



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

***Porphyromonas gingivalis Y SU RELACIÓN CON LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL***

T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

Gutiérrez Hernández Octavio Cesar

Directora: Gutiérrez Venegas Gloria



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.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	5
ENFERMEDAD PERIODONTAL	8
DESCRIPCIÓN DE LA BACTERIA	17
CÁPSULA	21
LIPOPOLISÁCARIDOS	23
FIMBRIAS	29
Evidencias que comprueban la especificidad de la adherencia bacteriana	29
Estructuras con función de adhesinas	29
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	30
Fimbrias menores	35
ENZIMAS EXTRACELULARES	37
Proteinasas como medio de obtención de nutrientes	37
Proteinasas como medios de adhesión	40
PROTEÍNA DE SHOCK TÉRMICO GroEL	45
HEMAGLUTININAS	46
PROTEÍNAS ANTIGÉNICAS FUERA DE MEMBRANA	49
GENOMA DE <i>Porphyromonas gingivalis</i>	51
MECANISMO DE DEFENSA DEL HUÉSPED	62
DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA <i>Porphyromonas gingivalis</i>	64
MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE INFECCIÓN POR <i>Porphyromonas gingivalis</i>	66
CONCLUSIONES	67
BIBLIOGRAFÍA.....	76
ANEXOS	82

INTRODUCCIÓN

El periodonto es el tejido que sostiene al diente y se compone de encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. La encía sana es rosa coral, firme tiene un puntilleo que asemeja la cáscara de naranja.

La enfermedad periodontal es la mayor causa de pérdida dental en adultos, se caracteriza por inflamación crónica de las encías causada por infección de las bacterias orales. En ocasiones, con enfermedades generales y de su diagnóstico y tratamiento precoz depende su pronóstico. La enfermedad periodontal comprende un grupo de infecciones que van desde inflamación de la encía conocida como gingivitis, hasta la destrucción de los tejidos periodontales y en algunos casos está acompañada de pérdida de hueso alveolar con la subsecuente pérdida de los dientes.

La gingivitis se caracteriza por la inflamación de la encía sin afectación del hueso alveolar. Está asociada a la placa bacteriana dental y se manifiesta por presentar una encía enrojecida, edematosa y que sangra fácilmente. Es muy importante tratar una gingivitis, porque de lo contrario puede evolucionar a una periodontitis

La periodontitis, se caracteriza por una destrucción del hueso alveolar que soporta el diente, acabando, con el tiempo, en una pérdida dentaria si no se recibe tratamiento. Clínicamente se manifiesta por una encía inflamada, con presencia de bolsas periodontales, o como una recesión gingival, debido a la pérdida del soporte óseo. Afecta más frecuentemente a los adultos (evolución lenta), aunque también puede aparecer en niños y adolescentes (forma rápida).

La periodontitis se manifiesta por:

- Enrojecimiento de las encías
- Sangrado de las encías al cepillarse o espontáneamente
- Retracción de las encías, con sensación de alargamiento de diente
- Aumento de la sensación dentaria al frío
- Movilidad dentaria

- En algunos casos se presentan abscesos en la encía, con dolor en la zona.

Dependiendo de su diagnóstico y la causa será su tratamiento y su pronóstico pues no toda la inflamación puede deberse a las bacterias que se encuentran en la boca sino que debemos tener en cuenta algunos diagnósticos diferenciales posibles en algunos pacientes, es por eso que el sistema de clasificación para enfermedades y condiciones periodontales enlista mas de 40 diferentes enfermedades gingivales divididas en dos grandes grupos:

- Enfermedades gingivales inducidas por placa
- Enfermedades gingivales no inducidas por placa

Sin embargo en algunas lesiones no inducidas por placa puede ocurrir pérdida de hueso alveolar, además siete grandes categorías mayores para enfermedades periodontales destructivas son enlistadas:

- Periodontitis crónica
- Periodontitis agresiva localizada
- Periodontitis agresiva generalizada
- Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas
- Gingivitis/periodontitis ulcerativa necrotizante
- Abscesos del periodonto
- Lesiones endo-periodontales

Las afecciones periodontales inducidas por placa se presentan como una respuesta ante una infección bacteriana. Mas de 500 especies de diferentes bacterias han sido cultivadas en muestras de placa subgingival humana sin embargo sólo algunas de ellas tienen potencial periodontopático y pueden iniciar enfermedades periodontales, cuando su concentración aumenta su crecimiento se puede deber a una deficiencia en la respuesta de sistema de defensa del huésped o por modificaciones en el ambiente subgingival.

De entre las bacterias involucradas en el desarrollo de enfermedad periodontal se encuentran: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*. Esta última es el centro de la presente investigación con la cual pretendemos describir su morfología taxonomía, patogenicidad, métodos de detección, antígenos, métodos de colonización, interacción con células epiteliales, nutrición, virulencia y métodos de defensa del huésped.

De estas enfermedades sabemos que existe una llamada periodontitis crónica la cual esta originada por *Porphyromonas gingivalis*, de ahí que el presente estudio se centre en este microorganismo y en dicho padecimiento.

ENFERMEDAD PERIODONTAL

La enfermedad periodontal es la mayor causa de pérdida dental en adultos, se caracteriza por inflamación crónica de las encías causada por infección de las bacterias orales. En ocasiones, con enfermedades generales y de su diagnóstico y tratamiento precoz depende su pronóstico.

La encía sana tiene características muy particulares, es de color rosa coral aunque puede variar dependiendo de la raza del individuo, tiene puntilleo que asemeja la cáscara de la naranja, se une normalmente a la unión cemento esmalte y cubre por completo a la raíz del diente, no permite la entrada de la sonda periodontal más allá de tres milímetros, se adosa perfectamente al contorno del cuello dando un aspecto festoneado y a la vez crea papilas interdentales.

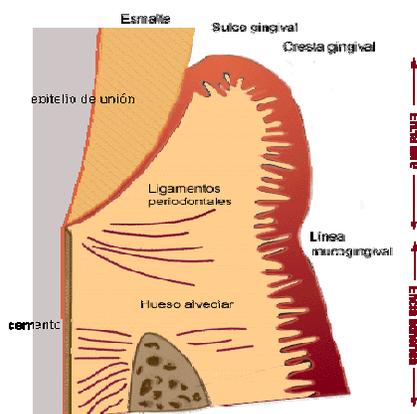


Figura 1. Representación esquemática de la encía en salud se observa la unión de la encía, la orientación de las fibras y la posición tanto del hueso como del epitelio de unión. ¹



Figura 2. Encía sana, nótese el puntilleo, el color uniforme, y el festoneo que se produce por las papilas. ²

La enfermedad periodontal comprende un grupo de infecciones que van desde inflamación de la encía conocida como gingivitis, hasta la destrucción de los tejidos periodontales y en algunos casos está acompañada de pérdida de hueso alveolar con la subsecuente pérdida de los dientes.

La gingivitis se caracteriza por la inflamación de la encía sin afectación del hueso alveolar. Está asociada a la placa bacteriana dental y se manifiesta por presentar una encía enrojecida, edematosa y que sangra fácilmente. Es muy importante tratar una gingivitis, pues sino puede evolucionar a una periodontitis.



Figura 3. Gingivitis, nótese el enrojecimiento alrededor de los dientes y el crecimiento de las papilas.³

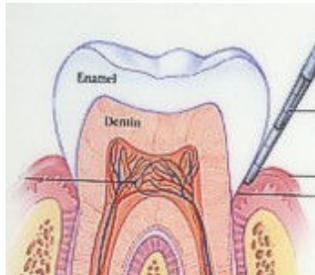


Figura 4. Esquema de gingivitis, en esta etapa no hay desprendimiento de la encía ni pérdida de hueso.⁴

La periodontitis, se caracteriza por una destrucción del hueso alveolar que soporta el diente y con el avance del tiempo se produce una pérdida dentaria si no se recibe tratamiento. Clínicamente se manifiesta por una encía inflamada, con presencia de bolsas periodontales, o como una recesión gingival, debido a la pérdida del soporte óseo. Afecta más frecuentemente a los adultos (evolución lenta), aunque también puede aparecer en niños y adolescentes (forma rápida).



Figura 5. Boca con periodontitis nótese el cambio de color, la pérdida de la forma y los depósitos sobre la estructura dentaria. ⁵

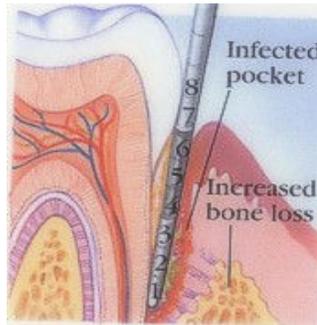


Figura 6. Esquema que representa la periodontitis, en esta etapa ya existe desprendimiento de la encía y pérdida de hueso. ⁴

La enfermedad periodontal se presenta generalmente cuando se acumulan los restos de alimento en diversas zonas de la boca y que si no se eliminan correctamente se depositan entre la encía y el diente, ocasionando un proceso inflamatorio de la encía, posteriormente, estas bacterias son capaces de desplazarse por debajo de la encía, migrando a través del surco gingival y desprendiendo el epitelio de unión en dirección apical hasta destruir el hueso que sujeta los dientes. Puede ser generalizada de toda la boca o localizada, en algún punto concreto aunque cuenta como localizada si menos del treinta por ciento de la boca esta involucrada en la enfermedad;

La enfermedad periodontal puede contribuir al desarrollo y curso de ciertas enfermedades sistémicas. Factores como edad, enfermedades sistémicas, estado inmunológico, stress, cambios hormonales (embarazo, pubertad, toma de anticonceptivos orales) así como la toma de fármacos (fenitoína, ciclosporina, y nifedipina) o enfermedades como discrasias sanguíneas

(leucemia), deficiencias nutricionales, enfermedades cutáneas (pénfigo) o algunas enfermedades sistémicas (diabetes, SIDA, enfermedad de Crohn), pueden manifestarse por una gingivitis o una hipertrofia gingival y, a veces, pasar a periodontitis, o cursar con periodontitis severas, desde el comienzo de la enfermedad sistémica.

La Academia Americana de Periodoncia (AAP), a finales de 1999 en la Ciudad de Oak Brook, Illinois, realizó el taller sobre la clasificación de enfermedad periodontal, que fue publicado en los anales de periodoncia de diciembre de 1999, dándonos nuevos parámetros para unificar universalmente las diferentes entidades que se presentan en la enfermedad periodontal. Es importante que esta clasificación se adopte, ya que podemos globalizar el conocimiento y debido a que su etiología puede ser distinta, sabiendo esto podemos mejorar el tratamiento de cada una de ellas.

Clasificación General De La Enfermedad Periodontal ⁶

I. Enfermedad Gingival

A. Enfermedad Gingival Inducida por Placa Dental.

1. Gingivitis asociada con Placa Dental únicamente.

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

2. Enfermedad Gingival Modificada por Factores Sistémicos.

a. Asociada con el Sistema Endocrino.

- 1) Gingivitis Asociada con la Pubertad.
- 2) Gingivitis Asociada con el Ciclo Menstrual.
- 3) Gingivitis Asociada con el Embarazo.
 - a) Gingivitis.
 - b) Granuloma Piógeno.
- 4) Gingivitis Asociada a Diabetes Mellitus.

b. Asociada con Discrasias Sanguíneas.

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

3. Enfermedad Gingival Modificada por Medicamentos.
 - a. Enfermedad Gingival Influenciada por Drogas.
 - 1) Agrandamientos Gingivales Influenciados por Drogas.
 - 2) Gingivitis Influenciada por Drogas.
 - a) Gingivitis Asociada a Anticonceptivos Orales.
 - b) Otras.
 4. Enfermedad Gingival Modificada por Malnutrición.
 - a. Gingivitis Asociada a Deficiencia de Ácido Ascórbico.
 - b. Otras.
- B. Lesiones Gingivales No Inducidas por Placa.
1. Enfermedad Gingival de Origen Bacteriano Específico.
 - a. Lesiones Asociadas con *Neisseria Gonorrhoeae*.
 - b. Lesiones asociadas con *Traponema Pallidum*.
 - c. Lesiones Asociadas a Especies *Streptocólicas*.
 - d. Otros.
 2. Enfermedad Gingival de Origen Viral.
 - a. Infecciones por el Herpes Virus.
 - 1) Gingivoestomatitis Herpética Primaria.
 - 2) Herpes Oral Recurrente.
 - 3) Infecciones por *Varicella Zoster*.
 - b. Otras.
 3. Enfermedad Gingival de Origen Fúngico.
 - a. Infecciones por Especies de Candida.
 - b. Eritema Gingival Lineal.
 - c. Histoplasmosis.
 - d. Otras.
 4. Lesiones Gingivales de Origen Genético.
 - a. Fibromatosis Gingival Hereditaria.
 - b. Otros.
 5. Manifestaciones Gingivales de Condiciones Sistémicas.
 - a. Desórdenes Mucocutáneos.

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

b. Reacciones Alérgicas.

- 1) Reacciones a los materiales restaurativos dentales.
 - a) Mercurio.
 - b) Níquel.
 - c) Acrílico.
 - d) Otros.
- 2) Reacciones atribuidas a
 - a) Cremas Dentales.
 - b) Enjuagues Dentales.
 - c) Aditivos de Gomas de Mascar.
 - d) Aditivos de los Alimentos.
- 3) Otras.

6. Lesiones Traumáticas.

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

7. Reacciones a Cuerpo Extraño.

8. Otras no Específicas.

II. Periodontitis Crónica.

- A. Localizada.
- B. Generalizada.

III. Periodontitis Agresiva

- A. Localizada.
- B. Generalizada.

IV. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas.

- A. Asociada con Desórdenes Hematológicos.

1. Neutropenia Adquirida.
 2. Leucemia.
 3. Otros.
- B. Asociada con Desórdenes Genéticos.
1. Neutropenia Cíclica Familiar.
 2. Síndrome de Down.
 3. Síndromes de Deficiencia de Adhesión Leucocitaria.
 4. Síndrome Papillon-Lefèvre.
 5. Síndrome de Chediak-Higashi.
 6. Histiocitosis.
 7. Enfermedad de Almacenamiento de Glicógeno.
 8. Agranulocitosis Genética Infantil.
 9. Síndrome de Cohen.
 10. Síndrome de Ehlers-Danlos.
 11. Hipofosfatasia.
 12. Otros.
- C. Otros no específicos.
- V. Enfermedad Periodontal Necrotizante.
- A. Gingivitis Ulceronecrotizante.
 - B. Periodontitis Ulceronecrotizante.
- VI. Absceso Periodontal.
- A. Absceso Gingival.
 - B. Absceso Periodontal.
 - C. Absceso Pericoronar.
- VII. Periodontitis Asociada con Lesiones Endodónticas.
- A. Lesiones Combinadas Endo-Periodontales.
- VIII. Condiciones o deformidades del desarrollo o adquiridas
- A. Factores Localizados Relacionados a los Dientes que Modifican o Predisponen a la Enfermedad Gingival Inducida por Placa o Periodontitis.
 1. Factores Anatómicos Dentales.
 2. Aparatos y Restauraciones Dentales.
 3. Fracturas Radiculares.
 4. Reabsorción radicular cervical y Lágrimas de Cemento.

B. Condiciones y Deformidades Mucogingivales Adyacentes a los Dientes.

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

C. Condiciones y Deformidades Mucogingivales en Rebordes Edéntulos.

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

D. Trauma Oclusal.

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

Un cuidadoso diagnóstico periodontal es de suma importancia para establecer el tratamiento adecuado y de esa manera proveer una resolución para la infección en los pacientes periodontales inducidos por placa. Un tratamiento satisfactorio puede convertir una periodontitis inducida por placa en un periodito sano con un periodonto reducido. Ese tratamiento puede ser:

- Instrucciones de higiene oral
- Raspado subgingival
- Tratamiento antibiótico si procede
- Cirugía periodontal.

La enfermedad periodontal que afecta los tejidos de soporte dentario es caracterizada por pérdida de inserción, incluyendo el hueso alveolar. La etiología de esta enfermedad es multifactorial aunque los depósitos bacterianos juegan un papel esencial en su patogénesis. El grupo de anaerobios pigmentados oscuros que esta fuertemente asociado con infecciones destructivas periodontales y el mayor patógeno en este grupo es *Porphyromonas gingivalis*.

Sabemos que en la periodontitis crónica el microorganismo que se encuentra más frecuentemente es *Porphyromonas gingivalis*, este tipo de periodontitis es el más común adultos, también puede ser vista en niños y jóvenes.

Esta enfermedad se caracteriza por ser más prevalente en adultos, pero puede encontrarse en niños y jóvenes, su magnitud de la destrucción consistente con la presencia de factores locales y tiene la presencia de cálculos subgingivales. Su progresión lenta a moderada, pero puede tener períodos cortos de rápida destrucción. Puede estar modificada por condiciones sistémicas como Diabetes, tabaquismo y stress.

Se dice que es una periodontitis crónica localizada si se encuentra en 30 % o menos de las caras de los dientes presentes y es generalizada si afecta a más del 30% de las caaras de los dientes presentes ⁷.

DESCRIPCIÓN DE LA BACTERIA

Porphyromonas gingivalis, es una bacteria anaerobia, Gram negativa pertenecen a la familia Porphyromonadaceae, orden Bacteroidales en el Phylum Bacteroidetes, anteriormente conocida como Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides (CFB) grupo 6. La bacteria, es el agente causal mayor en el inicio y el progreso de las formas severas de la enfermedad periodontal. *Porphyromonas gingivalis* es un colonizador tardío o secundario de la cavidad oral, un proceso que es facilitado por otras especies microbianas que proveen sitios de ataque así como sustratos de crecimiento, y reducen la tensión de oxígeno a niveles óptimos para el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. Una vez que se han establecido los colonizadores primarios, *Porphyromonas gingivalis* se adhiere al *Streptococcus* oral y al *Actinomyces naeslundii*. La adherencia es facilitada por una variedad de proteínas de la superficie bacteriana incluyendo fimbrias, hemaglutininas y proteinasas.

Porphyromonas gingivalis también se une a colonizadores tardíos como son *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola* y *Bacteroides forsythus* (hoy llamada *Tannerella forsythensis*).⁸

Las especies del género *Porphyromonas* anteriormente ubicadas dentro del género *Bacteroides*, se caracterizan por ser bacilos pleomórficos o cocobacilos, inmóviles, no esporulados. Carecen de metabolismo fermentativo, por lo que son llamadas asacarolíticas. Para su cultivo se requiere vitamina K y hemina o sangre y en su medio selectivo se requieren antibióticos que no actúan sobre *Porphyromonas gingivalis* como kanamicina, tobramicina, ácido nalidíxico, colistina o bacitracina. Actualmente el género *Porphyromonas* comprende doce especies, pero solo tres se han aislado de la cavidad bucal del hombre, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* y *Porphyromonas asaccharolytica*.

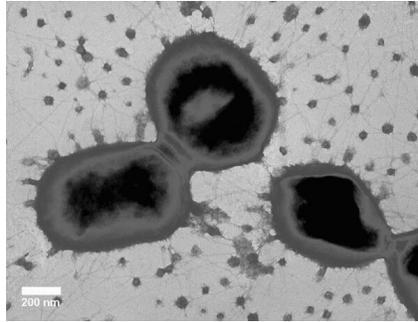


Figura 7. Micrografía electrónica que muestra salida de vesículas y fimbrias de cepas ATCC (American Type Culture Collection-vease glosario) 33277. ¹¹

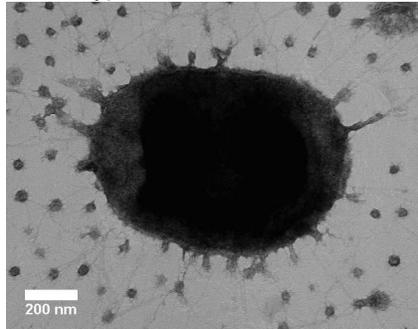


Figura 8. Micrografía electrónica que muestra salida de vesículas y fimbrias de cepas ATCC 33277. ¹²

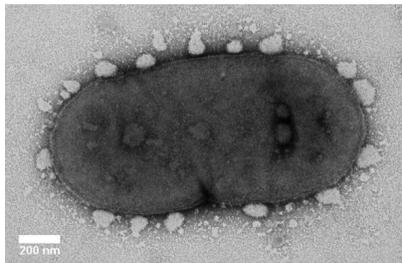


Figura 9. La cepa W50BEI es una cepa albina la cual carece de fimbrias y vesículas la composición de las zonas blancas no ha sido determinada. ¹³

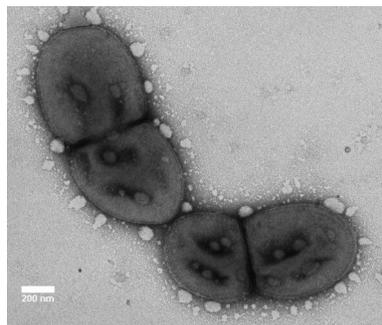


Figura 10. La cepa W50BEI es una cepa albina la cual carece de fimbrias y vesículas, la composición de las zonas blancas no ha sido determinada. ¹⁴

Estas bacterias utilizan substratos nitrogenados como fuente de energía además azúcares como glucosa pueden ser utilizados por el microorganismo, esos

compuestos no son convertidos en productos metabólicos sino que son usados para la biosíntesis de macromoléculas intracelulares. *Porphyromonas gingivalis* sólo se limita a fermentar aminoácidos libres, con la posible excepción de ácido aspártico y asparagina, los cuales pueden ser metabolizados a oxaloacetato, malato y fumarato o a succinato, en contraste los péptidos son utilizados eficientemente para su crecimiento. Además la acción de enzimas proteolíticas producidas por *Porphyromonas gingivalis* actúan con otras proteasas bacterianas y convertir el fluido crevicular en una rica fuente de nutrientes para *Porphyromonas gingivalis*. Esta bacteria produce múltiples proteasas que pueden degradar un número potencialmente importante de sustratos del tejido conectivo gingival como la colágena, fibronectina, fibrinógeno, laminina y queratina ⁹. *Porphyromonas gingivalis* no se desarrollan en presencia de bilis y son sensibles a la vancomicina ¹⁰. *Porphyromonas gingivalis* utiliza hierro para su crecimiento para lo cual utiliza hemina; un grupo de compuestos del cual obtiene la hemina y a su vez el hierro suficiente para cubrir sus requerimientos son: hemoglobina, haptoglobina, mioglobina, hemopexina, metahemoglobina, oxihemoglobina, albúmina, lactoperoxidasa, catalasa y citocromo C; además puede utilizar compuestos sin hemina como hierro férrico, hierro ferroso y hierro inorgánico no nitrogenado aunque sus requerimientos pueden ser completos sólo utilizando hemina. La hemina es almacenada en la superficie celular lo cual le da el característico pigmento negro que aparece en las colonias de *Porphyromonas gingivalis* ⁹.

Porphyromonas gingivalis, esta considerada como una bacteria periodontopatógena, se encuentra en el surco gingival sobre todo en enfermedad, y se ha asociado especialmente con la progresión de la periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* es el microorganismo más patógeno dentro del grupo de bacilos anaerobios Gram-negativos. El poder patógeno de esta bacteria en la colonización, destrucción del tejido periodontal y evasión de las defensas del huésped, tiene relación con un gran número de factores de virulencia. Se ha demostrado que esta bacteria posee elementos estructurales que favorecen su virulencia como ¹⁰:

- Fimbrias, que se comportan como adhesinas, que intervienen en el proceso de adhesión a tejidos del huésped y en la coagregación bacteriana.
- Hemaglutininas, que participan en la aglutinación de hematíes en los inicios de la colonización tisular.
- Residuos proteicos, glucídicos y de lipopolisacáridos, que contribuyen a los procesos de adhesión a células epiteliales, y a la coagregación con otras bacterias.
- Cápsula, cuya acción es fundamentalmente antifagocítica.
- Vesículas superficiales, que participan en la captación de nutrientes.

Al parecer una subunidad de las fimbrias de *Porphyromonas gingivalis*, conocida como gen *fim A*, clasificada en cinco genotipos (I- V) basado en sus secuencias de nucleótidos, es el factor de virulencia más importante involucrado en las interacciones bacterianas y con el huésped. Recientemente, se ha demostrado una fuerte relación entre cepas de *Porphyromonas gingivalis* que poseen genes *fim A* tipo II-IV con la periodontitis crónica en el adulto y la progresión de la enfermedad. También esta bacteria, es capaz de producir una variedad de enzimas que causan alteraciones directamente en los tejidos del periodonto. Entre éstas, se encuentran: la colagenasas o gingipains, que actúa sobre el colágeno del ligamento periodontal y hueso alveolar; las enzimas tríplicas, que lo hacen sobre el colágeno alterado; hialuronidasa, que actúa sobre el ácido hialurónico del tejido favoreciendo la difusión del microorganismo; fosfatasa ácida y alcalina, que determinan la pérdida del hueso alveolar, y otras enzimas como fosfolipasa A, heparinasa, desoxirribonucleasa, condroitinsulfatasa, gelatinasa y queratinasa, que de alguna manera contribuyen a la destrucción tisular ¹⁰.

CÁPSULA

Uno de los mayores antígenos de superficie es la cápsula, que consiste en un heteropolímero polisacárido de más de 15 nm, el cual rodea por fuera a la membrana. Basados en la antigenicidad del antígeno polisacárido K de la cápsula se ha caracterizado seis serotipos de antígenos K (tabla I).¹⁵

Las cepas 381 y ATCC (American Type Culture Collection (véase el glosario)) 33277 de *Porphyromonas gingivalis* son considerados antigenonegativos K ya que carecen de respuesta a anticuerpos dirigidos contra esta proteína y las cepas de 381 carecen de la capa capsular de polisacáridos lo cual ha sido determinado por microscopía electrónica y por análisis de contraste de fase. La cápsula de *Porphyromonas gingivalis* A7A1-28 ha demostrado ser distinta inmunoquímicamente ya que los lipopolisacáridos, contienen galactosamina, glucosamina, ácido galactosaminurónico y glucosa, y tiene un alto contenido de aminoácidos.

Se ha demostrado¹⁵ que en pacientes con periodontitis crónica se puede encontrar antisuero para los seis serotipos antígenos K y del isotipo de inmunoglobulina G (IgG) que reaccionó casi exclusivamente con IgG₂. Además los serotipos K1 (cepa W50), K2 (cepa HG 184) y K6 (cepa HG1691) son las que reconocen más frecuentemente. La cápsula de *Porphyromonas gingivalis* es un factor de virulencia importante tal como las muestras representativas de los seis serotipos antígeno-positivos K que han mostrado ser una causa importante de invasión causando lesiones ulcerativas extensas en modelos de murinos, donde los antígenos K negativos son encontrados solo en abscesos localizados. *Porphyromonas gingivalis* puede inhibir la proliferación de los fibroblastos de la unión del ligamento periodontal, y prolongadas exposiciones a los polisacáridos capsulares alteran las propiedades de la superficie de la raíz de los dientes que disminuyen la habilidad de los fibroblastos para adherirse.

Cepas encapsuladas de *Porphyromonas gingivalis* K1 (W50) y K2 (HG184) son más resistentes a la fagocitosis por polimorfonucleares que las muestras

de la cepa 381 K- negativas. El detrimento en la habilidad para activar la vía alterna del complemento e incrementar la hidrofobicidad de las células debido a los polisacáridos de la cápsula son mecanismos propuestos para cada *Porphyromonas gingivalis* encapsulada para la resistencia a la fagocitosis. ¹⁵

Tabla I. Características de los serotipos capsulares ¹⁵			
CEPA	SEROTIPO CAPSULAR	SEROTIPO FIMBRIAL	SEROTIPO DE MEMBRANA EXTERNA
W50	K1	V	C
W83	K1	V	C
HG184	K2	-	-
A7A1-28 (ATCC53977)	K3	II	B
ATCC 49417	K4	II	-
HG 1690	K5	-	-
HG 1691	K6	-	-
381	K-neg ^b	I	A(D) ^c
2561 (ATCC 33277)	K-neg ^b	I	A
FAY 19m-1	-	III	-
9-14K1	-	IV	-

LIPOPOLISACÁRIDOS

El lipopolisacárido (LPS) es un polímero complejo con restos de ácidos grasos como parte lipófila y cadenas características de oligosacáridos y polisacáridos, que se sitúan desde la membrana interna hacia fuera. Forman colectivamente entorno al protocito una capa protectora hidrófila que no puede ser atravesada por moléculas lipófilas.

Actualmente, y a pesar de su complejidad, se conoce la estructura química de algunos tipos de LPS. El polisacárido consta de dos porciones, el núcleo polisacárido propiamente dicho y el polisacárido O. El polisacárido O está unido al centro o núcleo y consta generalmente de galactosa, glucosa, ramnosa y manosa (todos ellos, azúcares de seis carbonos) así como uno o más dideoxiazúcares poco frecuentes como abecucosa, colitosa, paratosa o tivelosa. Estos azúcares están unidos entre sí formando secuencias de cuatro o cinco unidades que a menudo se hallan ramificados. La repetición de estas secuencias de azúcar da lugar a la formación del polisacárido O. La parte lipídica del lipopolisacárido, conocida como lípido A, es un la conexión de los ácidos grasos a un disacárido compuesto de N-acetilglucosamina fosfato que se hace mediante uniones de éster amina. El disacárido está unido al núcleo de polisacáridos O a través del KDO. Entre los ácidos grasos que se hallan habitualmente en el lípido A están el ácido caproico, laúrico, mirístico, palmítico y esteárico. En la membrana externa, el LPS se asocia a varias proteínas para formar la mitad *externa* de la estructura de unidad de membrana. En la cara *interna* de la membrana externa de algunas Bacteria Gram negativas se encuentra el complejo de lipoproteína. Esta lipoproteína es una proteína pequeña (7200 Dalton de peso molecular), que sirve de anclaje entre la membrana externa y el peptidoglicano. En la lámina externa de la membrana externa, el LPS sustituye a los fosfolípidos que predominan en la lámina interna.

Los receptores semejantes a Toll (TLRs) son los principales encargados del reconocimiento de las células inmunes naturales. TLRs reconoce la

estructura microbiana y transmite esta información en la célula, finalizando en una respuesta inflamatoria de las citoquinas y en la expresión co-estimuladora de la molécula implicada en la inducción de la inmunidad adaptativa. TLR4, junto con los receptores de membrana CD14 y otras moléculas del huésped, reconocen los patrones moleculares patógeno-asociados tales como LPS de bacterias entéricas Gram-negativas. TLR2, junto con TLR1/6, reconoce los peptidoglicanos Gram-positivos. TLR2- y las células de TLR4-positivas infiltran la mucosa oral en la salud y la enfermedad periodontales, pero muy poco se entiende sobre los patrones totales de la expresión de patrones de reconocimiento a receptores (PRRs) en la mucosa oral humana en salud y en el periodontitis crónica y cómo regulan sensibilidad inmune local. Mientras que los monocitos y macrófagos expresan en su constitución TLRs, la evidencia reciente indica que la expresión de TLR puede ser cambiar por la exposición repetida a los LPS, dando por resultado una disminución en la modulación de la respuesta inflamatoria del citoquinas ¹⁶.

Varios estudios han reportado que el LPS de *Porphyromonas gingivalis* es un importante antígeno en la respuesta inmune del huésped ¹⁵. El LPS es un antígeno mayor de *Porphyromonas gingivalis* ya que reacciona con el suero de pacientes que contienen el anticuerpo IgG₂. El LPS de *Porphyromonas gingivalis* carece de heptosa y ácido β -hidroxidecanoico típicamente encontrado en LPSs clásicos de enterobacterias, pero exhibe la forma típica S (suave) quimiotipo de LPS. El 2-keto-3-deoxioctonato presente en el LPS de *Porphyromonas gingivalis* no se parece a otros LPSs de bacterias Gram-negativas. Está fosforilado (en la posición C7 o C8) y es estructuralmente esencial para la unión del componente polisacárido.

El componente lípido A del LPS de *Porphyromonas gingivalis* contiene altas cantidades de cadenas iso-ramificadas e hidroxiacidos grasos y cadenas de alcanos. La estructura química de el lípido A de cepas 381 es una

glucosalina- β (1-6) disacárido-1-monofosfato acilado con 3-hidroxi-15-ácido metilhexadecanoico en las posiciones 2 y 2' respectivamente.¹⁵

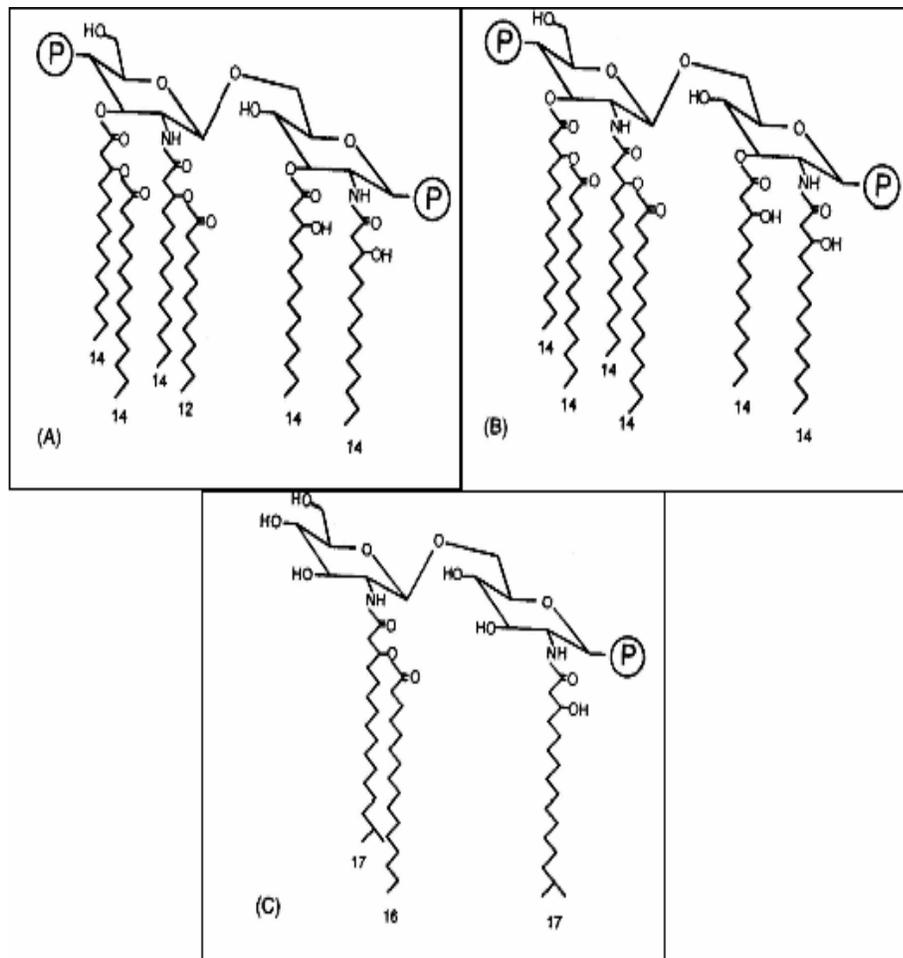


Figura 11. representación del lipopolisacárido de (A) *Escherichia coli*, (B) *Actinobacillus anomicentemcomitans* y (C) *porphyromonas gingivalis*¹⁷

La estructura química del polisacárido O del LPS de *Porphyromonas gingivalis* ha sido estudiado en las cepas ATCC 53978 y W50 las cuales muestran estructuras únicas y diferentes composiciones químicas. La estructura química de el O-polisacárido de capas ATCC 53978 es un tetrasacárido que repite unidades de $\rightarrow 4$ - α -L-Rhap-(1 \rightarrow 3)- α -D-Galp-(1 \rightarrow 3)- α -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- GlcNAc y el O-polisacárido de la cepa W 50 es un tetrasacárido de $\rightarrow 6$ - α -D-Glcp (1 \rightarrow 4)- α -L-Rhap-(1 \rightarrow 3)- β -D-GalNAc (1 \rightarrow 3)- α -D-Galp donde la α -ramnosa no está fosforilada estequiométricamente con

monofosfoetanolamina. Esas diferencias e inusuales modificaciones de los antígenos O del LPS de *Porphyromonas gingivalis* entre cepas y con lipopolisacáridos Gram-negativos clásicos tienen importantes implicaciones para las propiedades inmunogénicas del LPS de *Porphyromonas gingivalis* y en la patogénesis de la enfermedad.¹⁵

El LPS de *Porphyromonas gingivalis* induce una variedad de citoquinas como interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6 e IL-8 en respuesta a la incubación con el LPS de *Porphyromonas gingivalis*. El componente lípido A es la parte biológicamente más activa en la inducción de IL-6 en fibroblastos humanos y en la línea celular de los macrófagos. La inducción y estimulación de fibroblastos gingivales humanos para expresar y secretar IL-6 por efecto del LPS de *Porphyromonas gingivalis* es engrandecida por la inducción simultánea e IL-1 β . El LPS de *Porphyromonas gingivalis* puede estimular la secreción de una gran cantidad de IL-6 en fibroblastos gingivales aislados de pacientes con periodontitis en comparación con los fibroblastos obtenidos de pacientes sanos.¹⁵

Los mecanismos por los cuales el LPS de *Porphyromonas gingivalis* estimula la secreción de IL-6 en fibroblastos se cree que no es por asociación con CD14 sino por la asociación a los TLRs porque se encontró que el tratamiento con anticuerpos anti-TLR-4 inhiben la expresión de IL-6. Además, los fibroblastos gingivales humanos con altos niveles en su superficie de TLR-4 expresan altos niveles de IL-1 e IL-6 en respuesta a la estimulación con LPSs de *Porphyromonas gingivalis* comparados con fibroblastos que expresan bajos niveles de TLR-4 en su superficie.¹⁵

La combinación de LPSs y nicotina tiene un efecto sinérgico sobre la expresión de IL-6 e IL-8 en fibroblastos gingivales humanos. Por lo tanto una combinación de LPSs bacterianos y la presencia de nicotina proveniente del tabaco son un conocido factor de riesgo para periodontitis, que provee de un ambiente que conduce a la estimulación citoquinas pro-inflamatorias y la potenciación de la enfermedad. Tal como se estimula las citoquinas

inflamatorias de fibroblastos que fueron tratados con LPSs de *Porphyromonas gingivalis* se induce la secreción de óxido nítrico, factor de necrosis tisular- α (TNF- α), prostaglandina E₂ (PGE₂) e IL-1 de macrófagos humanos. El LPS de *Porphyromonas gingivalis* estimula esas citoquinas en un nivel similar en macrófagos aislados que *Escherichia coli* con LPS, en macrófagos de ratones y que en *Escherichia coli* que carece de LPS. Eso nuevamente demuestra que el LPS de *Porphyromonas gingivalis* se une a TLRs y no a CD14 incluso los macrófagos son estimulados por LPSs de *Porphyromonas gingivalis* via TLR-2 para secretar citoquinas ¹⁵.

Los neutrófilos expuestos al LPS de *Porphyromonas gingivalis* muestran un incremento en la expresión de factores de transcripción de los factores NF- κ B y AP-1 y un aumento en la expresión de la citoquina proinflamatoria IL-8. La estimulación de la secreción de IL-8 de los neutrófilos es parcialmente inhibida con anticuerpos antiCD14 indicando que el LPS de *Porphyromonas gingivalis* estimula la expresión de citoquinas inflamatorias en neutrófilos por las dos vías ¹⁵.

Células dendríticas estimuladas con lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* sin madurar sobre-regulan moléculas accesorias y secretan IL-1 β , PGE₂, IL-10 e IL-12. Esas células dendríticas demostraron tener reducida habilidad para estimular la proliferación de células T cooperadoras *in vitro* con un reducido incremento de IFN- γ y previenen la polarización de células T cooperadoras *in vivo*. El LPS de *Porphyromonas gingivalis* contra-regula citoquinas de células dendríticas y células T cooperadoras de manera que se sobregulan y co-estimulan moléculas produciendo citoquinas inflamatorias IL-6 y TNF- α . De cualquier modo el LPS de *Porphyromonas gingivalis* estimula células T cooperadoras para que secreten altos niveles de citoquinas de células T cooperadoras IL-13, IL-15 y la citoquina reguladora de células T cooperadoras IL-10. La habilidad del LPS de *Porphyromonas gingivalis* para contra estimular las citoquinas de células no mieloides, mieloides y linfoides

usando diferentes receptores celulares podría ayudar en la desregulación de la respuesta inmune del huésped y la exacerbación de la enfermedad.¹⁵

En modelos de periodontitis el LPS de *Porphyromonas gingivalis* es un potente inductor de resorción ósea por la estimulación de IL-1 α y β locales. La interacción del LPS de *Porphyromonas gingivalis* con CD14 en osteoclastos induce la expresión de IL-1 β e IL-6, los cuales actúan en conjunto y activan las células para iniciar la resorción ósea. El receptor de IL-1 y de TNF activan al osteoclasto después de su estimulación de LPS de *Porphyromonas gingivalis* a altas dosis pero no a bajas dosis. Además el LPS de *Porphyromonas gingivalis* promueve la diferenciación de osteoclastos aislados *in vitro* del LPS con respuesta que del LPS sin respuesta indicando que *Porphyromonas gingivalis* puede activar osteoclastos por una vía aparte que la de CD14. Así LPS de *Porphyromonas gingivalis* de alta masa molecular induce mayor pérdida de hueso que el de bajo peso molecular.

Existen otras moléculas sensibles al calor que tienen un gran papel en la activación de osteoclastos para promover la resorción ósea. Esos resultados podrían explicar la presencia de LPSs asociados a proteínas en las preparaciones de LPS. El LPS de *Porphyromonas gingivalis* y el lípido A inducen la apoptosis en células T y B expresando inmunoglobulinas IgA y CD5 además de activar a linfocitos y nodos linfoides, bazo y timo. Tomando en cuenta esos datos podemos decir que el LPS de *Porphyromonas gingivalis* induce la resorción ósea y estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias en células mieloides y no mieloides e inhiben la apoptosis de esas células importantes en la respuesta inmune innata, así la respuesta inmune adaptativa esta desregulada por estimulación de la liberación de citoquinas contraregulatoras de diferentes células linfoides e incrementan la apoptosis en células linfoides activadas.¹⁵

FIMBRIAS

Son estructuras que están asociadas a la superficie de la bacteria y que participan en la adherencia bacteriana, se encuentran distribuidas irregularmente a lo largo de la célula.

La adherencia bacteriana es el primer paso y fundamental en el inicio de todo proceso infeccioso. Este proceso requiere de la participación de 2 factores: receptor y adhesina (responsable de la adherencia).

Etapas de la adherencia:

- Unión reversible: donde participan fuerzas de atracciones no específicas: interacciones hidrofóbicas, atracción electrostática, movimiento browniano.
- Unión irreversible: uniones específicas. La especificidad depende del receptor.

Evidencias que comprueban la especificidad de la adherencia bacteriana

- Tropismo celular: las bacterias eligen las células en las que se van quedando, donde encuentran receptores a los cuales unirse. Así, hay lugares donde encontrar *Streptococcus mutans* (superficie de los dientes), *Streptococcus salivarius* (principalmente en la superficie de la lengua).
- Especificidad de especie: hay especies bacterianas patógenas exclusivamente para el hombre y otras de patogenicidad mixta.
- ⇒ Especificidad genética dentro de una especie.

Estructuras con función de adhesinas

- Fimbria: filamento proteico localizado en la superficie de la bacteria que participa en la adherencia específica. Permite localizar el receptor. Sin esta estructura la bacteria deja de ser patógena. Es el mecanismo más importante en las bacterias Gram negativas como *Porphyromonas gingivalis*.
- Glicocalix: importante en Gram positivas (Ej: streptococcus). Es una matriz extracelular de naturaleza polisacárido que da un aspecto de mucosidad. Se encuentra rodeando la bacteria formando un tapiz. Es

importante en la formación de biofilm o biopelículas que van tapizando los epitelios; las bacterias que se encuentran formando parte de los biofilm son más resistentes a los antibióticos. Esto ocurre en la fibrosis quística, donde las bacterias van tapizando la superficie de los pulmones. (exopolisacárido)

- Lipopolisacárido: componente de la pared celular de bacterias Gram negativas. Probablemente actúe como adhesina.
- Ácidos teitoicos y ácidos lipoteitoicos: componente de la pared celular de bacterias Gram positivas, favorecen los procesos de adherencia no específica.

Fimbrias tipo específico están involucradas en la aglutinación célula-célula, como antígenos, así como en la aglutinación de eritrocitos (Tabla II).

Tipo I	Son capaces de aglutinar eritrocitos de pollo en ausencia de D-manosa. No producen la aglutinar estas células en presencia de carbohidratos
Tipo II	No hemaglutinan eritrocitos.
Tipo III	Aglutinan eritrocitos cuando son tratados con ácido tánico.
Tipo IV	Aglutina eritrocitos en gránulos gruesos y poco a poco los sedimenta
Tipo V	
Tipo VI	
Tipo VII	Es más grueso y largo que los demás, es llamado pili sexual

Porphyromonas gingivalis

Presenta propiedades heterogénicas que fueron analizadas originalmente en modelos animales. La virulencia de *Porphyromonas gingivalis* es generalmente evaluada en relación con el tamaño del absceso o por la severidad de las lesiones epiteliales. En estos estudios muchas cepas de *Porphyromonas gingivalis* se han clasificado como avirulentas o no invasivas (como ATCC 33277, 381, 2561 y HG1694) o virulentas e invasivas (ATCC 53977, A7A2-10, HG1690 y W83) ^{18, 19, 20}.

Hasta el momento no ha sido elucidado cuales son los factores que regulan la expresión de los factores de virulencia. Sin embargo, parecen ser más virulentas e invasivas las cepas encapsuladas. Existen seis serotipos de natígeno K que van de K1 a K6 (tabla I) asociados a la patogenicidad en modelos animales^{21,22}.

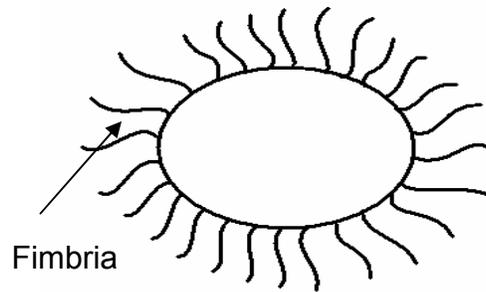


Figura 12. Representación de las fimbrias de *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis expresa un número potencial de factores de virulencia que contribuyen a la patogénesis de la enfermedad periodontal. Entre ellos, se encuentra la fimbria mayor, que es un componente filamentoso de la superficie celular y que actúa como un agente de interacción en los tejidos mediando la adhesión bacterial y la colonización en los sitios blanco²³.

Las fimbrias son altamente antigénicas en pacientes con periodontitis crónica y agresiva que exhiben altos niveles de anticuerpos IgA e IgG, predominantemente un isotipo IgG3 que es un antígeno fimbrial y que no se encuentra presente en individuos sanos. Las fimbrias son rizadas, en filamentos de una sola hebra de 5nm de diámetro y están compuestas de fibrilina (subunidad fimbrial), una proteína de 43-kDa codificada por el gen *fimA*. Actualmente se han descrito 5 tipos fimbriales de *Porphyromonas gingivalis* (tipos I-V) clasificados según su antigenicidad, (tabla 1)¹⁵.

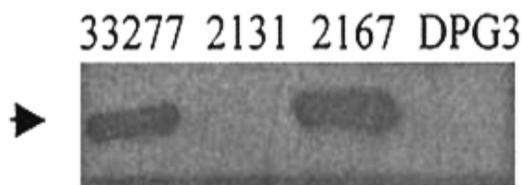


Figura 13. Análisis Western blot para la producción de fibrilina de *Porphyromonas gingivalis* cepas 33277, 2131, 2167, y DPG3 (usados por ELISA) resueltos por SDS-10% PAGE, transferidas a membras de nitrocelulosa y probadas con anticuerpor antifibrilina. La flecha indica una banda de fibrilina aproximadamente de 45 kDa²⁴.

Estos 5 genotipos (I, II, III, IV, V) están basados en sus secuencias de nucleótidos, es el factor de virulencia más importante involucrado en las interacciones bacterianas y con el huésped. Recientemente, se ha demostrado una fuerte relación entre cepas de *Porphyromonas gingivalis* que poseen genes *fim A* tipo II-IV con la periodontitis crónica en el adulto y la progresión de la enfermedad.

La fimbria mayor es capaz de asociarse específicamente a varios tipos celulares, como células epiteliales, endoteliales, de bazo y monocitos lo que conduce a la liberación de IL-1, IL-6, IL-8 y el TNF- α ^{25, 26}, así como moléculas de adhesión, como la molécula de adhesión-I (ICAM-I), molécula de adhesión vascular-I (VCAM-I) y selectinas P y E ^{27, 28}. De igual forma la fimbria mayor ha mostrado ser necesaria para la invasión bacteriana ²⁹.

Se ha estudiado la variación clonal de fimbria mayor (Fim A) y del gene *fimA* que codifica para esta proteína con el propósito de establecer la diversidad en la virulencia de esta bacteria. Lee ³⁰ encontró que la variación en la proteína Fim A se divide en cuatro grupos de acuerdo a las diferencias que se presentan en el extremo amino terminal de esta proteína. Y los genes han sido divididos en seis variantes (tipo I a V y Ib) de acuerdo a las diferencias en el gene *fim A* ^{31, 32, 33}.

La cepas que se evaluaron como virulentas / invasivas contienen un amplio número de de *fim A* tipo II y son las siguientes: ATCC 53977, A7A2-10, HG1690, HG 184 y HW24D1 y cepas *fim A* tipo IV se encuentran W50, W83

y 9-14K-1. En contraste las cepas avirulentas expresan *fim A* tipo I son ATCC 33277, 381, 2561, 1432 y 1112. La tabla siguiente muestra los genes candidatos de que codifican fibrilina.

Tabla III. Genes que codifica fimbrias ³⁴			
Identificación del gen	Nombre del Gen	Definición	Longitud
PG0161	Mfa1	Fragmento de proteína de la superficie celular	351
PG0163	Pga67 mfa1	fimA de 67kDa fibrilina/PGA67/menor	1383
PG1865	fimA	Fibrilina importante A	1164
PG1864		antígeno del kDa 60	1470
PG0916		proteína hipotética conservada (TPR)	1344
PG1893		antígeno PG123 inmunoreactivo de 53 kD	1437

El gen principal del fibrilina en *Porphyromonas gingivalis*, PG1865, es fimA. Es similar al resto de las fimbrias conocidas pero puede ser clasificado como fibrilina del tipo IV. Existen diferentes tipos, pues existen diversas cepas de *Porphyromonas gingivalis* y a su vez existen diversos tipos de fimbrias aunque existen muchas similitudes entre ellas.



Figura 14. La imagen siguiente demuestra la ubicación del gen PG1865 para fimA en la cepa W83. El azul indica el gene está codificando en el filamento mayor, el verde indica que el gen está codificado en el filamento menor y el gris es una región intergénica.³⁴

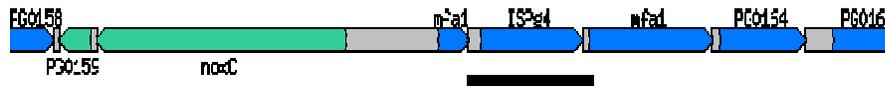


Figura 15. El mapa del gen demuestra la relación local de estos dos genes en la cepa W83 (ambos llamados mfa1) con la secuencia ISPg4 de la inserción que interviene. La barra negra indica un elemento de la repetición. Aparece como si la secuencia de la inserción haya interrumpido el gen mfa1.³⁴

Las fimbrias de *Porphyromonas gingivalis* son consideradas importantes para la adhesión de las bacterias a los tejidos del huésped. Las fimbrias de las cepas 381 y ATCC 33277 (tipo fimbrial I) son esenciales para la unión e invasión de células epiteliales y fibroblastos. Además que fimbrias mutantes de *Porphyromonas gingivalis* 381 y ATCC 33277 han mostrado capacidad reducida o nula para invadir células epiteliales y fibroblastos. Existen evidencias contradictorias para la adherencia e invasión del células del epitelio y fibroblastos de cepas de *Porphyromonas gingivalis* W50 y W83 con escasas fimbrias, a pesar de eso también se ha demostrado que es posible la adhesión a células del huésped por parte de *Porphyromonas gingivalis* con todos los tipos fimbriales aunque esta es mayor con el tipo I y II. ¹⁵

Se ha sugerido que la adhesión e invasión de células epiteliales está mediada por la interacción entre fimbrias y una molécula integrina $\alpha 5\beta 1$ que es un receptor de superficie. También es posible que se una a la citoqueratina en la superficie de células epiteliales lo cual es de gran importancia para la invasión de la mucosa oral por *Porphyromonas gingivalis*.

La invasión activa de células endoteliales por *Porphyromonas gingivalis* mediada por fimbrias estimula la expresión de moléculas de adhesión de la superficie celular ICAM-1, VCAM-1, selectinas P y E. Lo que provoca el reclutamiento de leucocitos en el sitio y aumenta la respuesta inflamatoria. Se ha demostrado que las fimbrias de *Porphyromonas gingivalis* estimulan la secreción de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , factor quimiotáctico KC, y MCP-1 de macrófagos y fibroblastos y TNF-, IL-6 e IL-8 de polimorfonucleares ¹⁵. La inducción de IL-1 β y TNF- α en macrófagos por *Porphyromonas gingivalis* es por estimulación de la unión de fimbrias a integrina $\beta 2$. Similarmente las células TPH-1 (línea celular de macrófagos humanos) incubados con FimA recombinante producen citoquinas inflamatorias por la vía CD14-TLR4 y señales al receptor integrina $\beta 2$. Las *Porphyromonas gingivalis* con fimbrias menores con FimA diferente inducen la secreción de citoquinas proinflamatorias de células TPH-1 vía TLR-2. Además, la estimulación

fimbrial de células epiteliales para la secreción de IL-8 y NF- κ B se cree que es por vía TLR-2. La estimulación de la secreción de IL-1 y factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) por *Porphyromonas gingivalis* estimula la resorción ósea en ensayos con hueso calvario embrionario por activación de osteoclastos.¹⁵

La inmunización con péptidos fimbriales y fimbrilina de 43 kDa protegen contra las cepas 381 de *Porphyromonas gingivalis* en modelos de ratas con periodontitis. Esto se da porque se induce una respuesta por parte de IgA contra la toxina, esos anticuerpos inhiben el ataque de cepas 381 de *Porphyromonas gingivalis* impidiendo la colonización en el surco gingival, por lo que no causan pérdida de hueso alveolar por acción de fimbrias de cepas W50 (tipo V fimbrial), A7A1-28 (tipo II fimbrial) y DPG3, un mutante sin fimbrias de la cepa 381 y ATCC 33277, pero no contra los tipos fimbriales II, III y V. Por lo que es posible pensar que las cepas de *Porphyromonas gingivalis* con el tipo I fimbrial puede ser menos virulento, como el tipo I fimbrial previene la colonización de la bacteria.¹⁵

Fimbrias menores

La fimbria mayor fue determinada en 1984 por Yoshimura³⁵ y posteriormente una estructura fimbrial secundaria se encontró en 1996³⁶ las fimbrias menores están codificadas en el gene *fimA* de cepas mutantes ATCC 33277. La subunidad proteica de fimbria menor (Mfa1) codificada en el gene Maf I ha mostrado ser diferente en tamaño (67 kDa en contraste con 41 kDa la subunidad de la fimbria mayor) y en antigenicidad en relación a la fimbria mayor^{37, 38, 39}.

El mutante *fimA* muestra una reducción en el potencial de adherencia en hidroxiapatita humedecida en saliva, células epiteliales de la encía y fibroblastos. Así como en la capacidad de resorción ósea y en modelos de ratones infectados. Por otra parte *Porphyromonas gingivalis* de ATCC 33277 induce IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y TNF α en macrófagos peritoneales³⁸.

La presencia de más de un tipo de fimbrias en *Porphyromonas gingivalis* han sido recientemente descubiertas, por medio de microscopía electrónica con muestras inactivadas de *FimA* se ha revelado que además de las fimbrias mayores, *Porphyromonas gingivalis* posee pequeñas fimbrias, esas estructuras llamadas fimbrias menores son compuestas por proteínas de 67 kDa que son antigénicamente distintas de la fimbrilina producida por *fimA*. Otras fimbrias de distinta estructura fueron detectadas por microscopía inmuno-electrónica. Estas fimbrias están constituidas por unidades de una proteína de 72-kDa la cual ha sido llamada pg-II. Sus relaciones y funciones aún están siendo estudiadas.⁹

ENZIMAS EXTRACELULARES

Porphyromonas gingivalis produce una variedad de proteinasas serinas con habilidad de degradar proteínas del huésped como inmunoglobulinas, colágena tipo III, IV, V, y/o gelatina, factores del complemento, fibrinógeno, fibronectina, laminina, además de otras moléculas en el huésped, por lo que pueden así mismo obtener sus alimentos y modular la respuesta inmune.

Antes de que los genes fueran codificados, clonados y secuenciados, las enzimas proteolíticas que fueron purificados o semipurificados de extractos de la superficie celular o del medio de cultivo fueron llamados de diversas maneras, tales como gingivain, gingipain y argingipain todas descritas como proteinasas Arg-X- específicas las cuales eran probablemente idénticas. Así se ha propuesto que los genes que codifican enzimas Arg-X son diseñadas por *rgp* y las enzimas Lys-X son diseñadas por *kgp*.⁹

rgp comprende dos tipos de enzimas *rgpA* y *rgpB* estas se unen a proteínas de los residuos de la arginina y son codificados por dos genes similares *rgpA* y *rgpB*; mientras que *kgp* se une a proteínas de los residuos de lisina. *rgpA* y *rgpB* proporcionan a *Porphyromonas gingivalis* actividad semejante a tripsina, mientras que *kgp* juega un importante rol en la adquisición de hierro por unión a hemoglobina. Esas propiedades afectan fuertemente en la virulencia de este microorganismo.⁴⁰

Proteinasas como medio de obtención de nutrientes

La habilidad de *Porphyromonas gingivalis* para colonizar y proliferar depende de diversos factores tanto del huésped, el ambiente y el patógeno, los cuales son esenciales para su desarrollo. Ahora bien una vez establecida, requiere de nutrientes para su crecimiento, ya que sin los cuales no puede subsistir, ahora bien es sabido que la fuente nutricional principal de *Porphyromonas gingivalis* es el hierro, sin el cual no puede mantenerse ni mucho menos crecer.

Diferentes porciones de Kgp y RgpA pueden unirse a hemoglobina, hemina y protoporfirina IX (PPIX). Kgp degrada hemoglobina, hemopexina,

haptoglobina y transferrina. El análisis genético confirma que Kgp utiliza hemoglobina y hemina. Kgp y el receptor HmuR funcionan juntos para transportar hemina de hemoglobina en *Porphyromonas gingivalis*.⁴⁰

Recientemente se identificó un receptor para hemina y hemoglobina en *Porphyromonas gingivalis* cepa A7436 (HmuR), el cual exhibe un alto grado de similitud con el receptor de hemina y hemoglobina TonB presente en varias bacterias Gram-negativas. Un mutante de *Porphyromonas gingivalis* *hmuR* exhibe disminución en la habilidad de unión hemoglobina y su crecimiento es por la proteína hemina pues es su única fuente de hierro.⁴¹

El receptor HmuR se une a hemoglobina, hemina y varias metaloporfirinas *in vitro*. HmuR recombinante se une a un complejo de hemopexina y albúmina sérica y a un complejo de haptoglobina con hemoglobina pero tiene baja afinidad por hemoglobina sola.⁴¹ El hierro, cobre y zinc derivados de PPIX se unen a HmuR con similar afinidad y más estrechamente que la PPIX misma, sugiriendo así que el sitio activo de HmuR es una histidina que se une a iones metálicos presentes en el anillo porfirina.⁴⁰

Kgp y RgpA se unen selectivamente a porfirinas aproximadamente tal como corresponde a metaloporfirinas indicando que la unión de Kgp y RgpA a esos compuestos no requieren metal presente en el anillo porfirina.⁴⁰

Tres genes de *Porphyromonas gingivalis* (*hemR*, *tlr* y *ihfA*) tienen homología al gen que codifica el receptor TonB. El modo en que los productos de los genes *hemR*, *tlr* y *ihfA* se unen y utilizan heme o hierro no es claro aún.⁴¹

Sabemos que *Porphyromonas gingivalis* puede utilizar varias fuentes diferentes de hierro para crecer incluyendo hemina, hemoglobina, y transferrina, de las cuales la hemoglobina es la más efectiva como fuente de crecimiento, a pesar de ello, bajo condiciones fisiológicas libres de hemoglobina o hemina, se puede mantener eficientemente por haptohemoglobina y hemopexina respectivamente. *Porphyromonas gingivalis* puede utilizar hemoglobina unida a haptohemoglobina y hemina unida a

hemopexina, a pesar de ello el mecanismo por el cual la hemo es liberada de esas proteínas no ha sido definido.⁴¹

Las gingipains solubles pueden degradar las proteínas del huésped que se unen al hierro de heme, hemoglobina, haptoglobina, hemopexina y transferrina de las cuales Kgp es la más efectiva.⁴¹

Las gingipains R poseen actividad piro de hemoglobinas, similarmente, Kgp fue más activa que las gingipains R en la degradación de haptoglobina, hemopexina y transferrina en suero humano, mientras que para que las gingipains Arg-específicas: RgpA y RgpB se unan a esas proteínas séricas para su degradación efectiva su concentración debe ser de 5 a 10 veces más alta que la requerida por Kgp⁴¹.

Cuando las gingipains son embebidas en la membrana, la exposición de la porción catalítica y hemaglutínica podría que difiera a los resultados cuando las proteínas están en su forma soluble. Alternativamente es posible que las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* pueden usar la hemoglobina unida a haptoglobina durante su crecimiento⁴¹.

La utilización de hemoglobina en *Porphyromonas gingivalis* A7436 requiere ambos receptores de membrana: HmuR y Kgp. Kgp es sintetizada como una poliproteína precursora que es exportada a la superficie, la actividad de kgp en suero humano podría ser completamente funcional por la ausencia de algún inhibidor de Kgp que pudiera restringir la degradación de heme contenido en las proteínas en suero, en contraste, la actividad de las gingipains R puede ser parcialmente limitada por una α_2 -macro-globulina en suero humano⁴¹.

Aunque el ambiente en las bolsas periodontales durante una infección gingival no está plenamente conocido, la inflamación y el daño a los tejidos puede resultar en la alteración de suministro de nutrientes; cuando el fluido crevicular aumenta y hay sangrado, la habilidad de las proteínas para captar heme puede aumentar resultando en el enriquecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, la habilidad de adquirir hemoglobina de los eritrocitos es de

particular importancia para la supervivencia de *Porphyromonas gingivalis* *in vivo*⁴¹.

Los complejos de proteinasa-hemaglutinina de Kgp podrían ser importantes para adquirir heme por unión y subsecuente degradación. La habilidad de *Porphyromonas gingivalis* para una unión eficiente y degradar heme contenida en proteínas del huésped representa un mecanismo adicional de adaptación por este patógeno para satisfacer su crecimiento y proliferación⁴¹.

La gingipain K, Lys-específica de *Porphyromonas gingivalis* (Kgp) y gingipain R1 Arginina-específica (RgpA) fueron purificadas como un complejo nanocovalente de el dominio catalítico asociado con cuatro cadenas polipeptídicas derivadas de el dominio hemaglutinina. Esas gingipins se encuentran en la matriz extracelular en formas de asociación en membrana. En contraste la Kgp y HRpgA, una gingipain Arg-específica secundaria R2 (RgpB), contiene sólo un dominio catalítico y no requiere el uso de heme y hemoglobina ⁴⁰.

Proteinasas como medios de adhesión

La Arg-X y Lys-X son proteinasas extracelulares específicas asociadas a la adhesión ya que le dan alta antigenicidad. Tres genes codifican la mayoría de proteinasas extracelulares, con actividad de Arg-X y Lys-X, esos son *rgpA*, *rgpB* y *kgp*. RgpA codifica una proteinasa Arg-X con una extensión terminal-C de adhesina. *rgpB* codifica una proteinasa Arg-X sin extensión en el carboxilo terminal y *kgp* codifica una proteinasa Lys-X con extensión de adhesina en el carboxilo terminal la cual está relacionada con las adhesinas *rgpA* ¹⁵.

Las proteinasas codificadas por *rgpA* y *kgp* de la cepa W50 forma complejos de asociación de superficie no covalente de proteinasas y adhesinas creadas por el complejo proteinasa-adhesina *RgpA-kgp*, formando el complejo de proteinasa-adhesina PrtR-PrtK. El complejo RgpA-Kgp de *Porphyromonas gingivalis* cepa W50 está caracterizado por una proteinasa Arg-X-específica

de 45 kDa (RgpA45) asociada con cuatro secuencias de adhesina, RgpA44, RgpA15, RgpA17 y RgpA27 todos codificados por *rgpA*. El complejo RgpA-Kgp es caracterizado también por una proteinasa Lys-X-específica de 48 kDa asociada con tres secuencias de adhesina Kgp39, kgp15 y kgp44, todas codificadas por *kgp*. La adhesina Kgp44 es procesada proteolíticamente en 3 subunidades de 14 kDa, 13kDa y potencialmente se asocia a un lipopolisacárido de 20 kDa con una subunidad de carboxilo terminal ¹⁵.

La proteinasa cisteína extracelular Arg-X-específica de RgpB no se encuentra asociada con adhesinas pues el gen *rgpB* no codifica adhesinas, ninguna está presente en los dominios catalíticos de RgpA y Kgp. RgpB es una proteína de membrana de 70-84 kDa que está asociada a proteínas con lipopolisacáridos covalentemente unidos en la terminal carboxilo y como una terminal discreta C truncada por una proteína de 50 kDa en el cultivo ¹⁵.

Las proteinasas RgpA/B y Kgp son proteínas abundantes fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis* W50, la actividad proteolítica de Arg-X y Lys-X en *Porphyromonas gingivalis* W50 indica que las proteinasas RgpA/B y Kgp presentes, son aproximadamente 10% de el peso molecular del total de las proteínas producidas por *Porphyromonas gingivalis* W50 bajo condiciones de exceso de Heme¹⁵.

El complejo proteinasa Adhesina RgpA-Kgp es altamente antigénico pues en 92% de los pacientes con periodontitis crónica tiene respuesta a ese complejo por parte del anticuerpo IgG. ¹⁵ Además de existir un incremento en la respuesta de IgG al complejo RgpA-Kgp relacionandolos positivamente con los parámetros clínicos de enfermedad y el porcentaje clínico de bolsas gingivales infectadas por *Porphyromonas gingivalis*. A pesar de ello se encontró que el isotipo de IgG que responde a RgpA-Kgp fue predominante IgG2 e IgG4, y los niveles de esos isotipos difieren con la severidad de la enfermedad. Cuando la severidad de la enfermedad aumenta, también hay un aumento en la respuesta de IgG2 (una citoquina Th-1) y decrece la respuesta de IgG4 (una citoquina Th-2). Las proteinasas inmunodominantes

del complejo RgpA-Kgp tienen una unión no covalente a las adhesinas, en particular RgpA44 y los candidatos potenciales para el desarrollo de una vacuna Kgp39 y RgpA27 se encontraron en suero de pacientes con bajos niveles de enfermedad ¹⁵.

Los dominios catalíticos de las proteinasas tienen determinantes antigénicos inmunodominantes no protectores en las proteinasas que desvían la respuesta inmune de epítopes protectores dirigida contra ellos, esta secuencia de proteinasas puede brindar protección.

Analizando la secuencia de aminoácidos de las proteinasas RgpA y Kgp y sus adhesinas asociadas, han sido identificadas 5 secuencias que se repiten con sustituciones, a través de ambas adhesinas RgpA y Kgp, basados en la similitud de las secuencias repetidas han sido llamadas adhesinas de unión principales. (ABM-1-5), así como los ABM, ha sido identificado un antígeno mayor (EP1) que se obtiene de péptidos sintéticos que representan las adhesinas RgpA27 y Kgp39. Los péptidos sintéticos correspondientes a EP1 y tres de las 5 secuencias de ABM (ABM1-3) cuando son usadas en modelos de murina brindan protección contra *Porphyromonas gingivalis*.

Los tres péptidos sintéticos ABM (ABM1-3) y EP1 que confieren protección existen con un tramo de 120 residuos en las adhesinas RgpA44 y Kgp39 del complejo RgpA-Kgp. Existe inmunización pasiva de humanos con un anticuerpo monoclonal (Mab 61BG1.3) que restringen la colonización de *Porphyromonas gingivalis* en la cavidad oral. El sitio de unión de este Mab fue mapeado usando RgpA44 recombinante a residuos 907-931, los cuales tiene el tramo de 120 residuos mencionados arriba. Parte de la secuencia reconocida incluye la secuencia PVXNLT la cual fue encontrada en ABM1. La misma secuencia ha sido identificada por técnicas de mapeo de epítopes como asociación de hemaglutininas. Estos 120 residuos son relevantes antigénica y funcionalmente por ser una proteína recombinante contra *Porphyromonas gingivalis* ¹⁵.

Se ha demostrado que las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* activan y desregulan la calicreína/quinina y la coagulación por fibrinólisis resultando en una producción incontrolada de los mediadores de la inflamación bradicinina y trombina, que pueden además contribuir a la respuesta inflamatoria inmune. La fagocitosis y otras funciones de los neutrófilos reclutados al sitio de inflamación pueden estar afectadas porque las proteinasas degradan los receptores de la superficie celular *in vitro*. Además se ha reportado que las proteinasas degradan CD14 en la superficie de los monocitos inhibiendo la activación de lipopolisacáridos; y en fibroblastos gingivales humanos disminuye la regulación de lipopolisacárido induciendo la producción de IL-8 ¹⁵.

A pesar de que las proteinasas RgpA/B y Kgp de *Porphyromonas gingivalis* son consideradas los factores de virulencia mayores de esta bacteria, la mayor degradación de los tejidos de huésped no envuelve a esas proteinasas de manera directa sino de manera indirecta por activación de la matriz de proteinasas latentes en el huésped.

Porphyromonas gingivalis degrada el plasma de huésped regulando proteinasas inhibitoria; α -antitripsina, α_2 -macroglobulina, antiqumiotripsina, antitrombina III y antiplasmina. La inflamación en el sitio de infección aumenta por la hidrólisis del factor del complemento C5 ¹⁵.

Se ha reportado que las proteinasas RgpA/B activan receptores proteasa-activados en plaquetas resultando en agregación plaquetaria y en células epiteliales orales induce la secreción de IL-6. La respuesta inmune podría estar desregulada por las proteinasas así como degradar IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Además mutantes espontáneos de *Porphyromonas gingivalis* con actividad de Arg-X y Lys-X reducidas y tipos celulares salvajes tratados con un inhibidor específicos de Arg-X y Lys-X resultan ser antivirulentos en animales. ¹⁵

Se ha sugerido que la actividad de las proteinasas y los dominios de las adhesinas del complejo RgpA-kgp de *Porphyromonas gingivalis* tienen un

papel importante en la unión e invasión de las células epiteliales orales. También se ha reportado que las proteinasas RgpA y Kgp inducen la muerte celular apoptótica en fibroblastos gingivales y epiteliales orales en humanos. Esos estudios sugieren que RgpA, RgpB y Kgp son críticas para la virulencia de *Porphyromonas gingivalis*¹⁵.

Tres genes adicionales (*prtT*, *prtC* y *tpr*) codifican proteasas pero no han sido clonadas y secuenciadas de *Porphyromonas gingivalis*. Esos genes son claramente diferentes de los genes previamente expuestos aquí y no tienen homología en la secuencia con hagA, aunque prtT de la cepa (ATCC 53977) posee una terminal-C que tiene actividad de hemaglutinina pero es diferente a la secuencia de Hag A-D. Este gen codifica una proteína de aproximadamente 99 kDa., esta proteinasa no actúa en el colágeno nativo, quizá esta envuelta en la degradación de colágena aunque en otra etapa. También se ha aislado otra peptidasa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 que es distinta de Tpr, basados en la terminal-N y en la secuencia de aminoácidos.

PROTEÍNA DE SHOCK TÉRMICO GroEL

Cuando un organismo se encuentra en un ambiente de estrés, genera ciertas reacciones, entre las cuales se encuentra la respuesta de shock térmico, en las cuales se encuentran una serie de proteínas denominadas de shock térmico, estas se encuentran en todos los seres vivos, ya sean bacterias, levaduras, plantas y animales.

Un incremento de 5°C en la temperatura normal de la célula inicia la producción de proteínas de shock térmico y cuando este incremento es retirado la célula regresa a su estado normal, sin embargo si no se regula la temperatura a condiciones normales la función protectora de las proteínas de shock térmico se ve diezmada y activa la apoptosis.

La proteína GroEL de shock térmico o heat shock es altamente antigénica y los anticuerpos anti *Porphyromonas gingivalis* GroEL han sido detectados en extractos de tejido gingival. Además se ha demostrado que en una gran proporción de suero de pacientes periodontales se reconoce *Porphyromonas gingivalis* GroEL que en sujetos sanos. Se ha mapeado el epítipo con PEPSCAN de la proteína GRoEL de *Porphyromonas gingivalis* de 60 kDa usando suero de pacientes con periodontitis crónica mostrando que la mayoría reconocieron sólo cuatro epítopes inmunodominantes. Además todos los pacientes reconocieron la secuencia peptídica MQFDRGYISP que es una secuencia homóloga con un epítipo en una proteína de shock térmico 60 (hsp60) con la secuencia MFDRGYISP. Por lo tanto se sugiere que la respuesta del anticuerpo *Porphyromonas gingivalis* GroEL podría cruzar actividad y producir una reacción autoinmune ¹⁵.

Esta proteína estimula a los monocitos periféricos para producir citoquinas Th1 o Th2 o estimular la producción de citoquinas por macrófagos, a pesar de eso esta proteína es antigénica por la reactividad cruzada entre los epítopes de hsp60 y *Porphyromonas gingivalis* GroEL.

HEMAGLUTININAS

Las Hemagglutininas (HA) son glucoproteínas antigénicas que se encuentran en la superficie de bacterias y virus; es la responsable de la unión del agente a la célula infectada, es una proteína que tiene una marcada función de adherencia a las células de la mucosa y facilita la fusión de la envoltura con la membrana del endosoma, provoca además la respuesta de los anticuerpos. El nombre *hematoaglutina* es debido a la capacidad de estas proteínas de provocar aglutinación de los hematíes.

Las HA de adhesión en la superficie celular HA-Ag2, es una superficie antigénica de *Porphyromonas gingivalis* pues en varios pacientes con periodontitis crónica reaccionan con dos proteínas HA-Ag2 con masas 43 a 49 kDa. Además HA-Ag2 es un antígeno común en todas las muestras de *Porphyromonas gingivalis* estudiadas. Anticuerpos específicos contra HA-Ag2 han sido mostrados por inhibir la hemaglutinación y la unión de *Porphyromonas gingivalis* al epitelio. Varios estudios han identificado los genes que codifican estas las hemagglutininas HagA, B, C, D y E ^{15,9}.

Estas proteínas son consideradas factores de virulencia para un gran número de especies, y *Porphyromonas gingivalis* produce 5 moléculas de hemagglutininas. Estas bacterias están en la superficie celular y producen la colonización mediante la unión de los receptores bacterianos (generalmente oligosacáridos) ⁹.

La búsqueda en esas cuatro proteínas ha centrado el interés en HagA y B, sobre todo en HagB como un candidato potencial para una vacuna contra *Porphyromonas gingivalis*, pues se han hallado anticuerpos contra HagB en las cepas ATCC 33277, 381, A7A1-28 y W50 de *Porphyromonas gingivalis* indicando que es el antígeno más común de *Porphyromonas gingivalis* ¹⁵.

La hemaglutinación y adherencia de *Porphyromonas gingivalis* ha sido asociada con actividad de proteasas, la inactivación de una proteasa cisteína en un gen de la cepa 381 de *Porphyromonas gingivalis* tiene efectos directos

en la hemaglutinación, así como en la adhesión a otras bacterias Gram-positivas, células epiteliales orales y proteínas de la matriz extracelular⁹.

La proteína en la región carboxilo terminal que codifica para los genes de la familia RgpA (equivalentes a la región β y γ de la región PrpR1) codifican extensas cadenas de aminoácidos que son más del 90% idénticas a las secuencias que son encontradas en los genes hagA, hagD y hagE que codifican hemaglutininas⁹.

El gen que codifica a hemaglutininas (hagA) produce una proteína con una masa molecular de 283.3 kDa y contiene cuatro cadenas de aminoácidos que en la región 440-456 se repiten. Se ha demostrado que cada cadena tiene un dominio hemaglutinina que se repite y se ha demostrado su actividad de hemaglutinina desde el producto polipéptido cuando un clon demostró su actividad de hemaglutinina. Cada cadena comienza con una secuencia repetida Aspargina- Prolina (P-N) la cual se repite tres veces: PNGTPNPNPNPNGT, cuatro cadenas adicionales Hag han sido clonadas y secuenciadas. Los genes hag B y C son distintos en el loci cromosomal y codifican 35º aminoácidos polipeptídicos con masa molecular de 39 kDa que son 98.6% idénticos. Esos polipéptidos no tienen similitudes de secuencia con hagA y no hay homología significativa ellos que pueda ser utilizada en los bancos de datos de la secuencia de proteínas. La relación en la estructura genética precisa y funcionalmente entre los productos del gen hag y los HA-Ag2 o de las actividades de exohemaglutininas no se ha comprendido aún⁹.

Epítopes con la secuencia hagA y hagD son reconocidos por anticuerpos séricos de pacientes periodontales, pero este reconocimiento inmune podría no ser suficiente para influir en la adhesión y colonización. Un anticuerpo monoclonal que reacciona con un epítope con la secuencia lineal GVSPK VCKDV TVEGS NEFAP VQNLT presente con cada uno de los aminoácidos hagA en repetidas unidades, inhibiendo la hemaglutinización de *Porphyromonas gingivalis*, la secuencia podría ser un objetivo potencial para

el desarrollo de estrategias de inmunización contra *Porphyromonas gingivalis*⁹.

Se cree que la hemaglutinización podría ser mediada por fimbrias. Este concepto es propuesto debido a que cuando las fimbrias son purificadas no existe actividad de hemaglutinización y no existen anticuerpos para la fimbrias⁹.

PROTEÍNAS ANTIGÉNICAS FUERA DE MEMBRANA

Se ha identificado una proteína antigénica mayor fuera de la membrana de 55 kDa en *Porphyromonas gingivalis* W50 presente en todos los pacientes con enfermedad periodontal probados y ausente en pacientes sanos. Esta proteína llamada RagB y codificada por el gen ragA, se ha sugerido que tiene un papel en el transporte activo en *Porphyromonas gingivalis*. Otra proteína antigénica fuera de la membrana con una masa molecular de 30 kDa llamada IhtB (antes Pga30), de *Porphyromonas gingivalis* W50 que se sugiere que toma parte en el transporte de hierro. Esta proteína también está presente en *S. typhimurium* en el cual tiene actividad quelante por lo que se sugiere que remueve hemina de células cercanas. Esta proteína está presente en placa subgingival en pacientes que no exhiben signos clínicos de periodontitis ¹⁵.

Los antígenos de fuera de membrana de *Porphyromonas gingivalis* se encuentran en un rango de proteínas inmunodominante por su masa molecular ¹⁵. Se han identificado 6 proteínas fuera de la membrana como antígenos mayores: de 75, 57, 51, 46, 35 y 19 kDa. El antígeno de 46 kDa es una proteína inmunoreactiva predominante aunque la proteína no ha sido identificada.

Se han identificado diversas proteínas con masas de 115, 55, 40, 82, 57, 44, 27, 25, 18, 140, 130, 37, 28, y 53 kDa fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis* W50 y 381 pero su importancia ha sido reducida debido a que no muestran estar presentes en todos los serotipos de *Porphyromonas gingivalis* por lo que no son útiles para el desarrollo de una vacuna ¹⁵.

La mayoría de proteínas antigénicas de fuera de la membrana (14-115 kDa) no han sido identificadas por análisis de secuencia lo cual es necesario para un análisis comprensivo de los antígenos fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis*.

La asociación en la superficie de lipopolisacáridos unidos a proteínas de *Porphyromonas gingivalis* es aún más antigénico. La unión de

lipopolisacáridos no sólo sirve para que las proteínas localicen células a distancia sino que les brinda protección ante la respuesta inmune del huésped.

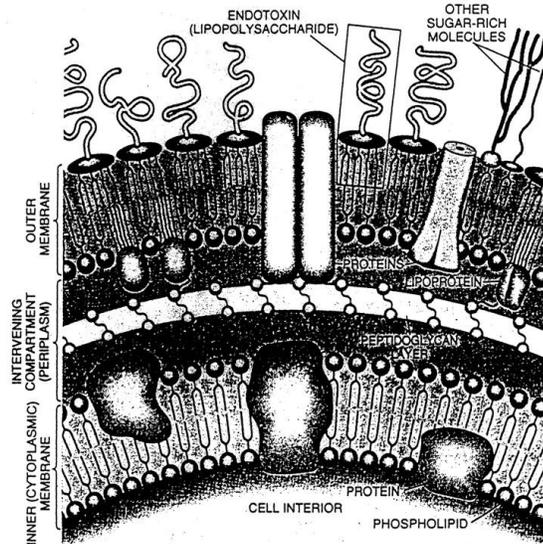


Figura 16. Endotoxinas de fuera de membrana de una bacteria Gram negativa. El corte revela la estructura de las dos membranas que envuelven la bacteria. (Rietschel and Brade, 1992).⁴³

Se han investigado otros componentes en la superficie de *Porphyromonas gingivalis* W50, y se encontraron 35 proteínas de entre 15-110 kDa. Más de 20 tienen una terminal N bloqueada por la conversión de la terminal N glutamina a piroglutamato o por modificación de ácidos grasos de la terminal N cisteína residual de lipoproteínas putativas. Las proteínas identificadas incluyen varias proteínas fuera de membrana integrales y receptores TonB, lipoproteínas putativas OM y proteínas periféricas putativas.¹⁵

La secuencia de cisteínas, adhesinas y hemaglutininas codificadas por los genes *rgpA*, *rgpB*, *kgp* y *hagA* junto con los recientemente descubiertos P27 y P59 muestran similitudes significativas en la terminal C con residuos de 50 aminoácidos en cada uno y 5 de otras proteínas que aún no se sabe que genes las codifican debido a su escasa presencia.¹⁵

GENOMA DE *Porphyromonas gingivalis*

La secuencia completa del genoma de 2,343,479-pares de bases de la bacteria patógena orales Gram negativa *Porphyromonas gingivalis* cepa W83 (también conocido como cepa HG66), que contribuye de manera mayor en la enfermedad periodontal, ya fue determinado. Un análisis completo comparativo del genoma con otras secuencias completas disponibles confirma la cercana relación entre el phylum Cytuphaga-Flavobacteria-Bacteroides (CFB) y bacterias verdes sulfuradas. Dentro del orden de la CFB, el genoma más parecido al de la *Porphyromonas gingivalis* es el de *Chorobium tepidum* basados en los estudios filogenéticos previos que indican que la Chlorobia y la CFB pila están relacionadas. El análisis del genoma de la cepa W83 revela un grado de patogenicidad y virulencia que se relaciona con la biología de la patología oral. A través de estas determinaciones, hay por lo menos 6 genes semejantes a hemaglutininas putativas y 36 peptidasas aún sin identificar. El análisis del genoma también reveló que *Porphyromonas gingivalis* puede metabolizar un número determinado de aminoácidos y puede generar una cantidad de productos metabólicos finales que son tóxicos para el huésped humano o para el tejido gingival humano y contribuye al desarrollo de la enfermedad periodontal.⁸

Porphyromonas gingivalis es el tercer patógeno oral y el segundo miembro del grupo CFB en ser secuenciado. La cepa W83 fue aislada en 1950 por H Werner (Bonn, Alemania) de una infección oral humana sin documentarse y fue llevada al Instituto Pasteur por Madeleine Sebald en 1960. El genoma fue obtenido después por Cristian Mouton (Québec, Canadá) a principios de 1970. La importancia de obtener la secuencia de genoma de los patógenos orales brindara un impulsante punto de vista sobre el mecanismo que resulta en el progreso de la enfermedad en un profundo nicho ecológico dentro de la cavidad oral.⁸

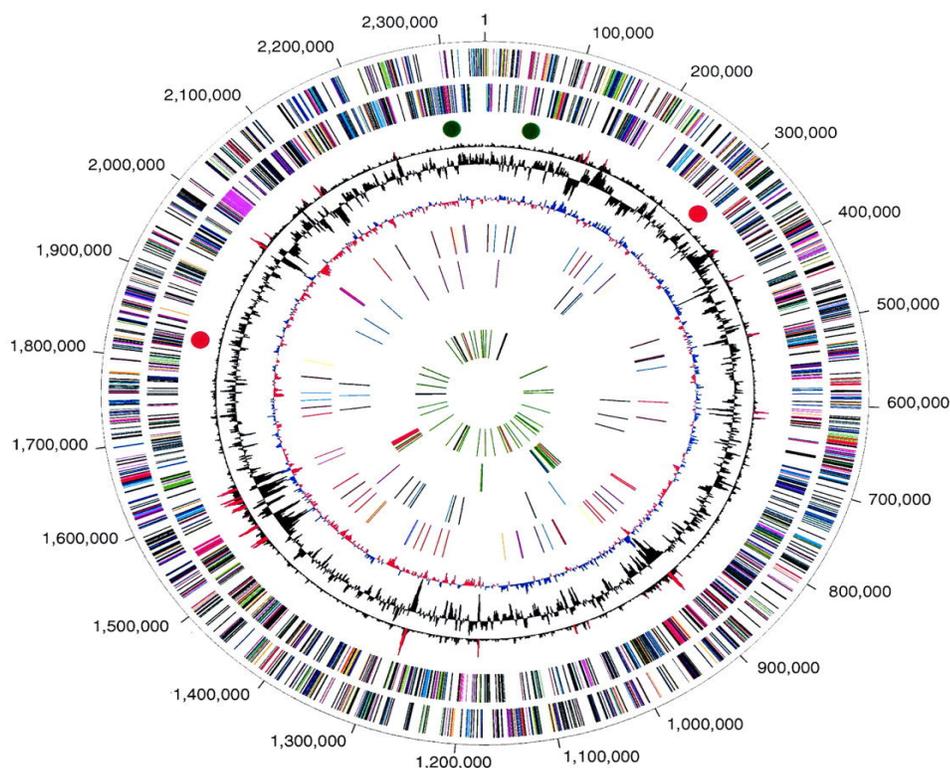


Figura 17 Representación circular del genoma de la *Porphyromonas gingivalis*.

El círculo externo muestra las regiones codificantes predecidas en la hebra de color, codifica para las siguientes categorías como sigue: en violeta: codifica para la biosíntesis de aminoácidos; azul claro: biosíntesis de cofactores, grupos prostéticos y acarreadores; verde claro: cubierta celular; rojo, procesos celulares; café: metabolismo central intermediario; amarillo: metabolismo de ADN; gris claro: metabolismo de energía; magenta: metabolismo de fosfolípidos y ácidos grasos; rosa: síntesis de proteínas y grasas; naranja: biosíntesis de purinas, pirimidinas, nucleósidos y nucleótidos; olivo: funciones regulatorias y transducción de señales; verde oscuro: transcripción; tcal y transporte y desdoblamiento de proteínas; gris: funciones desconocidas; salmón: otras categorías; azul: proteínas hipotéticas. El segundo círculo muestra la región del código predicho en la hebra pequeña. El tercer círculo presenta el análisis χ^2 de la atípica composición del nucleótido; χ^2 valores de >600 están indicados en rojo. El cuarto círculo el % G+G. El quinto círculo muestra composiciones atípicas de nucleotidos (GC skew). El sexto círculo muestra el elemento IS, indicado por colores que son: naranja: ISPg1; verde: ISPg2, magenta: ISPg3; cian: ISPg4, café: ISPg5, dorado: ISPg6, verde agua: ISPg7, rosa: ISPg8 y violeta: ISPg9, salmón ISPg10, olivo: ISPg11. El séptimo círculo muestra MITE239 (magenta), MITE700 (cian), y MITE464 (negro). El octavo círculo muestra Tn4555 (azul), cTn (rojo) y otros elementos transportables (verde). El noveno círculo muestra tRNA (verde) rRNA (negro) y sRNA (rojo).

La descripción del genoma de *Porphyromonas gingivalis* es 2,343,479pb con un porcentaje de G+C de 43.3%. Hay 4 codificadores ribosomales (5s-23s-t RN^{Ala} t RNA Ile-16s) y 2 genes estructurales de RNA, al igual que 53 genes de t RNA con especificidad para los 20 aminoácidos. Se han identificado un total de 1990 marcos de lectura abiertos (ORFs) (lo que representa más del 85% del genoma) pueden ser identificados en el genoma. De estos 1075 (54%) pueden ser asignados en diferentes categorías biológicas, 184 (9.2%) codifican para proteínas hipotéticas altamente conservadas o como proteínas dominantes, 208 (10.5%) son de función desconocida y 523 (26.3%) codifican proteínas hipotéticas.

Los elementos repetitivos ocupan cerca del 6% del genoma de la *Porphyromonas gingivalis* y cae dentro de 2 grandes clases, transposones de repeticiones de DNA, las repeticiones de DNA incluyen ininterumpidas repeticiones directas y una subclasificación de repeticiones dispersas conocidas como agrupado regular interespaciado de repeticiones palindrómicas cortas (CRISPRs), W83 no parece contener otras clases de repeticiones dispersas de la secuencia de DNA como son los elementos conocidos como ERIC y REP.

Los transposones incluyen la secuencias de inserción (IS) y los transposones pequeños invertidos y repetidos (MITEs), y largas cadenas de genes que una remanentes de transposones conjugables y metabolizables basado en la secuencia similar a los elementos previamente descritos en especies bacterioides. La localización de los genes asociados con los transposones se muestran en la figura 17. A pesar de que son 96 copias completas o parciales de los elementos IS y de los MITEs presentes en la cepa W86 que ocupan más de 94 kb del genoma, los transposones son raramente encontrados en genes funcionales. Por lo contrario, estos elementos han sido casi insertados exclusivamente dentro de regiones intergénicas y otras copias de los elementos transposable, excepto por una inserción dentro de

una membrana putativa externa de una proteína (TG0176/PG0178) que está intacta por lo menos en otras cadenas de *Porphyromonas gingivalis*.⁸

Un análisis sobre los elementos IS revela dos posibles inversiones cromosomales que se originan por recombinaciones homologas entre copias idénticas de elementos en los sitios de inserción ampliamente separados. El potencial de reordenamiento del DNA fue revelado por una inspección de ambas secuencias del objetivo duplicado (repeticiones directas) que flanquean algunos de los elementos IS y un gen interrumpido del transposon por una inserción IS⁸.

Los lugares de estas inserciones putativas se muestran en la figura 17. En un caso, 821kb (35%) del cromosoma parece estar invertido entre una copia de ISPg2 (PG1746) 512kb antes del origen de otra copia de ISPg2 (PG0277) 309kb después del origen (puntos rojos). En el segundo caso 117kb (4.4%) del cromosoma parece estar invertido entre dos copias de ISPg4 que está localizado de lado contrario al origen (PG2194 y PG0050) (puntos verdes). Desde que las inversiones a cerca del origen no invierten la dirección de la transcripción relacionado con la réplica de genes en ese segmento, esas inversiones pueden ser selectivamente neutrales. Sería interesante determinar si la cadena W83 y otras cadenas de *Porphyromonas gingivalis* son parte de una estructura genética común o si las inversiones cromosomales propuestas son relativamente eventos recientes⁸.

Existen 21 áreas del genoma que muestran una composición atípica de nucleótidos identificada por el análisis χ^2 y que también corresponde a las regiones de mayor o menor contenido de G+C que en el resto del genoma. En áreas en cuyo tamaño es de 11 a 68kb y en rangos de G+C contienen de un 29.4 a 61.6%. Una variedad de genes que podría haber adquirido esta bacteria a través de una transferencia lateral y son codificadas en estas regiones.

Los genes incluyen tres sistemas de restricción de proteínas: PG0971, más parecida a *Anabaena* sp cepa, PCC7120; y PG0968 más parecida a

Anabaena sp cepa PCC7120; y PG1469, mas parecida a *Agrobacterium tumefaciens*, las proteínas hemaglutininas B y C (HagB, PG1972, específica de *Porphyromonas gingivalis* y HagC, PG1975 específicas de *Porphyromonas gingivalis*), biosíntesis de varias proteínas capsulares, 20 genes trasposones, dos elementos móviles grandes (PG1473 a PG1480, se relaciona sólo a un elemento conjugado de *Bacteroides thetaiotaomicron*); y PG0868 a Pg0875, cuya secuencia y organización genética se relaciona más íntimamente a los transposones móviles de resistencia a los antibióticos Tn4555 del *Bacteroides Fragilis*, y el operón de biosíntesis de tiamina (PG2107 a PG2111, que es más similar al operón de biosíntesis de tiamina de *Escherichia coli*). Estas regiones atípicas en el genoma de *Porphyromonas gingivalis* pueden codificar y conservar muchas proteínas hipotéticas, que sin duda contribuyen a la única biología del organismo.⁸

La comparación del proteogenoma predicho de *Porphyromonas gingivalis* con la secuencia completa del genoma secuenciado confirma la íntima relación de *Porphyromonas gingivalis* con otros miembros de CFB, incluyendo el *Bacteroides Fragilis* y *Bacteroides thetaiotaomicron*. Fuera del phila de CFB el genoma más similar al de *Porphyromonas gingivalis* es el de *Chlorobium tepidum* sometido a estudios filogenéticos previos que indican que la *Chlorobia* y el phila CFB están relacionados. El proteogenoma más similar al de *Porphyromonas gingivalis* (en términos de los mejores números de codificador de proteínas) fueron el de *Bacteroides thetaiotaomicron* y el de el *Bacteroides Fragilis* con 572 y 437 mejores numeraciones ($P < 10^{-5}$), respectivamente.

Las especies microbianas que existen en la placa supragingival de la cavidad oral son expuestas al ayuno del huésped, y muchas de estas bacterias, incluyendo el estreptococo oral, fermentan carbohidratos en productos ácidos finales así como el ácido láctico con el propósito de producir energía. Por otro lado, las especies anaeróbicas de la placa subgingival son expuestas al fluido crevicular y a las proteínas de los tejidos del huésped. La disponibilidad

de una secuencia completa del genoma de *Porphyromonas gingivalis* W83 permiten un análisis del potencial fisiológico de estas especies.

El análisis del genoma sugiere que *Porphyromonas gingivalis* posee una limitada capacidad para el metabolismo de nutrientes orgánicos. La utilización de glucosa por *Porphyromonas gingivalis* es conocida por ser reducida, los carbohidratos en general no parecen ayudar al crecimiento. La cepa W83 contiene a pesar de todo, los ORFs putativos para todas las enzimas de la vía glicolítica, así como ORFs para un transportador putativo de glucosa/galactosa así como glucosa y quinasa. El análisis de la secuencia muestra que la glucosa quinasa es codificada en un ORF partido, generado por una mutación, esto explica la pobre utilización de glucosa para el crecimiento. Cuatro ORFs putativos para las vías de fosfato y pentosa fueron identificados, y es conocido que esta vía juega un papel muy importante en la generación del precursor de metabolitos durante el crecimiento anaeróbico.⁸

El completo análisis del genoma sugiere que *Porphyromonas gingivalis* puede metabolizar varios azúcares, incluyendo melibiosa, galactosa, almidón, y maltodextrina. La bacteria también posee enzimas para la degradación de aminoazúcares complejos en forma de aminidasas hexosas. Sigue sin ser claro si los azúcares complejos son metabolizados pero una posibilidad es que con la remoción de aminoazúcares de las glicoproteínas del huésped, estas proteínas se vuelven más susceptibles a la degradación por las proteinasas bacterianas. Además, por lo menos 11 aminoácidos pueden servir de sustratos para la producción de energía. Estos aminoácidos son derivados de la degradación de los tejidos del huésped o de la muerte de otras células bacterianas en la cavidad oral. Las vías de utilización del glutamato y aspartato han sido caracterizadas por ensayos de enzimas, y ORFs codificados para todas estas actividades fueron encontradas en el genoma de W83. El glutamato intracelular es convertido en 2-oxoglutarato por la glutamato deshidrogenasa y después descarboxilado por la succinil coenzima A (succinil CoA) por una dependiente de la CoA llamada 2-

oxiglutarato oxidoreductasa. La posesión de esta actividad es inusual para esta especie bacteriana. Ha sido establecido que dos tercios de succinil CoA producidos en esta reacción es convertido a butiril CoA y después a butirato.⁸ El tercio restante tal vez se convierta a propionato por una vía que envuelve la enzima metilmalonil-CoA mutasa y acil CoA acetato-CoA transferasa como las bacterias productoras de propionato. Esta vía parece ser la única de *Porphyromonas gingivalis* desde que otras anaerobias catabolizan glutamato a partir de hidroxiglutarato, metilaspártato y las vías de aminobutarato. *Porphyromonas gingivalis* no posee actividad para tres enzimas clave de estas vías: hidroxiglutarato deshidrogenasa, 3 metil aspártato amonialiasa y 4 aminobutarato aminotransferasa. Peptido derivado del aspártato es convertido en fumarato por aspártato amonialiasa después oxidado a acetato o reducido a propionato o butirato.

Porphyromonas gingivalis prefiere utilizar arginina y lisina como aminoácidos libres que en forma de péptidos aquellos como carboxi-terminal arginina y residuos de lisina pueden ser reutilizados como proteínas por actividades carboxipeptídicas. *Porphyromonas gingivalis* produce citrulina y ornitina de una proteína desnaturalizada lo que implica que la bacteria degrada arginina a través de las vías de deiminasa de arginina.⁸

La vía catabólica de la lisina parece ser similar a aquella encontrada en *Clostridium* sp. Los ORFs fueron indentificados para los primeros pasos de ambos catabolismos L y D lisina, además, los isómeros son aparentemente degradados por dos diferentes vías que incluyen, ácido butírico, ácido acético y amonio. Lisina 2,3 aminomutasa (KamA) cataliza la interconversión de L-lisina y L-β-lisina, el primer paso en las vías de degradación de la lisina en *Clostridium subterminale* SB4. En *Porphyromonas gingivalis* W83, kamA fue encontrado un grupo con los genes kamD y KamE (PG1070, PG1073 y PG1074) que codifican subunidades en vías degradativas de D-lisina. Genes codifican enzimas para la siguiente conversión de lisina a butirato y acetato

que fueron localizados a 3 segundos de kamE. Todavía no se sabe si estos genes son transcritos como un operón.⁸

Poco se sabe a cerca del catabolismo de la serina y treonina en *Porphyromonas gingivalis*; sin embargo, un ORF fue detectado homólogo a la serina deshidratasa (PG0084) que hidroliza la serina a piruvato, amoníaco y agua. La treonina tal vez se convierta en glicina y acetaldehído por actividad de la treonina aldolasa, para los cuales un ORF fue detectado (PG0474). En resumen, *Porphyromonas gingivalis* parece catabolizar aminoácidos a través de las vías de generación de amoníaco. El organismo tiene un óptimo elevado pH >7.5 y la generación de amonio tal vez ha desarrollado una estrategia para colocar el pH a un rango alcalino.⁸

Porphyromonas gingivalis utiliza péptidos como recursos de carbón y nitrógeno y además de las proteinasas previamente descritas que son conocidas como degradadoras de proteínas del huésped, un número de peptidasas que tal vez se involucre en la digestión de fragmentos de proteínas a péptidos más pequeños y aminoácidos podrían ser identificados en el genoma.⁸

Posiblemente hay dos transportadores de carboxilato para lactato y formato, y no transportadores de azúcar y otros importadores de glucosa y galactosa, Aunque *Porphyromonas gingivalis* posee un amplio número de peptidasas secretas y vías para el metabolismo de aminoácidos la bacteria parece tener dos péptidos predichos y tiene un solo transportador de aminoácidos, el característico ion sodio que conduce a la serina y treonina tomando la proteína SstT. Un aminoácido de tipo LysE-type puede proteger al organismo de concentraciones tóxicas de aminoácidos.⁸

El mayor número de productos de fermentación que pueden ser producidos basados en un completo análisis del genoma y en análisis de productos *in vitro* son propionato, butirato, isobutirato, isovalerato, acetato, etanol y butanol. Muchos de estos productos finales son probablemente tóxicos para los tejidos de huésped.

Nucleosidos y nucleobases representan un inesperado e importante nutriente para *Porphyromonas gingivalis* y tal vez puede utilizarse para construir bloques de biosíntesis de ácidos nucleicos o tal vez ser catabolizados como carbón y recursos de energía.

Común a los demás patógenos humanos, la adquisición de hierro parece ser una prioridad importante para *Porphyromonas gingivalis*, por lo que hay dos tipos de hierro, dependientes del TonB receptores de hierro y FeoB. Hay un incremento del ion metal en los transportadores de la homeostasis, incluyendo tres intercambiadores iones /protones que pueden ser importantes desde que un número importante de transportadores en *Porphyromonas gingivalis* transportan al ion sodio.

La disponibilidad de la secuencia completa del genoma de *Porphyromonas gingivalis* facilita la identificación de factores de virulencia putativos asociados con el establecimiento y la sobrevivencia de la bacteria en el fluido crevicular y posterior penetración dentro de las células del huésped. Inicialmente la bacteria tiene que navegar en la cavidad oral, donde, como una anaerobia obligada, es expuesta a limitados porcentajes de oxígeno antes de que ella misma se establezca en un ambiente anaerobio. Un conjunto de genes (PG1582 a PG1686) fue identificado con altos niveles de similitud al operón aerotolerante recientemente descrito del *Bacteroides fragilis*. Estas funciones promueven la supervivencia del *Bacteroides fragilis* a través de la exposición del oxígeno y su presencia en *Porphyromonas gingivalis* nos dice que tal vez este sistema proporcione tolerancia al oxígeno en la cavidad oral. El genoma también codifica un superóxido dismutasa (PG1545), genes para la reducción de hidroxiperóxido (PG0618 y PG0619), un tilo preoxidasa (PG1729), y un homólogo Dps (PG0090) que se involucra en la reparación del daño oxidativo de los ácidos nucleicos.

La bacteria utiliza fimbrias para adherirse a otras bacterias y tejidos del huésped. Hemaglutininas y varias proteasas están también involucradas en la colonización de tejidos a través de la adhesión a la matriz extracelular de las

proteínas. Hemagglutininas en particular puede mediar el desdoblamiento de la bacteria a los receptores de las células humanas, y la secuencia del gen para 6 hemagglutininas-proteínas nuevamente identificadas (PG0411, PG1326, PG1674, PG1427, PG1548 y PG2198). Cuatro de estas son recientes duplicaciones en el genoma de HagA y HagD secuencias relacionadas con el predominio de adhesina. Un total de 42 proteínas fueron identificadas en la secuencia del genoma que tal vez se relacione en la adherencia de la bacteria a los tejidos del huésped, así como otras células bacterianas, y que tal vez degraden proteínas del huésped. Las proteasas atacan a un número de proteínas del huésped, incluyendo la matriz extracelular de las proteínas, además de participar en la adhesión molecular a las células, la destrucción tiene como resultado la pérdida de los receptores superficiales de la célula y la integridad tisular. La destrucción proteica de citoquinas y el interferón gamma pueden resultar en una interrupción de la función polimorfonuclear del leucocito y afectar a la respuesta inmune del huésped.

Una hemolisina para la reutilización de hierro y protoporfirina IX (PG1875) fue identificada. Esta secuencia tiene una completa homología solo para la hemolisina característica, un gen de otro patógeno periodontal *Prevotella melaninogenica*. Estas dos hemolisinas muestran absolutamente ninguna homología a otra hemolisina bioquímicamente caracterizada y tiene una débil homología a una proteína con secuencia proteica de *Vibrio cholerae*.

En *Porphyromonas gingivalis*, productos metabólicos finales del catabolismo de varios sustratos incluyendo cadenas cortas de ácidos carboxílicos que pueden afectar el sistema de defensa del huésped en una variedad de formas. Cuando se meten directamente al tejido gingival humano sano, pequeñas cadenas de ácidos carboxílicos han mostrado estimular la respuesta inflamatoria gingival y la respuesta inflamatoria de citoquinas.

Estas pequeñas cadenas de ácidos carboxílicos también han mostrado alterar la función celular y la expresión de genes y también contribuyen al inicio y prolongación de la inflamación gingival.

La cápsula de *Porphyromonas gingivalis* está más involucrada en la evasión de la respuesta del huésped y ha mostrado ser una determinante importante en la virulencia de esta bacteria. El análisis completo del genoma revela por lo menos 4 genes relacionados con la biosíntesis capsular (PG0106 a PGPG0120, PG0435 a PG037, PG1140 a PG1149 y PG1560 a PG1565) que se localizan a lo largo del genoma. Una cercana investigación a estos genes revelan que manosa, glucosa y ramnosa pueden ser algunas de las azúcares presentes en la cápsula de *Porphyromonas gingivalis* cepa W83. En varias secreciones patógenas de factores de virulencia enfocados a las células del huésped es mediada por la secreción de proteínas tipo III. El genoma completo de *Porphyromonas gingivalis* fue investigado por la presencia de un conjunto de 9 genes Sct (Hrc/Ysc) que son conocidos por ser componentes de proteínas tipo III del sistema de secreciones. A pesar de que muchos genes homólogos sec están presentes en el genoma, incluyendo SecA, SecY, SecD y SecF, la mayor marca general de esta vía secretoria (tipo II) no puede identificarse, sugiriendo que esta vía no es funcional en esta bacteria.

A pesar de que la secuencia del genoma no ha revelado muchos de estos factores clásicos de virulencia que son asociados con los patógenos, es anticipado que la nueva virulencia descrita así como, de otras que han sido recientemente secuenciado o aquellos en que su secuenciación está casi completa, nos brindará el desarrollo de agentes antimicrobianos que pueden usarse contra uno de los mayores agentes causales de la enfermedad periodontal. Por último, la secuencia del genoma de *Porphyromonas gingivalis* puede facilitar un entendimiento mayor de la virulencia de estos patógenos periodontales y nos brindará un gran desarrollo en diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.

MECANISMO DE DEFENSA DEL HUÉSPED

La modulación de la respuesta inmune en el huésped es un proceso importante porque determina la severidad de la enfermedad y el potencial patógeno. Los mecanismos de defensa innata y adquirida son aplicables en las bolsas periodontales. La contribución relativa de cada una, hacia la protección y posible cura contra la destrucción tisular no está delineada con precisión.

De todos los mecanismos inmunes en las bolsas periodontales, los polimorfonucleares parecen tener el papel principal en el control del crecimiento de bacterias periodontales.

Existen numerosos reportes que explican la manera en que los polimorfonucleares son afectados. La quimiotaxis es inhibida por un ácido graso de bajo peso molecular tal como ácido succínico, que es producido por el organismo. El succinato puede actuar reduciendo el pH intracelular de los neutrófilos. *Porphyromonas gingivalis* puede inmovilizar la respuesta de polimorfonucleares por péptidos quimiotácticos por despolarización de membrana de polimorfonucleares.⁸

Diferentes componentes bacterianos pueden demostrar efectos opuestos. En el caso del lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* genera el producto quimiotáctico C5 a pesar de ello la actividad celular asociada a lipopolisacárido puede ser oculta por polisacárido capsular que físicamente se enmascara con lipopolisacárido en la superficie celular. Las fimbrias mayores inducen la expresión de factor quimiotáctico KC de neutrófilos en macrófagos.⁸

Además de los efectos directos en la fagocitosis, *Porphyromonas gingivalis* y sus componentes pueden inducir la expresión de una variedad de citoquinas y quimioquinas, la respuesta de polimorfonucleares, monocitos, macrófagos, y células epiteliales incrementa las citoquinas inflamatorias como IL-1 β , INF- α , IL-6, e IL-8 que no sólo son mediadores de la inflamación sino que estimulan la destrucción de tejido y hueso en el periodonto. Además

Porphyromonas gingivalis puede inducir citoquinas antiinflamatorias que degradan las citoquinas existentes y antagonizan la producción de IL-8 por células epiteliales.⁸

Es pertinente decir que *Porphyromonas gingivalis* no existe como una bacteria exclusiva en boca, ni siquiera es una bacteria única pues son varios tipos de *Porphyromonas gingivalis* los que existen, es decir en una bolsa gingival, el organismo constituye un complejo biofilm y en este contexto podría ser fenotípicamente distinto de los cultivos de crecimiento en laboratorio. La habilidad de *Porphyromonas gingivalis* para unirse a otras bacterias orales podría tener implicaciones para la resistencia a fagocitosis, desde la ingestión de varios agregados de bacterias podría ser menos eficiente que la ingestión de células simples.

DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA *Porphyromonas gingivalis*

El tratamiento actual de la periodontitis no es específico, sino que está centrado en la remoción de placa subgingival por métodos mecánicos de debridación los cuales requieren técnicas quirúrgicas. Este tipo de tratamiento es costoso, doloroso y de pronóstico variable, debido en parte al poco apoyo del paciente. El uso de antibióticos ya sean locales como sistémicos es limitado por la necesidad constante de tratamiento para prevenir el reestablecimiento del patógeno.

La reducción significativa de la progresión de la enfermedad periodontal en primates no humanos y en roedores por inmunización con vacunación contra cada uno de los antígenos de *Porphyromonas gingivalis* sugiere que esta técnica podría ser un coadyuvante importante en la terapia mecánica de debridamiento en humanos previniendo la recolonización de patógenos periodontales.¹⁴

La vacunación podría ser una terapia benéfica aunque las bacterias podrían ser más resistentes a la respuesta inmune adaptativa cuando están presentes en la placa subgingival como un biofilm quieto, anticuerpos específicos podrían restringir la progresión de la enfermedad bloqueando la entrada de los factores de virulencia mayores en los tejidos gingivales. Así bloqueando esos factores de virulencia, los anticuerpos, si se dirigen directamente contra los epítopes clave envueltos en función, podrían neutralizar su acción y facilitar su remoción por medio de opsonización y fagocitosis. Anticuerpos específicos podrían neutralizar factores de virulencia claves asociados con la adquisición de nutrientes, restringiendo su proliferación en la placa dentobacteriana. Además, anticuerpos específicos de clases específicas (IgA, IgG4 en humanos) podrían reducir la inflamación asociada con infecciones bacterianas en sitios de la mucosa.¹⁴

A pesar de ello, el desarrollo de una vacuna depende de la identificación de antígenos bacterianos que son expresados *in vivo* e inducen la respuesta

protectora. Por lo tanto es importante combina estrategias proteómicas, genómicas e inmunológicas para identificar antígenos bacterianos de patógenos periodontales y evaluar su potencial como candidatos para el desarrollo de una vacuna multiespecies para periodontitis como un coadyuvante en la terapia periodontal.

MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE INFECCIÓN POR *Porphyromonas gingivalis*

A primera vista es normal pensar que infecciones causadas por *Porphyromonas gingivalis* son sitio-específicas exclusivamente, y en realidad eso parece, pero las enfermedades periodontales están asociadas con un incremento en la incidencia de nacimiento de niños con bajo peso y con enfermedades cardiovasculares. Infecciones locales persistentes podrían emplear un gran número vías. Por ejemplo la liberación de antígenos o modulación de los niveles de citoquinas sistémicas podría predisponer la infección a sitios remotos. El lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis*, podría incrementar la red de citoquinas, así que es una molécula con potencial efector. Además la exposición intravenosa de lipopolisacáridos de *Porphyromonas gingivalis* en hámster preñadas produce morbilidad y mortalidad. La habilidad de las moléculas de *Porphyromonas gingivalis* para inducir apoptosis y modular las vías de señalización en células eucarióticas incrementarse en enfermedades sistémicas⁸.

Mejorar la comprensión de la interacción entre bacterias periodontales y células del huésped a niveles celulares y moleculares podría tener una gran relevancia para ayudar a la defensa del huésped.

CONCLUSIONES

Sabemos que el tejido que soporta al diente es llamado periodonto, y que por su forma y ubicación es susceptible de sufrir alteraciones la mayoría por deficiencias en los hábitos higiénicos lo cual altera sus características normales generando así diversas enfermedades como gingivitis en sus etapas tempranas y periodontitis en sus etapas avanzadas. La gravedad de ello es que la gran mayoría de la población padece de alguna enfermedad de las encías haciendo que la enfermedad periodontal sea la segunda enfermedad más común en boca; de ser detectada en una etapa inicial es fácilmente tratable sin embargo al tratarse en las etapas más avanzadas el tratamiento es traumático para el paciente, además de ser costoso y de requerir mucha cooperación por parte del paciente lo cual hace que estos tratamientos sean de pronóstico reservado en muchos casos o bien que recurran después de un lapso variable de tiempo; y si por el contrario no reciben la atención adecuada termina por la pérdida de los dientes.

Al presentarse las deficiencias en la higiene se produce la colonización inicial por parte de algunas bacterias capaces de adherirse a la superficie dental, a la vez que proveen las condiciones adecuadas para que otras bacterias o colonizadores secundarios o tardíos puedan establecerse en el medio ya con las características óptimas para que se desarrollen en ese hábitat; de entre los colonizadores secundarios se encuentra la *Porphyromonas gingivalis* la cual es de los más patógenos.

Porphyromonas gingivalis es una bacteria anaerobia Gram negativa que pertenece a la familia Porphyromonadaceae, orden Bacteroidales en el Phylum Bacteroidetes, anteriormente conocida como *Cytophaga Flavobacteria-Bacteroides (CFB)* grupo 6. La adherencia es facilitada por una variedad de proteínas de la superficie bacteriana incluyendo fimbrias, hemaglutininas y proteinasas.

Las especies del género *Porphyromonas* anteriormente ubicadas dentro del género *Bacteroides*, se caracterizan por ser bacilos pleomórficos o

cocobacilos, inmóviles, no esporulados. Carecen de metabolismo fermentativo, por lo que son llamadas asacarolíticas.

Estas bacterias utilizan substratos nitrogenados como fuente de energía además azúcares como glucosa pueden ser utilizados por el microorganismo, esos compuestos no son convertidos en productos metabólicos sino que son usados para la biosíntesis de macromoléculas intracelulares. *Porphyromonas gingivalis* sólo se limita a fermentar aminoácidos libres, con la posible excepción de ácido aspártico y asparagina, los cuales pueden ser metabolizados a oxaloacetato, malato y fumarato o a succinato, en contraste los péptidos son utilizados eficientemente para su crecimiento. Además la acción de enzimas proteolíticas producidas por *Porphyromonas gingivalis* actúan con otras proteasas bacterianas y convertir el fluido crevicular en una rica fuente de nutrientes para *Porphyromonas gingivalis* Esta bacteria produce múltiples proteasas que pueden degradar un número potencialmente importante de sustratos en el fluido crevicular, incluidas la colágena, fibronectina, fibrinógeno, laminina y queratina.

Porphyromonas gingivalis utiliza hierro para su crecimiento para lo cual utiliza hemina el cual obtiene de compuestos como hemoglobina, haptoglobina, mioglobina, hemopexina, metahemoglobina, oxyhemoglobina, albúmina, lactoperoxidasa, catalasa y citocromo C; además de utiliza compuestos sin hemina como hierro férrico, hierro ferroso y hierro inorgánico no nitrogenado. La hemina es almacenada en la superficie celular lo cual le da el característico pigmento negro que aparece en las colonias de *Porphyromonas gingivalis*.

Porphyromonas gingivalis es un microorganismo muy patógeno que tiene una gran habilidad para colonizar, un poder destructivo muy grande, además de que puede evadir fácilmente las defensas del huésped por sus diversos factores de virulencia.

Hasta el momento no ha sido elucidado cuales son los factores que regulan la expresión de los factores de virulencia. *Porphyromonas gingivalis* posee

un antígeno de superficie que lo rodea en toda su extensión llamado cápsula, consiste en un heteropolímero polisacárido de más de 15 nm. Al parecer son más virulentas e invasivas las cepas encapsuladas, se han caracterizado seis serotipos de antígenos K según la antigenicidad de su polisacárido K (KI-KVI). Algunas cepas de *Porphyromonas gingivalis* carecen de antígeno K o de la capa capsular la cual las hace más susceptibles a la fagocitosis.

Porphyromonas gingivalis posee también un lipopolisacárido; el cual disminuye la modulación de la respuesta inflamatoria de las citoquinas por parte de los macrófagos y monocitos. El lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* no es como el lipopolisacárido de otras bacterias Gram negativas en su composición sino que tiene variables que le proporcionan características de implicaciones para las propiedades inmunogénicas del lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* y en la patogénesis de la enfermedad. El lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* es el mayor antígeno de esta bacteria, pues sobre-estimulan la secreción de interleucinas pro-inflamatorias, lo que aumenta la progresión de la enfermedad periodontal. A su vez la interacción de lipopolisacáridos bacterianos y nicotina proveniente del tabaco, provee de un ambiente que conduce a la estimulación de citoquinas pro-inflamatorias y la potenciación de la enfermedad. En modelos de periodontitis el lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* es un potente inductor de resorción ósea por la estimulación de IL-1 α y β locales. La interacción del lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* con CD14 en osteoclastos induce la expresión de IL-1 β e IL-6, los cuales actúan en conjunto y activan las células para iniciar la resorción ósea. El receptor de IL-1 y de TNF activan al osteoclasto después de su estimulación de lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* a altas dosis pero no a bajas dosis. Así lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* de alta masa molecular induce mayor pérdida de hueso que el de bajo peso molecular. Existen otras moléculas sensibles al calor que tienen un gran papel en la activación de osteoclastos para promover la resorción ósea. Lo cual podrían

explicar la presencia de lipopolisacáridos asociados a proteínas en las preparaciones de lipopolisacárido. El lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* y el lípido A inducen la apoptosis en células T y B expresando inmunoglobulinas IgA y CD5 además de activar a linfocitos y nodos linfoides, bazo y timo. Tomando en cuenta esos datos podemos decir que el lipopolisacárido de *Porphyromonas gingivalis* induce la resorción ósea y estimula la liberación de citoquinas proinflamatorias en células mieloides y no mieloides e inhiben la apoptosis de esas células importantes en la respuesta inmune innata, así la respuesta inmune adaptativa esta desregulada por estimulación de la liberación de citoquinas contrareguladoras de diferentes células linfoides e incrementan la apoptosis en células linfoides activadas.

Porphyromonas gingivalis posee estructuras que están asociadas a la superficie de la bacteria y que participan en la adherencia bacteriana, se encuentran distribuidas irregularmente a lo largo de la célula, las fimbrias. Son filamentos proteicos localizados en la superficie de la bacteria que participa en la adherencia específica. Permite localizar el receptor. Las fimbrias tipo específico están involucradas en la aglutinación célula-célula, como antígenos, así como en la aglutinación de eritrocitos. Se puede clasificar las cepas de *Porphyromonas gingivalis* como avirulentas o no invasivas (como ATCC 33277, 381, 2561 y HG1694) o virulentas e invasivas (ATCC 53977, A7A2-10, HG1690 y W83); por su presencia o ausencia de fimbrias.

Porphyromonas gingivalis tiene dos tipos de fimbrias, la fimbria mayor, que es un componente filamentoso de la superficie celular y que actúa como un agente de interacción en los tejidos mediando la adhesión bacterial y la colonización en los sitios blanco. *Porphyromonas gingivalis* posee pequeñas fimbrias, esas estructuras llamadas fimbrias menores son compuestas por proteínas de 67 kDa que son antigénicamente distintas de la fimbrilina producida por *fimA*. Estas fimbrias están constituidas por unidades de una proteína de 72-kDa la cual ha sido llamada pg-II. Sus relaciones y funciones

aún están siendo estudiadas. Las fimbrias mayores son rizadas, en filamentos de una sola hebra de 5nm de diámetro y están compuestos de fibrilina, una proteína de 43-kDa codificada por el gen *fimA*. Actualmente se han descrito 5 tipos fimbriales de *Porphyromonas gingivalis* (tipos I-V) clasificados según su antigenicidad. Existen variaciones en la proteína codificada por el gen *fimA* que codifica la fimbria mayor y así se divide en cuatro grupos de acuerdo a las diferencias que se presentan en el extremo amino terminal de esta proteína. Y los genes han sido divididos en seis variantes (tipo I a V y Ib) de acuerdo a las diferencias en el gene *fim A*, de las cuales el tipo II y IV son las más virulentas y el tipo I es avirulentas.

Porphyromonas gingivalis produce una variedad de proteinasas serinas con habilidad de degradar proteínas del huésped como inmunoglobulinas, colágena tipo III, IV, V, y/o gelatina, factores del complemento, fibrinógeno, fibronectina, laminina, además de otras moléculas en el huésped, por lo que pueden así mismo obtener sus alimentos y modular la respuesta inmune.

Antes de que los genes fueron codificados, clonados y secuenciados, las enzimas proteolíticas que fueron purificados o semipurificados de extractos de la superficie celular o del medio de cultivo fueron llamados de diversas maneras, tales como gingivain, gingipain y argingipain todas descritas como proteinasas Arg-X- específicas las cuales eran probablemente idénticas. Así se ha propuesto que los genes que codifican enzimas Arg-X son diseñadas por *rgp* y las enzimas Lys-X son diseñadas por *kgp*. *rgp* comprende dos tipos de enzimas *RgpA* y *RgpB* estas se unen a proteínas de los residuos de la arginina y son codificados por dos genes similares *rgpA* y *rgpB*; mientras que *kgp* se une a proteínas de los residuos de lisina. *rgpA* y *rgpB* proporcionan a *Porphyromonas gingivalis* actividad semejante a tripsina, mientras que *kgp* juega un importante rol en la adquisición de hierro por unión a hemoglobina. Esas propiedades afectan fuertemente en la virulencia de este microorganismo.

Recientemente se identificó un receptor para hemina y hemoglobina en *Porphyromonas gingivalis* cepa A7436 (HmuR), el cual exhibe un alto grado de similitud con el receptor de hemina y hemoglobina TonB presente en varias bacterias Gram negativas. Un mutante de *Porphyromonas gingivalis* *hmuR* exhibe disminución en la habilidad de unión hemoglobina y su crecimiento es por la proteína hemina pues es su única fuente de hierro.

Kgp y RgpA se unen selectivamente a porfirinas aproximadamente tal como corresponde a metaloporfirinas indicando que la unión de Kgp y RgpA a esos compuestos no requieren metal presente en el anillo porfirina.

Tres genes de *Porphyromonas gingivalis* (*hemR*, *tlr* y *ihtA*) tienen homología al gen que codifica el receptor TonB. El modo en que los productos de los genes *hemR*, *tlr* y *ihtA* se unen y utilizan heme o hierro no es claro aún.

Sabemos que *Porphyromonas gingivalis* utilizar varias fuentes diferentes de hierro para crecer a pesar de ello el mecanismo por el cual la hemina es liberada de esas proteínas no ha sido definido.

Las gingipains solubles pueden degradar las proteínas del huésped que se unen al hierro de heme, hemoglobina, haptoglobina, hemopexina y transferían de las cuales Kgp es la más efectiva. Las proteinasas RgpA/B y Kgp son proteínas abundantes fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis* W50, la actividad proteolítica de Arg-X y Lys-X en *Porphyromonas gingivalis* W50 indica que las proteinasas RgpA/B y Kgp presentes, son aproximadamente 10% de el peso molecular del total de las proteínas producidas por *Porphyromonas gingivalis* W50. A pesar de que las proteinasa RgpA/B y Kgp de *Porphyromonas gingivalis* son consideradas los factores de virulencia mayores de esta bacteria, la mayor degradación de los tejidos de huésped no envuelve a esas proteinasas de manera directa sino de manera indirecta por activación de la matriz de proteinasas latentes en el huésped. *Porphyromonas gingivalis* degrada el plasma de huésped regulando proteinasas inhibitoria; α -antitripsina, α_2 -macroglobulina,

antiquimiotripsina, antitrombina III y antiplasmina. La inflamación en el sitio de infección aumenta por la hidrólisis del factor del complemento C5.

Porphyromonas gingivalis posee una de shock térmico o heat shock llamada GroEL la cual es altamente antigénica y los anticuerpos anti *Porphyromonas gingivalis* GroEL han sido detectados en extractos de tejido gingival. Además se ha demostrado que en una gran proporción de suero de pacientes periodontales se reconoce *Porphyromonas gingivalis* GroEL que en sujetos sanos. Su importancia radica en que la respuesta del anticuerpo *Porphyromonas gingivalis* GroEL podría cruzar actividad y producir una reacción autoinmune.

Porphyromonas gingivalis posee hemaglutininas de adhesión en la superficie celular HA-Ag2, además HA-Ag2 es un antígeno común en todas las muestras de *Porphyromonas gingivalis* estudiadas. Anticuerpos específicos contra HA-Ag2 han sido mostrados por inhibir la hemaglutinación y la unión de *Porphyromonas gingivalis* al epitelio. Varios estudios han identificado los genes que codifican estas las proteínas hemaglutininas HagA, B, C, D y E. Estas proteínas son consideradas factores de virulencia para un gran número de especies, y *Porphyromonas gingivalis* produce 5 moléculas de hemaglutininas. Estas bacterias están en la superficie celular y producen la colonización mediante la unión de los receptores bacterianos (generalmente oligosacáridos). La búsqueda en esas cuatro proteínas ha centrado el interés en HagA y B, sobre todo en HagB como un candidato potencial para una vacuna contra *Porphyromonas gingivalis*, pues se ha hallado que es el antígeno más común de *Porphyromonas gingivalis*. Se cree que la hemaglutinización podría ser mediada por fimbrias. Este concepto es propuesto debido a que cuando las fimbrias son purificadas no existe actividad de hemaglutinización y no existen anticuerpos para la fimbrias.

Se han identificado diversas proteínas con masas moleculares de 115, 55, 40, 82, 57, 44, 27, 25, 18, 140, 130, 37, 28, y 53 kDa fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis* W50 y 381 pero su importancia ha sido

reducida debido a que no muestran estar presentes en todos los serotipos de *Porphyromonas gingivalis* por lo que no son útiles para el desarrollo de una vacuna. La mayoría de proteínas antigénicas de fuera de la membrana (14-115 kDa) no han sido identificadas por análisis de secuencia lo cual es necesario para un análisis comprensivo de los antígenos fuera de la membrana de *Porphyromonas gingivalis*.

La secuencia completa del genoma de 2,343,479-pb de la bacteria patógena oral Gram negativa *Porphyromonas gingivalis* cepa W83 (también conocido como cepa HG66), que contribuye de manera mayor en la enfermedad periodontal, ya fue determinado. El análisis del genoma de la cepa W83 revela un grado de patogenicidad y virulencia que relacionan la biología de esta patología oral. El análisis del genoma también reveló que la *Porphyromonas gingivalis* puede metabolizar un número de aminoácidos y puede generar una cantidad de productos metabólicos finales que son tóxicos para el huésped humano o para el tejido gingival humano y contribuye al desarrollo de la enfermedad periodontal. La disponibilidad de la secuencia completa del genoma de *Porphyromonas gingivalis* facilita la identificación de factores de virulencia putativos asociados con el establecimiento y la sobrevivencia de la bacteria en el surco gingival y posterior penetración dentro de las células del huésped. Inicialmente la bacteria tiene que navegar en la cavidad oral, donde, como una anaerobia obligada, es expuesta a limitados porcentajes de oxígeno antes de que ella misma se establezca en un ambiente anaerobio.

A pesar de que la secuencia del genoma no ha revelado muchos de estos factores clásicos de virulencia que son asociados con los patógenos, es anticipado que la nueva virulencia descrita así como, de otras que han sido recientemente secuenciado o aquellos en que su secuenciación está casi completa, nos brindará el desarrollo de agentes antimicrobianos que pueden usarse contra uno de los mayores agentes causales de la enfermedad periodontal. Por último, la secuencia del genoma de *Porphyromonas gingivalis* puede facilitar un entendimiento mayor de la virulencia de estos

patógenos periodontales y nos brindará un gran desarrollo en diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.

La modulación de la respuesta inmune en el huésped es un proceso importante porque determina la severidad de la enfermedad y el potencial patógeno. Los mecanismos de defensa innata y adquirida son aplicables en las bolsas periodontales. La contribución relativa de cada una, hacia la protección y posible cura contra la destrucción tisular no está delineada con precisión.

Recordemos que el organismo constituye un complejo biofilm y en este contexto podría ser fenotípicamente distinto de los cultivos de crecimiento en laboratorio. La habilidad de *Porphyromonas gingivalis* para unirse a otras bacterias orales podría tener implicaciones para la resistencia a fagocitosis, desde la ingestión de varios agregados de bacterias podría ser menos eficiente que la ingestión de células simples. El tratamiento actual de la periodontitis no es específico, sino que está centrado en la remoción de placa subgingival por métodos mecánicos de debridación los cuales requieren técnicas quirúrgicas. Este tipo de tratamiento es costoso, doloroso y de pronóstico variable, debido en parte al poco apoyo del paciente. El uso de antibióticos ya sean locales como sistémicos es limitado por la necesidad constante de tratamiento para prevenir el reestablecimiento del patógeno. A pesar de ello, el desarrollo de una vacuna depende de la identificación de antígenos bacterianos que son expresados *in vivo* e inducen la respuesta protectora. Por lo tanto es importante combina estrategias proteómicas, genómicas e inmunológicas para identificar antígenos bacterianos de patógenos periodontales y evaluar su potencial como candidatos para el desarrollo de una vacuna multiespecies para periodontitis como un coadyuvante en la terapia periodontal.

Mejorar la comprensión de la interacción entre bacterias periodontales y células del huésped a niveles celulares y moleculares podría tener una gran relevancia para ayudar a la defensa del huésped.

BIBLIOGRAFÍA

1. [www.iqb.es/Odonto/ Atlas/Glosario/encia.htm](http://www.iqb.es/Odonto/Atlas/Glosario/encia.htm)
2. [www.bellasonrisa.com.mx/ ipsempress/puente.html](http://www.bellasonrisa.com.mx/ipsempress/puente.html)
3. <http://www.pc.maricopa.edu/dental/ecc/preview/docs/Part1/exam4a.htm>
www.dental--health.com
4. [www.enexus.com/ gumdisease/](http://www.enexus.com/gumdisease/)
5. <http://www.encolombia.com/odontologia/foc/foc20202-enfermedad.htm>
6. http://www.advancedperiodontics.com/stages_of_the%20disease.htm
7. Loesche WJ, Grossman NS. Periodontal Disease as a Specific, albeit Chronic, Infection: Diagnosis and Treatment; Clin Microbiol Rev. 2001; 14(4): 727–752.
8. Nelson KE, Fleischmann RD, DeBoy RT, Paulsen IT, Fouts DE, Eisen JA, Daugherty SC, Dodson RJ, Durkin AS, Gwinn M, Haft DH, Kolonay JF, Nelson WC, Mason T, Tallon L, Gray J, Granger D, Tettelin H, Dong H, Galvin JL, Duncan MJ, Dewhirst FE, Fraser CM. Complete Genome Sequence of the Oral Pathogenic Bacterium *Porphyromonas gingivalis* Strain W83; The Institute for Genomic Research Journal of Bacteriology; 2003, 185 (18) ;5591-5601
9. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gom line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. Microbiol Mol Biol Rev 1998; 62: 1244-1263
10. Guilarte C, Perrone M, Bacterias Periodontopatógenas: Bacilos Anaerobios gran negativos como agentes Etiológicos de la Enfermedad Periodontal. Acta Odontol. Venez, 2005, 43 (2); 198-204.
11. [http://www.pgingivalis.org/ATCC33277\(1\).htm](http://www.pgingivalis.org/ATCC33277(1).htm)
12. [http://www.pgingivalis.org/ATCC33277\(2\).htm](http://www.pgingivalis.org/ATCC33277(2).htm)
13. [http://www.pgingivalis.org/W50BEI\(2\).htm](http://www.pgingivalis.org/W50BEI(2).htm)
14. [http://www.pgingivalis.org/W50BEI\(1\).htm](http://www.pgingivalis.org/W50BEI(1).htm)
15. O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC. Antigens of bacteria associated with periodontitis. Periodontology 2000; 35: 1001-134.

16. Muthukuru M, Jotwani R, Cutler CW. Oral mucosal endotoxin tolerance induction in chronic periodontitis. *Infect Immun.* 2005;73(2):687-694.
17. Brade H, Opal SM, Vogel SN, Morrison DC. Endotoxin in health and disease, Merckel Deckker inc, New York USA, 1999; pp902
18. Van Steenberghe TJ, Delemarre FG, Namavar F, De gras J. Differences in virulence within the species *Bacteroides gingivalis*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1987; 53: 233-244.
19. Neiders ME; Chen PB, Suido H. Heterogeneity of virulence among studies of *Bacteroides gingivalis*. *J. Periodont Res* 1989, 24: 192-198
20. Sundquist G, Fiador D, Hanstrom L, Sorlin S, Sandstrom G. Phagocytosis and virulence of different strains of *Porphyromonas gingivalis*. *Scand. J. Dent Res* 1991; 99: 117-129
21. Laine ML, van Winkelhoff AJ. Virulence of six capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* in a mouse model. *Oral Microbiol. Immunol.* 1998; 13: 322-325.
22. Van Winkelhoff AJ, Appelmeik BJ, Kippuw N, De Gras J. K-antigen in *Porphyromonas gingivalis* are associated with virulence. *Oral Microbiol. Immunol.* 1993; 8: 259-265
23. Amano A. Molecular interactions of *Porphyromonas gingivalis* with host cells: Implication for the microbial pathogenesis of periodontal disease. *J. Periodontol.* 2003; 74: 90-96.
24. Xie H, Kozlova N, Lamont RJ. *Porphyromonas gingivalis* Genes Involved in *fimA* Regulation *Infect Immun.* 2004; 72(2): 651–658.
25. Hamada S, Amano A, Kimura S, Nakagawa I, Kawabata S, Morisaki I. The importance of fimbriae in the virulence and ecology of some oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol.* 1998; 13: 129-138
26. Lamont RJ, Jenkinson HF. Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 341-349
27. Nassar H, Chou MH, Khlgatian M, Gibson FC III, Van Dyke TE, Genco CA. Role for fimbriae and lipoteichoic acid-specific cysteine protease gingipain K in

expression of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein expression in *Porphyromonas gingivalis* infected endothelial cells. *Infect. Immun.* 2001; 70:268-276.

28. Khlgatian M, Nassar H, Chou MH, Gibson FC III, Genco CA. Fimbriae dependent activation of cell adhesion molecule expression in *Porphyromonas gingivalis* –infected endothelial cells. *Infect Immun.* 2002; 78: 257-267.

29. Lammont RJ, Yilmaz O. In or out: the invasiveness of oral bacteria. *Periodontol.* 2000; 2002, 30: 61-69

30. Lee LY, Sojar HT, Bedi GS, Genco RJ. *Porphyromonas gingivalis* fimbrillin: size, amino-terminal sequence, and antigenic heterogeneity. *Infect Immun* 1991; 59:383-389

31. Nakagawa I, Amano A, Kimura RK, Nakamura T, Kawabata S, Hamada S. Distribution and molecular characterization of *Porphyromonas gingivalis* carrying a new type of fim A gene. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1909-1914,

32. Nakagawa I, Amano A, Ohara-Nemoto Y. Identification of a new variant of fimA gene of *Porphyromonas gingivalis* and its distribution in adults and disabled populations with periodontitis. *J. Periodon. Res.* 2002; 37: 425-432.

33. Hamada S, Fujiwara T, Morishima S. Molecular and immunological characterization of the fimbriae of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol. Immunol.* 1994; 38: 921-930.

34. <http://www.stdgen.lanl.gov/oragen/bacteria/pgin/fimbrillin.html>

35. Yoshimura f, Takahashi K., Nodasaka Y, Suzuki T. Purification and characterization of a novel type of fimbriae from oral anaerobe *Bacteroides gingivalis*, *J. Bacterial.* 1984: 160: 949-957.

36. Hamada N, Sojar HT, Cho MI, Genco RJ. Isolation and characterization of a minor fimbria from *Phorphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 1996; 64: 4788-4794.

37. Murakami Y, Hanazawa S, Watanabe A, Naganuma K, Iwasaka H, Kawakami H, Kitano S. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae induce a 68 kilodalton phosphorylated protein in macrophages. *Infect. Immun.* 1994; 62: 5242-5246.
38. Nagakawa I, Amano A, Inaba H, Kawai S, Hamada S. inhibitory effects *Porphyromonas gingivalis* fimbriae on interactions between extracellular matrix proteins and cellular integrins. *Microbes Infect.* 2005; 7: 157-163.
39. Ozaki K, Hanazawa S, *Porphyromonas gingivalis* fimbriae inhibit caspase-3-mediated of monocytic THP-1 cell under growth factor deprivation via extracellular signal-regulated kinase-dependent expression of p21 Cip/WAF1. *Infect. Immun.* 2001; 69 4944-4950.
40. Sroka A, Sztukowska M, Potempa J, Travis J, Genco CA. Degradation of host hemo proteins by lysine- and Arginine- Specific Cysteine proteinases (gingipains) of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of bacteriology*; 2001. 183, (19):5609-5616.
41. Olczak T, Dixon DW, Genco CA. Binding specificity of the *Porphyromonas gingivalis* Heme and hemoglobin receptor HmuR, Gingipain K, and Gingipain R1 for heme, Porphyrins and Metalloporphyrins. *Journal of bacteriology.* 2001, 183(19), 5599-5608.
42. Nakagawa T, Saito A, Hosaka Y, Ishihara K. Gingipains as candidate antigens for *Porphyromonas gingivalis* vaccine. *Keio J Med* 2003;52:158-162.
43. <http://crobm.iadrjournals.org/content/vol13/issue2/images/large/WANG01.jpeg>
44. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology* 2000; 34, 2004, 9-21.
45. Wang PL, Ohura K. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide signaling in gingival fibroblast-CD14 and toll-like receptors. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 132-142.
46. Paramaesvaran M, Nguyen KA, Caldon E, McDonald JA, Najdi S, Gonzaga G, Langley DB, DeCarlo A, Crossley MJ, Hunter N, Collyer CA.

- Porphyrin Mediated Cell Surface Heme Capture from Hemoglobin by *Porphyromonas gingivalis* Journal of Bacteriology, 2003, 185 (8); 2528-2537
47. Kantarci A, Van Dyke TE. Lipoxin signaling and their role in periodontal disease. Prostaglandins Leyukot Essent Fatty Acids. 2005; 73 (3-4): 289-299.
 48. Myurray DA, Wilton JMA. Lipopolisaccharide from the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* prevents apoptosis of HL60-derived neutrophils *in vitro*. Infection and immunity, 2003; 71,12: 7232-7235.
 49. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A: Quantitative real time polymerase Caín reaction versus cultura: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomicetenmcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. J Clin Periodontol 2004; 31: 1061-1069.
 50. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. Periodotology 2000; 36, 2004, 14-26.
 51. Sanai Y, Persson GR, Starr JR, Lyuis HS, Bernardo M, Leitao J, Roberts MC. Presence and antibiotic resistance of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in children. J Clin Periodontol 2002; 29: 929-934
 52. Dierichx K, Payuwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ, Steenberghe D, Quirinen M. Viability of cultured periodontal pocket ephitelium cell and *Porphyromonas gingivalis* association. J Clin Periodontolo 2002;29: 987-996.
 53. Grayson R, Douglas CWI, Heath J, Rawilson A, Evans GS. Activation of human matrix methaloproteinase 2 by gingival crevicular fluid and *Porphyromonas gingivalis*. J Clin Periodontol 2003; 30: 542-550.
 54. Van Wintkerlhoff Aj, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. *Porphyromonas ginigivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol 2002;29: 1023-1028.

55. Cullinan MP, Hamlet SM, Westerman B, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ: Acquisition and loss of *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomicetemcomitans* and *Prevotella intermedia* over a 5-year period: effect of a triclosan/ copolymer dentrifice. J Clin Periodontol 2003; 30: 532-541.
56. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomicetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. J Clin Periodontol 2004; 31: 1034-1047.

ANEXOS

GLOSARIO

- **Albúmina:** Cualquiera de las sustancias pertenecientes a una clase de proteínas naturales, solubles en agua, que se coagulan por calor y que están presentes en el huevo, la leche, el tejido muscular, la sangre y numerosos tejidos vegetales. Se caracteriza por su riqueza en azufre.
- **Apoptosis:** La muerte celular programada o apoptosis es el conjunto de reacciones bioquímicas que ocurren en las células cuando se diferencian y ejercen funciones normales, concluyendo tras un cierto número de divisiones celulares con la muerte celular de una forma ordenada y silenciosa; por lo que a la apoptosis se le conoce como muerte celular programada.
- **ATCC:** American Type Culture Collection, asociación privada dedicada a la búsqueda, colección, preservación y distribución de microorganismos vivos, virus, pruebas de DNA, plantas y células animales y humanas.
- **Bacterias Gram negativas:** dícese de las bacterias que teñidas con determinados colorantes básicos (generalmente cristal violeta), al ser tratadas con alcohol pierden su color y toman el del colorante utilizado como medio de contraste, generalmente rojo o anaranjado.
- **Bacterias Gram positivas:** dícese de las bacterias que teñidas con determinados colorantes básicos (generalmente cristal violeta), al ser tratadas con alcohol conservan su color y aparecen de color azul oscuro.
- **Calicreína:** enzima o sistema enzimático que, actuando sobre un sustrato (cinicógeno) perteneciente al grupo de las globulinas α_2 , da lugar a la liberación de péptidos vasodilatadores (cininas) del tipo bradicidina. La calicreína se encuentra normalmente en forma de un complejo o precursor inactivo, el calicreinógeno.
- **Cápsula:** masa gelatinosa alrededor de ciertas bacterias.
- **Carbohidrato:** molécula compuesta por hidrógeno y carbono.

- Catalasa: es una enzima que se encuentra en organismos vivos y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en oxígeno y agua.
- CD14: moléculas de reconocimiento presente en macrófagos que se une a lipopolisacáridos para el reconocimiento inicial de las bacterias.
- Células mieloides: osteoclasto o célula gigante de la médula ósea
- Ciclosporina: Medicamento inmunosupresor utilizado para prevenir el rechazo de los trasplantes de riñón, hígado y de corazón.
- Cinina: nombre genérico aplicado a determinados polipéptidos naturales con actividad vasodilatadora, como la bradicinina, la calicreína, etc.
- Citoquinas: polipéptido responsable del crecimiento y la diferenciación de distintos tipos de células.
- Citocromo C: Componente de la cadena respiratoria mitocondrial de la mayoría de los eucariotas; se encuentra situado en la membrana mitocondrial interna expuesto hacia el lado intermembrana. Está codificado por el DNA nuclear y se sintetiza como un precursor que posee una presecuencia N-terminal de 61 aminoácidos. Dicha presencia está formada por una región N-terminal muy básica de 35 aminoácidos, característica de un dominio que dirige a la matriz, una región central de 19 aminoácidos sin carga y una región C-terminal acídica de 7 aminoácidos. Parte de esta presecuencia es separada por una proteasa de la matriz cuando el polipéptido se inserta en la membrana interna. A continuación, el grupo *hemo* se une a la proteína y provoca un cambio de conformación para que pueda actuar como una segunda proteasa del espacio intermembrana que elimina el resto de la presecuencia. De esta manera, el citocromo C queda insertado con la orientación adecuada de la membrana.
- Codón: la información genética se escribe con cuatro letras, pero que van agrupadas de tres en tres. Cada grupo de tres se llama codón y lo que hace es codificar un aminoácido.

- Dalton: Unidad estándar de masa de los átomos. Un protón tiene una masa de 1.007 Daltons y un electrón una masa de 0.0005 daltons, por lo que en la práctica 1 Dalton es igual a la masa de un átomo de hidrógeno.
- Diabetes: Enfermedad producida por una alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono en el organismo. En su forma más común (diabetes Mellitus) hay una deficiencia en la producción de insulina por el páncreas, lo que impide el almacenamiento en las células de la glucosa, y se manifiesta por aumento de la presencia de este hidrato de carbono en la sangre.
- Enfermedad de Crohn: enfermedad crónica autoinmune en la cual el sistema inmunológico del individuo ataca su propio intestino produciendo su inflamación. Frecuentemente la parte afectada es el íleon o tramo final del intestino delgado, aunque la enfermedad puede aparecer en cualquier lugar del tracto intestinal.
- Enfermedad periodontal: enfermedad que ataca los tejidos de soporte dentario
- Epítopo: parte del antígeno que se une con el anticuerpo
- Exón: región de la secuencia codificante de un gen que se traduce a una proteína. La denominación procede del hecho de que los exones son las únicas partes de un transcrito de ARN que se observan fuera del núcleo.
- Factor AP-1: Proteína dimérica, formada por homodímeros entre miembros de la familia Jun, o heterodímeros entre miembros de las familias Jun y Fos. AP1 es un importante factor de transcripción, identificado por primera vez en la regulación del gen de la metalotioneína humana II_A, y posteriormente en genes inducidos por ésteres de forbol. Más tarde se observó que la actividad de AP1 era inducida por una amplia gama de estímulos, entre los que se encuentran radiaciones con luz UV, factores de crecimiento, activadores de células T, etc. Es un factor involucrado en la regulación fina de la expresión tejido-específica de sus genes blanco,

mediante la combinación específica y exacta de los miembros proteicos que conforman este factor de transcripción.

➤ Factor de necrosis tumoral (TNF- α): es una sustancia química del grupo de las citoquinas que es liberada por células del sistema inmune. Esta sustancia interviene en la inflamación y la destrucción articular secundarias a la artritis reumatoide, así como en otras patologías. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es miembro de un grupo de otras citocinas que estimulan la fase aguda de la reacción inflamatoria. Es una hormona glicopéptida formada por 185 aminoácidos, que procede de un pro-péptido formado por 212 aminoácidos. Algunas células sintetizan isoformas más cortas de la molécula. Genéticamente el TNF está relacionado con el cromosoma 7p21.

➤ Factor estimulante de las colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF): Es una clase de hormona sintética creada por el hombre a partir de una hormona humana natural. Es un líquido incoloro que se inyecta por vía subcutánea o se administra por vía intravenosa. El GM-CSF ayuda al cuerpo a generar un tipo de glóbulos blancos que combaten las infecciones, llamados neutrófilos, los que pueden ser destruidos por la quimioterapia.

➤ Factor quimiotáctico KC: glicoproteína citoquina pequeña producida por los monocitos.

➤ Factor de transcripción: es una proteína que participa en la iniciación de la transcripción del ADN, pero que no forma parte de la ARN polimerasa. Los factores de transcripción actúan reconociendo sitios en el ADN o a otro factor, o a la ARN polimerasa.

➤ Fenitoina: Medicamento utilizado para tratar diversos tipos de convulsiones y de crisis convulsivas, actuando en el cerebro y el sistema nervioso en el tratamiento de la epilepsia.

➤ Fibrinógeno: Globulina plasmática de alto peso molecular sintetizada en el hígado; interviene en la coagulación al transformarse en fibrina por la acción de la trombina.

- Fimbrias: Apéndice filamentosos, más pequeño y numeroso que los flagelos, presente en algunas bacterias.
- Hem: El grupo Hem se localiza entre las α -hélices E y F orientado con los grupos polares propionato hacia la superficie, el resto del grupo se orienta hacia el interior hidrofóbico de la molécula. El átomo de hierro se mantiene unido a la α -hélice F, mediante un enlace en su quinta posición de coordinación con el residuo HisF8 y se mantiene próximo a la cadena α -hélice E, mediante interacciones de tipo polar con el residuo HisE7.
- Hemina: clorhidrato de ferriprotoporfirina el cual contiene hierro en su estado férrico.
- Hemoglobina: es una heteroproteína de la sangre, de peso molecular 68.000, de color rojo característico, que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos, en mamíferos y otros animales. La forman cuatro cadenas polipeptídicas (globina) a cada una de las cuales se une un grupo hemo, cuyo átomo de hierro es capaz de unirse de forma reversible al oxígeno.
- Hemopexina: proteína que se une al grupo hemo y que existe en el plasma sanguíneo; puede ser un regulador del metabolismo de los grupos hemo y de los medicamentos así como un distribuidor de grupos hemo. La medición de sus niveles en el suero y en el líquido amniótico puede ser útil en la corroboración de la gravedad de la Porfiria y de ciertos estados hemolíticos
- Integrina: las integrinas son glicoproteínas heterodiméricas de membrana (con una cadena α y una β); se han caracterizado 16 subunidades α y 8 subunidades β . Estas subunidades se unen por medio de enlaces no covalentes, formando más de 20 combinaciones diferentes. Las integrinas se clasifican de acuerdo a sus cadenas β : $\beta 1$ integrinas, $\beta 2$ integrinas (leucocitarias), $\beta 3$ integrinas, etc. Las integrinas median interacciones heterofílicas tipo célula-célula y célula-matriz extracelular; pueden unirse a otras moléculas de adhesión (por ejemplo ICAM-1), a algunas proteínas de la

matriz extracelular (fibronectina, laminina), o a moléculas solubles como el fibrinógeno y el Factor de von Willebrand. Las interacciones con sus ligandos son dependientes de cationes divalentes: calcio para las b1 integrinas y magnesio para las b2 integrinas. La activación de las integrinas depende de una gran difusibilidad en la membrana celular que le permite formar agrupamientos que facilitan su función adhesiva. Las integrinas interactúan a nivel intracelular con proteínas del citoesqueleto (como la actina y talina) para integrar la información del medio extracelular con la actividad de la célula, acción de la cual se deriva su nombre.

Tipo de Integrinas	Nombre alterno	Subunidades	Distribución tisular	Contra-receptor	Regulación
B1 (CD29) VLA-1	CD49a/CD29	a1b1	Linfoc. T activados, fibroblastos, sinusoides hepáticos, mesangio	Laminina, Colágeno	Los antígenos y mitógenos elevan la expresión
VLA-2	CD49b/CD29, ECMRII	a2b1	Linfoc. T activados, endotelio, plaquetas, basófilos Glomérulo, Tiroides, membrana basal	Laminina, Colágeno Tenascina Laminina, Colágeno, fibronectina, Epiligrina	Los antígenos y mitógenos elevan la expresión
VLA-3	CD49c/CD29, ECMRI	a3b1	Linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, NK		Los antígenos y mitógenos elevan su expresión y actividad
VLA-4	CD49d/CD29, LPAM-1	a4b1	Linfocitos, monocitos, endotelio, basófilos, mastocitos, fibroblastos	Fibronectina, VCAM-1	Los antígenos elevan su actividad
VLA-5	CD49e/CD29, ECMRVI, Receptor de fibronectina	a5b1	Plaquetas, Linfoc. T, eosinófilos	Fibronectina	Los antígenos elevan su actividad
VLA-6	CD49f/CD29	a6b1	Plaquetas, linfocitos B	Laminina	
—	CD51/CD29	aVb1	Keratinocitos, músculo hepatocitos, epitelio respiratorio	Fibronectina, vitronectina	—

—	—	a9b1		Tenascina	—
B ₂ (CD18)	Integrinas leucocitarias				
LFA-1	CD11a/CD18	aLb2	Todos los leucocitos	ICAM-1, 2 y 3 E-selectina	PAF, IL-3, 5, 6 GM-CSF
MAC-1	CD11b/CD18, CR3	aMb2	Monocitos, granulocitos, linf. grandes granulares	C3bi, ICAM-1, CD23 Factor X, fibrinógeno	PAF, IL-3, 5, 6 GM-CSF, LTB4
P150,95	CD11c/CD18, CR4	aXb2	Monocitos, granulocitos, linf. grandes granulares, plaquetas y algunos Linf. B	C3bi, fibrinógeno, CD23	PAF, IL-3, 5, 6 GM-CSF, LTB4
—	aD/CD18	aDb2	Macrófagos tisulares	ICAM-3	Constitutiva
	Citoadhesinas	aIbb3	Plaquetas, endotelio	Fibronectina, Factor von Willebrand, fibrinógeno, vitronectina	Expresión elevada por múltiples estímulos
	CD41/CD61	aVb3	Endotelio, plaquetas, cél. Mesenquimales	Vitronectina, CD31, fibrinógeno, Factor von Willebrand, trombospondina, laminina, tenascina	Expresión elevada por múltiples estímulos
	CD51/CD61	a6b4	Células endoteliales y epiteliales	Laminina, Epiligrina	—
	CD49f/CD104	a4b7	Algunos Linf. T de memoria, eosinófilos, basófilos, endotelio	MadCAM-1, VCAM-1, fibronectina	—
	CD49d/b7	aEb7		E-cadherina	Expresión elevada
	CD103/b7		Linf. Intestinales intraepiteliales, linf. T pulmonares		por TGF-b. Disminuida por TNF-a, IFN-g, IL- 1
	CD51/CD -	aVb5	Céls. Carcinoma	Vitronectina, fibronectina	—
	—	aVbs	Céls. Carcinoma	Péptidos RDG	—

➤ Interleucina (IL) 6 y la IL-1b son citocinas proinflamatorias cuya expresión aumenta más después de una laparotomía que tras una laparoscopia. In vitro, la IL-6 y la IL-1b estimulan la expresión de factores

angiogénicos como el factor de crecimiento del endotelio vascular y la ciclooxigenasa

➤ Interferón gamma (IFN- γ): Es una proteína producida naturalmente por el sistema inmunitario de la mayoría de los animales como respuesta a agentes externos, tales como virus, bacterias, parásitos y células cancerígenas. El interferón pertenece a la clase de las glicoproteínas como las citocinas. El interferón gamma participa en la regulación de las respuestas inmune e inflamatoria. En los humanos, sólo hay un tipo de interferón gamma. Se produce en células T activadas. El interferón gamma tiene efectos antivirales y antitumorales, pero generalmente débiles. Sin embargo, potencia los efectos del interferón alpha y beta. Desafortunadamente, el interferón gamma necesita ser liberado en el tumor en dosis muy pequeñas y no es, actualmente, muy útil en el tratamiento del cáncer.

➤ Intrón: región de la secuencia codificante de un gen que se traduce en proteína. Los intrones son frecuentes en los genes eucariotas pero raros en los procariotas. Se eliminan del ARN antes de la traducción.

➤ Lactoperoxidasa: La lactoperoxidasa es una enzima que se encuentra de forma natural en determinados fluidos biológicos. La fabrica el tejido mamario. Para que esta surta su efecto necesita un ión que actúe sobre ella, formado por la reacción de oxígeno libre y Tiocianato de Sodio. Al activarse, la enzima ejerce una acción bacteriostática o bactericida, en dependencia de los organismos con los cuales interactúe.

➤ Laminina: glicoproteína que forma parte de la lámina basal asociada a otras proteínas como el colágeno, entactina, proteoglicanos y fibronectinas. Tiene una longitud de 120 nm, y atraviesa todas las capas de la lámina basal. Su función sería la de anclar las células epiteliales a la lámina densa pues tiene sitios de unión para moléculas de integrina de la membrana celular de la base celular.

- Leucemia: Proliferación incontrolada de células sanguíneas inmaduras (blastos) en la médula ósea y que se acumulan tanto ahí como en la sangre, logrado reemplazar a las células normales.
- Lipopolisacárido: molécula presente en varias bacterias, esta rodea a la bacteria en toda su estructura lo que hace difícil su reconocimiento por el sistema inmune, por lo que es considerada un importante antígeno.
- Macrófago: Célula fagocitaria perteneciente al sistema reticuloendotelial (Sistema monolítico-fagocitario). Los hay de dos clases: fijos, como los histiocitos del tejido conjuntivo, las células de Kupffer en el hígado; y libres, en las zonas de inflamación.
- Marcos de lectura abierto (ORFs): (*open reading frame*). En genética se llama marco abierto de lectura a cada una de las secuencias de ADN comprendida entre un codón de inicio (AUG) de la traducción y un codón de terminación. Cuando un marco abierto de lectura codifica para una proteína se llama gen. En inglés el marco abierto de lectura se denomina ORF
- Metahemoglobina: hemoglobina con grupo hemo con hierro en estado ferrico (3+). Esta no une oxígeno, se produce por una enfermedad congénita en la cual hay deficiencia de reductasa metahemoglobina, la cual mantiene en ferroso el estado del hierro.
- Moléculas de Adhesión (CAMs): Las células de un organismo multicelular se reconocen entre sí y se adhieren específicamente, este proceso está basado en la presencia de moléculas específicas, denominadas Moléculas de Adhesión Celular las cuales forman parte de un conjunto muy complejo cuyas funciones van más allá del simple reconocimiento y adherencia celular y que poseen enorme importancia en múltiples procesos biológicos tanto normales como patológicos que están en plena etapa de investigación. Los CAMs son glicoproteínas ubicadas en la superficie celular que constituyen receptores celulares, aunque también se encuentran en la matriz tisular, y mediante las cuales se efectúan las interacciones específicas célula-célula y célula-matriz. Estas glicoproteínas tienen en un extremo un

grupo carboxilo, el llamado carboxi-terminal, que se encuentra fijo en el citoplasma y en el cito-esqueleto. Inmediatamente después del carboxi-terminal se encuentra la región transmembrana, que atraviesa la membrana celular. El resto de la glicoproteína se ubica extracelularmente y termina en un grupo amino, el amino-terminal que da la especificidad a la molécula para unirse a otras CAMS.

➤ **Movimiento browniano:** Es el movimiento aleatorio que se observa en algunas partículas microscópicas que se hallan en un medio fluido. Recibe su nombre en honor a Robert Brown quien lo describe en 1827. El movimiento aleatorio de estas partículas es debido a que su superficie es bombardeada incesantemente por las moléculas del fluido sometidas a una agitación térmica. Este bombardeo a escala atómica no es siempre completamente uniforme y sufre variaciones estadísticas importantes. Así la presión ejercida sobre los lados puede variar ligeramente con el tiempo provocando el movimiento observado. Tanto la difusión como la ósmosis son fenómenos relacionados con o basados en el movimiento browniano.

➤ **Neutrófilos:** leucocito polinuclear de granulaciones neutrófilas.

➤ **Factor de transcripción NF- κ B:** El NF- κ B forma parte de una familia de factores de transcripción inducibles que participan en la respuesta inmune y en la inflamación. Además, también está involucrado en la prevención de la apoptosis inducida en tratamientos con citoquinas

➤ **Nifedipina:** Es un medicamento utilizado para tratar la hipertensión. Relaja los vasos sanguíneos para que su corazón no tenga que bombear con dificultad. También aumenta el suministro de sangre y de oxígeno al corazón para controlar el dolor en el tórax:

➤ **Nucleósidos:** Los nucleósidos son las moléculas resultantes de la unión de una base nitrogenada y una pentosa. La unión se realiza mediante un enlace N-glucosídico que se establece entre el C1' de la pentosa y un nitrógeno de la base (el N1 si es pirimidínica y el N9 si es púrica) con la pérdida de una molécula de agua. Se nombran añadiendo al nombre de la

base la terminación –osina si es una base púrica, por ejemplo la adenosina, o la terminación –idina si se trata de una base pirimidínica, por ejemplo la citidina. Si la pentosa es la desoxirribosa, se añade el prefijo desoxi-; por ejemplo, desoxiadenosina o desoxicitidina.

➤ Nucleótidos: son los ésteres fosfóricos de los nucleósidos. Se forman por unión de un nucleósido con una molécula de ácido fosfórico en forma de ión fosfato (PO_4^{3-}), que le confiere un carácter fuertemente ácido al compuesto. El enlace éster se produce entre el grupo alcohol del carbono 5' de la pentosa y el ácido fosforico. Se nombra como el nucleósido del que proceden eliminando la a final y añadiendo la terminación 5'-fosfato, o bien monofosfato; por ejemplo, adenosín-5'-fosfato o adenosín-5'-monofosfato (AMP).

➤ Osteoclastos: elemento celular gigante multinucleado, de la médula ósea, que tiene función de resorción o destrucción del hueso.

➤ Oxihemoglobina: hemoglobina cuando está unida al oxígeno, dando el aspecto rojo intenso característico de la sangre arterial. Cuando pierde el oxígeno, se denomina hemoglobina reducida, y presenta el color rojo oscuro de la sangre venosa. El equilibrio entre hemoglobina reducida y oxihemoglobina es lo que hace posible el reparto de oxígeno en el organismo.

➤ Pared Celular: estructura que protege la membrana celular propia de las células vegetales y muchas bacterias.

➤ Pénfigo: Enfermedad autoinmune caracterizada por presentar ampollas intraepidérmicas presenta en piel y mucosas. Las ampollas aparecen de manera espontánea y son relativamente asintomáticas, pero las lesiones se extienden y las complicaciones de la enfermedad originan gran toxicidad y debilidad.

➤ Proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1): quimioquina a nivel de proteína se localizan en el epitelio luminal y glandular así como en células endoteliales

- Protoporfirina IX: existen lípidos como compuestos mono y dipirrólicos (que apenas se encuentran libres porque son metabolitos intermedios) y compuestos tetrapirrólicos (de cadena abierta o cerrada). El anillo tetrapirrólico fundamental es la porfina, una estructura plana que posee numerosos dobles enlaces conjugados, que son los responsables de su espectro de absorción visible. El grupo más importante de compuestos tetrapirrólicos de cadena cerrada lo constituyen las porfirinas. Las porfirinas son porfinas sustituidas. De entre ellas hay que destacar la protoporfirina IX, a partir de la cual se origina un compuesto de coordinación con Fe, llamado hem.
- Queratina: Sustancia albuminoidea, muy rica en azufre, que constituye el componente principal de las capas más externas de la epidermis de los vertebrados y de otros órganos derivados del ectodermo, como pelos, uñas, plumas, cuernos o pezuñas.
- Receptor: término para el aparato u órgano que recibe un estímulo, denominado distintamente: exo, intero y propioceptor. Grupo químico en la superficie de toda célula inmunológicamente competente que es capaz de combinarse con el antígeno.
- Resorción ósea: desaparición total o parcial de tejido óseo.
- Selectinas: Las moléculas de adhesión se han agrupado en las siguientes familias: selectinas, integrinas, superfamilia de las inmunoglobulinas, proteínas de la matriz extracelular y caderinas. Estas moléculas están selectivamente expresadas en células relacionadas con la fisiología vascular (leucocitos, plaquetas y endotelio) y que contienen un dominio lectina. Esta familia está conformada por tres glicoproteínas diferentes: L-selectina, E-selectina y P-selectina; el prefijo hace referencia al lugar donde fueron identificadas inicialmente (leucocitos, endotelio y plaquetas, respectivamente). La familia de las selectinas puede expresarse como moléculas de superficie (E y L selectinas), pueden ser almacenadas en los gránulos de las plaquetas o en los cuerpos de Weibel-Palade de las

células endoteliales (P-selectina), o actuar como moléculas solubles (L-selectina). La L-selectina se localiza exclusivamente en los leucocitos, mientras que la P y E selectinas están en las células endoteliales y las plaquetas. Sus ligandos son carbohidratos fucosilados, sialilados o sulfatados; las adhesiones que llevan a cabo son generalmente de tipo heterofílico, dependientes de calcio y de carácter transitorio. Estas moléculas median la adhesión laxa de los leucocitos a las células endoteliales activadas durante los procesos inflamatorios y son necesarias para la migración de los linfocitos a los nódulos linfoides periféricos durante la circulación y recirculación linfocitaria. Aunque las selectinas tienen un corto dominio intracelular, ellas pueden transducir señales reguladoras que afectan la función de las integrinas y la producción de citoquinas.

Tipo de Selectina	Nombre alternativo	Distribución	Contra receptor	Regulación
E-selectina (CD62-E)	ELAM-1	Endotelio activado	Sialil Lewis X (CD15s) Sialil Lewis A, L-selectina LFA-1, CD66, ESL-1 CLA (antígeno cutáneo leucocitario)	Expresión aumentada por IL-1, TNF- α , IFN-g, IL-4, sustancia P, LPS
L-selectina (CD63-L)	LECAM-1, Leu-8 Mel-14Ag	Leucocitos en reposo	E-selectina, P-selectina GlyCAM (PNAd), CD34 MAdCAM-1, PSGL-1 Sialil Lewis X	Se aumenta rápidamente luego de la activación, para luego ser liberada por clivaje
P-selectina (CD62-P)	GMP-140, PADGEM	Plaquetas activadas, endotelio activado	Sialil Lewis X (CD15s) Lewis X (CD15), PSGL-1 L-selectina, PNAd	Expresión aumentada por trombina, histamina, PAF, C5a, LPS, ROIs

➤ SIDA: es el acrónimo del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida que afecta a los humanos infectados por VIH (Virus de Inmunodeficiencia humana). Se dice que una persona padece SIDA cuando su organismo, debido a la inmunodepresión provocada por el VIH, no es capaz de ofrecer una respuesta inmune adecuada contra las infecciones. Cabe destacar la diferencia entre estar infectado por el VIH y padecer SIDA. Una persona infectada por el VIH es seropositiva, y pasa a desarrollar un cuadro de SIDA

cuando su nivel de Linfocitos T CD4 (que son el tipo de célula al que ataca el virus) desciende por debajo de 200 células por mililitro de sangre.

- Síntesis: producción de un compuesto químico por la reunión de sus elementos.
- TLR: Receptor presente en la superficie de los macrófagos llamados receptores de tipo Toll, detectan moléculas características de la superficie de las bacterias, ayudan a activar al sistema inmune para defenderse contra dichas bacterias.
- Traducción: Proceso por el que se sintetiza un polipéptido tomando un RNA mensajero como molde.
- Transcripción: síntesis de mRNA, rRNA y tRNA, de acuerdo con la plantilla del DNA correspondiente.
- Transposón: segmento de ADN que puede cambiar de un lugar a otro en el genoma.
- Vancomicina: es la droga de elección para tratar infecciones severas por *Staphylococcus* spp. meticilino-resistente, incluyendo: neumonía, empiema, endocarditis, osteomielitis y abscesos de partes blandas. También es de elección en infecciones severas por cepas de *Staphylococcus* meticilino-sensibles en enfermos alérgicos a los betalactámicos. Pero vancomicina es menos eficaz que penicilina penicilinasa-resistente para tratar endocarditis infecciosa estafilocócica cuando la cepa es meticilino-sensible.