

PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA PERIODONTOPATÓGENOS ORALES - DENTAID

Blanc V*, León R.*

* PhD - Departamento de Microbiología DENTAID SL

La gingivitis y la periodontitis son enfermedades causadas en un inicio por un conjunto específico de bacterias orales. Aun así, ninguna de estas bacterias es capaz por sí sola de generar una enfermedad tan compleja como la periodontitis, sino que el proceso está orquestado por un selecto grupo de microorganismos con múltiples interacciones que promueven la respuesta inflamatoria, la destrucción tisular y la reabsorción ósea.¹ Entre los periodontopatógenos más destacados se encuentran *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.^{2,3}

La capacidad patogénica de estos microorganismos es determinada por la presencia de un conjunto de factores de virulencia con los que alcanzan sus dos principales objetivos: Colonizar y establecerse en el área subgingival y obtener nutrientes.^{4,5} En la siguiente tabla se resumen las principales moléculas producidas por las bacterias orales y que son consideradas factores de virulencia.

Las bacterias orales poseen la capacidad para establecerse en diferentes nichos presentes en la cavidad bucal. Así, en los primeros pasos de la colonización los mecanismos de adhesión juegan un papel primordial. Las adhesinas son moléculas presentes en la superficie bacteriana que reconocen y se unen específicamente a receptores de las células de los tejidos bucales, a otras especies bacterianas y a moléculas y estructuras del diente.^{6,7}

Se ha descrito que la microbiota bucal está compuesta por más de 700 especies bacterianas, de ahí que en la colonización de los diferentes nichos orales se establezcan innumerables fenómenos de

competencia.⁸

Por ejemplo, fruto de su metabolismo, estas bacterias generan desechos y toxinas que pueden tener efectos adversos en microorganismos vecinos. Igualmente, estos desechos pueden ser tóxicos para las células del hospedador, un ejemplo sería la liberación de grandes cantidades de amonio y ácidos orgánicos por parte de *P. gingivalis* tras metabolizar ciertos aminoácidos. Estas moléculas acaban dañando la mucosa de la cavidad oral y en algunos casos se ha descrito que inhiben la producción de citoquinas por parte de linfocitos T y B.^{9,10}

P. gingivalis y *A. actinomycetemcomitans* son dos de los principales microorganismos considerados como patógenos periodontales. Ambas especies se han aislado frecuentemente de sitios periodontales activos y se ha demostrado in vitro su capacidad para formar biofilm. En este artículo nos centraremos en los principales mecanismos de virulencia que presentan estas dos especies.

P. gingivalis

P. gingivalis es una bacteria gram negativa no mótil, asacarolítica, con morfología coco-bacilar y anaerobia obligada. La morfología colonial sobre agar sangre se corresponde con colonias lisas, inicialmente de color crema aunque tras una semana de incubación se observan de color negro.

Adhesinas

Actualmente, se han descrito un elevado número de interacciones adhesivas de *P. gingivalis* con diferentes elementos orales.¹¹

Los principales mecanismos de adhesión son dos:

- Adhesinas no fimbriadas. Formadas por homopolímeros de una proteína monomérica denominada Mfa, codificada en el gen *mfa*.
- Fimbrias. Estructuras filamentosas largas y delgadas constituidas por miles de subunidades monoméricas, llamadas fimbrilinas, codificadas en un gen monocopia, *fimA*. Esta fimbria tiene un papel importante en la adherencia de esta bacteria a superficies abióticas (implantes o prótesis), a esmalte dental, a células del hospedador y a otros microorganismos. Salvo excepciones, todas las cepas estudiadas de *P. gingivalis* contienen fimbrias en su superficie. Mediante estudios moleculares utilizando la técnica RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) se ha observado una alta variabilidad en el gen *fimA*, lo cual ha permitido describir seis tipos de fimbrias diferentes. Uno de ellos, el tipo II presenta una mayor asociación con periodontitis y con bolsas periodontales mayores a 8 mm.¹²

Estas estructuras de adhesión son altamente inmunogénicas, puesto que pacientes con periodontitis presentan niveles de anticuerpos y células de respuesta muy elevados en relación con individuos sanos. Además, en estudios *in vitro*, se ha observado su capacidad para inducir la síntesis y liberación de citoquinas e interleuquinas y la activación de células del sistema inmune.¹³

Proteasas

P. gingivalis tiene capacidad para liberar al espacio extracelular grandes cantidades de enzimas proteolíticas, que funcionan como degradadores de macromoléculas y permiten la obtención de hierro.

Además, éstas enzimas pueden provocar daño tisular y evasión de la respuesta inmune. En la tabla 3 se resumen las enzimas proteolíticas descritas en *P. gingivalis*.^{14,15}

De todas ellas, cabe destacar a las gingipainas, responsables del 85% de la actividad proteolítica de *P. gingivalis*. Degradan colágeno tipo I y tipo IV, proteínas de la matriz extracelular (fibrinógeno y laminina) y proteínas inflamatorias del huésped. También median la unión e invasión de células epiteliales de las superficies orales, facilitan la captación de proteínas transportadoras de Fe⁺² y su posterior proteólisis e intervienen en el procesamiento de la fimbria.¹⁶

Cápsula

Cuando se observa a *P. gingivalis* mediante microscopía electrónica se puede observar una capa externa densa, en algunos casos gruesa y en otros delgada. La cápsula, de composición variable según la cepa, proporciona a la bacteria protección frente a las defensas del hospedador, por ejemplo capacidad antifagocítica, resistencia al suero, menor activación de los leucocitos polimorfonucleares, menor autoaglutinación y menor reconocimiento de antígenos bacterianos de superficie por parte del sistema del complemento. Sin embargo, esta capa protectora no está presente en todas las cepas de este micro organismo.^{17,18}

A. actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans es un coco-bacilo, no mótil, gramnegativo y capnófilico. En cultivo líquido esta especie tiende a crecer formando agregados y adherida a la superficie del tubo. En agar, presenta colonias rugosas, translúcidas, con borde irregular y muy embebidas en el agar. Al observarlas a la lupa, algunas presentan una estructura en forma de estrella.

Adhesinas

En el caso de *A. actinomycetemcomitans* existe un elevado número de proteínas de superficie involucradas en la adhesión, tanto adhesinas fimbriadas como afimbriadas (*genes apiA, ema, aae*). En algunos casos, las adhesinas median uniones específicas, como la proteína "Aae", que interac-

ción específicamente con receptores de las células epiteliales gingivales. Contrariamente y de forma genérica, la fimbria de *A. actinomycetemcomitans*, formada por subunidades de la proteína flp, permite tanto la autoagregación, como la unión a hidroxipatita y a diferentes proteínas salivales. Mediante estos sistemas, *A. actinomycetemcomitans* puede unir colágeno tipo I, tipo II y tipo V, fibronectina e incluso tejido extraoral, como es el caso del tejido endotelial de la válvula mitral.⁵

Toxinas

A. actinomycetemcomitans secreta toxinas de naturaleza proteica que funcionan como inhibidores del sistema inmune del hospedador.

La leucotoxina es una proteína termolábil codificada en el gen *ItxA* que se encuentra asociada a la membrana externa o bien libre. La unión de la leucotoxina a su receptor celular provoca un conjunto de fenómenos inmunitarios que ocasionan daño en el hospedador:

- Degranulación de neutrófilos, lo que conlleva la liberación de metaloproteasas que degradan colágeno.
- Inducción de la apoptosis de leucocitos, linfocitos y células mieloides, precursoras de osteoclastos y macrófagos.
- Liberación del contenido de los lisosomas, induciendo la inflamación.

No todas las cepas de *A. actinomycetemcomitans* provocan los mismos signos clínicos. Así, el clon JP2, endémico del norte de África está asociado a pacientes con periodontitis agresivas. Un análisis molecular de este clon mostró que en la región río arriba del gen *ItxA* presentaba una delección de 530 pb, provocando una sobreexpresión de la toxina.^{5,19}

La Citolethal distending toxin (CDT) es un heterodímero formado por tres subunidades (CdtA, CdtB y CdtC) expresadas desde un operón policistónico. La prevalencia de este operón es muy elevada entre las cepas estudiadas hasta el momento. Las subunidades CdtA y CdtC forman un aparato de adhesión que se ancla a la superficie de las células de mamíferos (fibroblastos, linfocitos T, neutrófilos, etc.) y permite la entrada de CdtB al

interior de las mismas. Esta subunidad tendría una actividad semejante a una desoxirribonucleasa tipo I de mamíferos, ya que genera cortes en el ADN, lo cual acaba induciendo la detención del ciclo celular en G2. Finalmente, la célula entra en apoptosis y muere.^{5,20}

Además de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*, existen otras bacterias orales con una diversidad de factores de virulencia que determinan su patogenicidad. De ahí la importancia de ir conociendo los fenómenos moleculares involucrados en la interacción entre los patógenos y su hospedador. Ello nos permitirá diseñar estrategias que podrían llevar a controlar la infección y la enfermedad, desarrollar nuevos compuestos que inhiban esos procesos y crear un marco para el entendimiento de la evolución de la patogenicidad microbiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135-87.
- 2) Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease: introduction. *Periodontol* 2000. 1999;20:7-13.
- 3) Van Winkelhoff AJ, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontol* 2000. 1999;20:122-35.
- 4) Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. 2012;333:1-9.
- 5) Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Annu Rev Microbiol*. 2003;57:29-55.
- 6) Nobbs AH, Jenkinson HF, Jakubovics NS. Stick to your gums: mechanisms of oral microbial adherence. *J Dent Res*. 2011;90:1271-8.
- 7) Esberg A, Löfgren-Burström A, Ohman U, Strömberg N. Host and bacterial phenotype variation in adhesion of *Streptococcus mutans* to matched human hosts. *Infect Immun*. 2012;80:3869-79.
- 8) Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A,

- Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol.* 2001;183: 3770-83.
- 9) Jauregui CE, Wang Q, Wright CJ, Takeuchi H, Uriarte SM, Lamont RJ. Suppression of T-cell chemokines by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2013;81:2288-95.
 - 10) Shenker BJ, Vitale LA, Welham DA. Immune suppression induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: effects on immunoglobulin production by human B cells. *Infect Immun.* 1990;58:3856-62.
 - 11) Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998;62:1244-63.
 - 12) Yoshimura F, Murakami Y, Nishikawa K, Hasegawa Y, Kawaminami S. Surface components of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res.* 2009;44:1-12.
 - 13) Nagano K, Hasegawa Y, Abiko Y, Yoshida Y, Murakami Y, Yoshimura F. *Porphyromonas gingivalis* FimA fimbriae: fimbrial assembly by *fimA* alone in the *fim* gene cluster and differential antigenicity among *fimA* genotypes. *PLoS One.* 2012;7: e43722.
 - 14) O'Brien-Simpson NM, Veith PD, Dashper SG, Reynolds EC. *Porphyromonas gingivalis* gingipains: the molecular teeth of a microbial vampire. *Curr Protein Pept Sci.* 2003;4:409-26.
 - 15) Guo Y, Nguyen KA, Potempa J. Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontol* 2000. 2010;54:15-44.
 - 16) Fitzpatrick RE, Wijeyewickrema LC, Pike RN. The gingipains: scissors and glue of the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Future Microbiol.* 2009;4:471-87.
 - 17) Singh A, Wyant T, Anaya-Bergman C, Aduse-Opoku J, Brunner J, Laine ML, Curtis MA, Lewis JP. The capsule of *Porphyromonas gingivalis* leads to a reduction in the host inflammatory response, evasion of phagocytosis, and increase in virulence. *Infect Immun.* 2011;79:4533-42.
 - 18) Brunner J, Scheres N, El Idrissi NB, Deng DM, Laine ML, van Winkelhoff AJ, Crielaard W. The capsule of *Porphyromonas gingivalis* reduces the immune response of human gingival fibroblasts. *BMC Microbiol.* 2010;11:10-5.
 - 19) Johansson A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response. *Toxins.* 2005;3:242-59.
 - 20) Smith JL, Bayles DO. The contribution of cytolethal distending toxin to bacterial pathogenesis. *Crit Rev Microbiol.* 2006;32: 224-7.

Recibido: 04-04-13
Aceptación: 05-05-13

Autores: Vanessa Blanc, Rubén León
Correspondencia: pmaldonado@dentaid.com.pe