. 1984. Calmodulin Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation. Res. 18:227-279

45) Berridge, M.J.. 1984. Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messenger. Biochem. J. 220: 345-360.

46) Castagna, M.Y., Takal, K., Kaibuchi, K., Sano, U., Kikkawa, and Y. Nishizuka. 1982. Direct activation of calcium-activated phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. J. Biol. Chem. 257:7847-7851

47) Exton J.H. 1988. Mechanisms of action of calcium-mobilizing agonists: some variations on a young theme. FASEB J. 2:2670-2676

48) Knutton, S., T. Balwin, R.H. Williams, and A.S. Mc Neish. 1989. Actin accumulation at sites of bacterial adhesion to tissue culture cells: basis of a new diagnostic test for enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Infect. Immun. 57: 1290-1298.

49) Moonenaar, W.H., G.J. Tertoolen, and S.W. de Laat. 1984. Phorbol ester and diacylglycerol mimic growth factors in raising cytoplasmic pG. Nature. 312: 371-374.)

50) Sanderberg, A.L., S. Ruhl, R.A. Joralmon, M.J. Brennan, M.J. Sutphin and J. O Cisar. 1995. Putative Glycoprotein and glycolipid polymorphonuclear leukocyte receptors for the *Actinomyces naeslundii* WVU45 fimbrial lectin. Infect. And Immun. July 2625-2631