

## ASPECTOS BIOQUIMICOS DE LA ADHESION DE BACTERIAS A LA SUPERFICIE DENTAL

María Elena López de Bocanera\* (1,2), María Elena Nader de Macías\* (1,3), Amalia Chervonagura de Gepner\*(2), Clara Silva de Ruíz\* (3), Aída Pesce de Ruíz Holgado\* (1,3).

**PALABRAS CLAVES:** Adhesión, Adhesinas, Acido lipoteicoico, Superficie dental, Bacterias orales.

### INTRODUCCION

La adhesión de bacterias orales a los dientes está favorecida por la presencia de polisacáridos extracelulares, y debe ser diferenciada de la simple acumulación y retención de microorganismos (Gibbons y van Haute, 1975). Tales bacterias interactúan con células, con constituyentes salivales, con la película adquirida y con otras bacterias (Stinson y col., 1991) y sus productos (Beachey, 1981). Ello implica que las diferentes especies bacterianas presentan una adhesión altamente selectiva en la cavidad oral, lo cual se correlaciona con su capacidad de colonización a fin de no ser arrastradas por la saliva.

La superficie de los dientes tiene en general una carga neta negativa debido a la abundante exposición de iones calcio y fosfato de la matriz de hidroxiapatita. Puede también ser anfotérica, al

recibir tanto proteínas básicas, vía los grupos fosfato, como proteínas ácidas, a través de iones calcio de la capa de hidratación (Rolla, 1977). La película adquirida formada no sólo es compleja y heterogénea en su composición, sino en el tipo de cargas eléctricas que representa (Gibbons, 1980).

Por su parte, la superficie de las células bacterianas contiene generalmente estructuras externas y la membrana citoplasmática. Es decir que no se trata de capas uniformes, sino de partes funcional, estructural y espacialmente relacionadas.

Existen diferencias en la composición de la superficie celular entre las especies orales y aún dentro de la misma cepa bajo diferentes condiciones de crecimiento, lo cual influye sobre la adherencia bacteriana. El hecho de que "in vitro" se observe una mayor fijación de una cepa o especie respecto de otra no necesariamente implica que esa cepa o especie desarrollará mejor una lesión cariosa. Lo que sí se ha demostrado es que las diferentes especies de *Streptococcus* orales no compiten entre sí por los sitios de adhesión (Gibbons y Van Haute, 1975).

Se ha demostrado que entre la superficie dental y la de la bacteria hay una diferencia de potencial que determina su atracción. Ello implica la suma de las fuerzas de Van der Waals y el débil potencial

\* Bioquímica - Doctora en Bioquímica

\*\* Bioquímica

\* (1) Centro de Referencia para *Lactobacilos* (CERELA), Tucumán, Argentina.

(2) Cátedra de Química Biológica, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

(3) Instituto de Microbiología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

de repulsión de la bicapa eléctricamente difusa. Sin embargo, la alta selectividad involucrada en la fijación de las bacterias a los tejidos orales sugiere la participación de un sistema bien desarrollado, y no solamente una asociación iónica o de otras fuerzas de baja especificidad. Se ha propuesto que se requiere de la interacción de ligandos tipo lectina, con lo cual estarían involucrados las características de las superficies, la hidrofobicidad y los mecanismos extracelulares de puente (polímeros excretados). En la actualidad ya se acepta el nombre de **adhesinas** a los ligandos bacterianos encargados de interactuar con diferentes receptores del huésped (Hasty y col., 1992). Estos ligandos pueden ser fimbrias, azúcares fijadores de proteínas, enzimas de la pared con funciones específicas de unión, o componentes superficiales con propiedades hidrofóbicas. No es de sorprender que los microorganismos expresen múltiples adhesinas, y que las mismas posiblemente funcionen en momentos diferentes. Así, para el *Streptococcus gordonii*, clasificado previamente como *Streptococcus sanguis*, se han propuesto al menos siete mecanismos que incluyen a los ácidos lipoteicoicos (LTAs), la fibrinectina, la vitronectina, diferentes carbohidratos y la atracción mediada por la saliva (Beachey, 1981, Hasty y Col., 1992). Es factible pensar también que la evolución de las especies exigiría la selección de microorganismos genéticamente capaces de producir más de un tipo de adhesinas.

## NATURALEZA QUIMICA Y LOCALIZACION DE LOS LTAs

Los ácidos lipoteicoicos (LTAs) de la pared celular de varios estreptococos orales parecen estar involucrados en la adhesión de tales bacterias en la boca.

Los LTAs son polímeros de 20-30 unidades de longitud de poliglicerol fosfato unidas covalentemente a la capa lipídica (Wicken y Knox, 1974). El glicerol fosfato puede tener el grupo hidroxilo del carbono 2 sustituido por varios tipos de carbohidratos, como así también por D-alanina, lo cual modula la alta densidad de cargas provistas por los grupos fosfato. Diferencias debidas a estos sustituyentes han sido observadas entre cepas, especies y géneros.

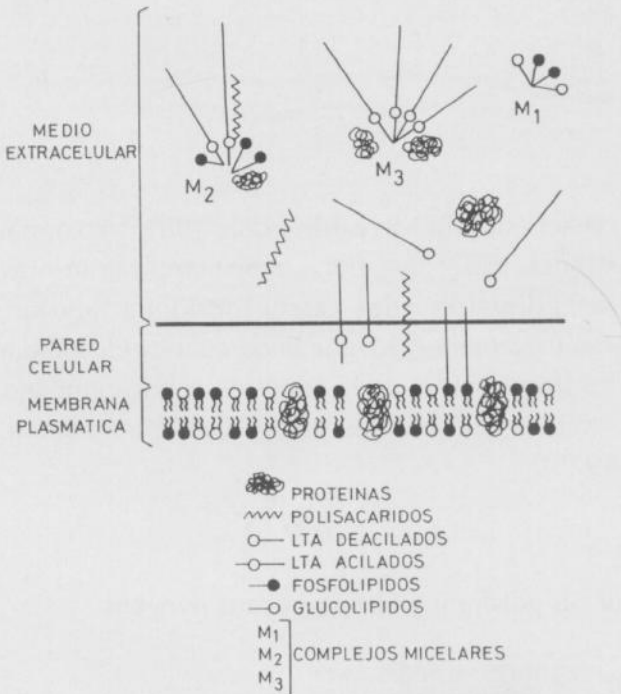
Los LTAs parecen estar localizados sobre la superficie de la membrana celular en la mayoría de las especies y se han encontrado cantidades significativas en el medio extracelular (Kessler, 1982). En algunas cepas de *Streptococcus mutans*, por ejemplo la BHT, la cantidad de LTAs extracelulares excede aquella asociada a la célula (Jacques y col., 1979). En *Lactobacillus fermentum* los LTAs presentaron una distribución uniforme, según se observó por microscopía inmunoeléctrica, mientras que se distribuye por sectores en la pared de *Lactobacillus casei* (van Driel y col., 1980).

Los LTAs aislados tanto de la superficie de la membrana celular como del medio extracelular, se presentaron como un agregado micelar acilado de alto peso molecular (LTA), y como un monómero deacilado de bajo peso molecular (dLTA). Las cantidades relativas de LTAs en cada una de las dos localizaciones presentaron también variaciones entre cepas, especies y condiciones de crecimiento (Kessler, 1982, Jacques y col., 1979).

La relación de los LTAs con el complejo de la membrana celular se puede diagramar como se muestra en la Figura 1 (Wicken y Knox, 1980). Los LTAs acilados se encuentran en la parte superior

de la bicapa lipídica. Las cadenas hidrofílicas de políglicerol fosfato se prolongan hacia la matriz de la pared celular y pueden alcanzar la superficie.

**FIGURA 1**  
**Componentes bacterianos localizados en el medio extracelular.**



Los polisacáridos también pueden estar en tránsito y en el medio extracelular. O sea que en el exterior existen, por un lado, proteínas, polisacáridos y monómeros deacilados de LTA (dLTA), en forma aislada, y por otro, complejos micelares de membranas lipídicas eliminadas (M1), de LTAs acilados, proteínas, fosfolípidos y polisacáridos (M2) y de LTA acilado y proteínas (M3) (Kessler y Shockman, 1979).

## CONCEPTOS GENERALES DE LA ADHESION DE LOS LTAs

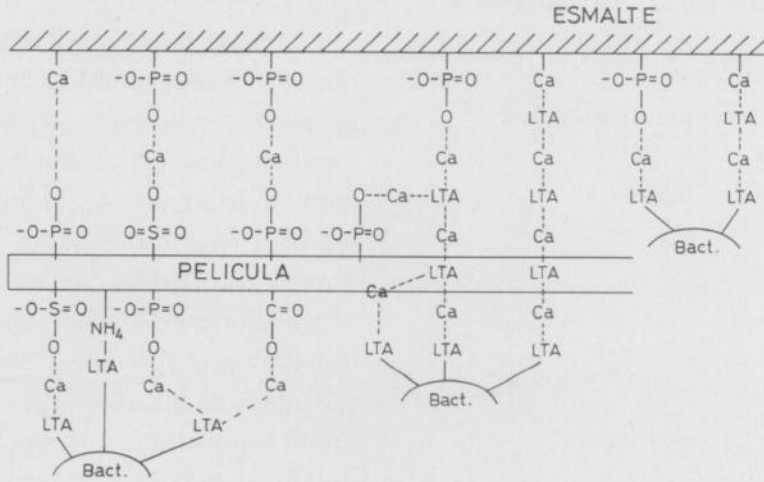
Los LTAs se pueden adherir a las superficies y a otras moléculas solubles. En general se acepta que su unión a eritrocitos y a células eucariotas está mediada por sus sustitutos lipídicos. Los LTAs también se adsorben rápidamente y de modo muy fuerte a la hidroxiapatita (Russell y Mansson-Rahemtulla, 1989). Se considera que ésta es una interacción mediada por iones calcio de la capa de hidratación del diente y por los grupos fosfatos ionizados de los LTAs. Esta unión parece ser algo fuerte, ya que una concentración inferior a 1 mM de LTA puede interactuar con fosfato 1 mM; sin embargo, la fijación completa de LTA se consigue con fosfato 100 mM. Por otra parte, la presencia de fluoruro produce la inhibición de la unión de los LTAs, lo cual evidencia la envergadura de la interacción calcio-fosfato. Se ha observado una mayor adhesión a la hidroxiapatita de las bacterias enteras en presencia de iones calcio, pero existe una disminución en la fijación de las mismas con altas concentraciones de buffer fosfato. Así, la unión de los LTAs se inhibe ligeramente cubriendo a la hidroxiapatita con saliva (Gibbons, 1982), lo cual indicaría que también otros factores bucales estarían involucrados en la adhesión.

Los LTAs pueden mediar la fijación bacteriana al diente de diferentes modos, ya sea por unión a la película adquirida, por puentes LTA-calcio a través de la película y por unión directa a la superficie de la hidroxiapatita. Este último caso probablemente sucede más en placas maduras que en eventos iniciales (Kessler, 1982).

Por otra parte, los LTAs se unen también a las proteínas y a los polisacáridos, incluyendo los

FIGURA 2

Modelo propuesto para explicar la adhesión de bacterias orales a la superficie dental.

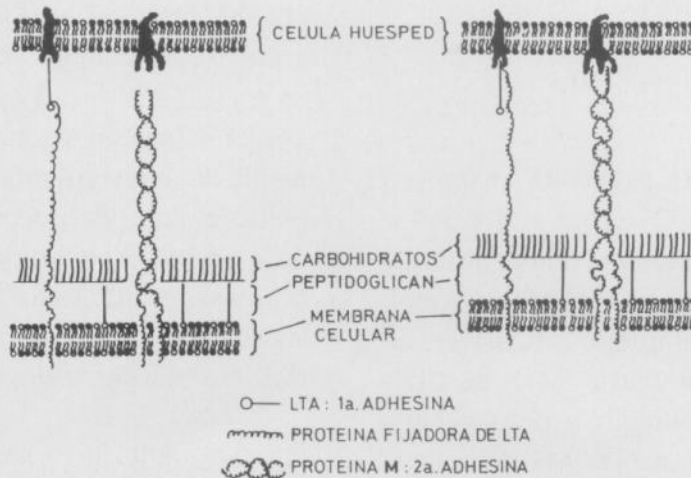


glucanos extracelulares producidos por acción de la glucosil transferasa extracelular (Mack y col., 1982). Se ha demostrado recientemente que la actividad de esta enzima está incrementada en presencia de sacarosa y ello influye en la acumulación bacteriana, esto es, en la formación de las llamadas masas cohesivas de polímeros

bacterianos (BPM) (Tardif y col., 1989, Vickerman y Jones, 1992). Así, por mucho tiempo se atribuyó la adhesión del *Streptococcus mutans* exclusivamente a los glucanos, cuando en realidad los responsables de la adhesión son los glucanos solubles e insolubles y los LTAs (Doyle y col., 1975).

FIGURA 3

Modelo de adhesión propuesto para *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus pyogenes*



Estudios recientes con *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus pyogenes* han permitido idear otro modelo hipotético de adhesión a los tejidos de la boca, el cual sugiere dos etapas secuenciales, que involucran al menos dos adhesinas diferentes (Hasty y col., 1992) (Figura 3).

La primera etapa consiste en una interacción relativamente débil y reversible entre componentes hidrofóbicos de la superficie bacteriana, tales como los LTAs u otras hidrofobinas (Rosenberg y Doyle, 1990), y moléculas de la pared celular del huésped. (Ofek y col., 1982) han sugerido que los LTAs no se fijan directamente a la superficie de la bacteria sino que lo hacen por medio de proteínas.

En la segunda etapa sucederían interacciones más específicas, también mediadas por proteínas. Así, la llamada proteína M del modelo propuesto sería la responsable de la unión de la bacteria con el receptor de la célula huésped. Si esta segunda etapa se completa, se aumenta la fuerza de fijación y la interacción se hace esencialmente irreversible. Este modelo explica la adhesión de las células estreptocócicas a las del huésped. Sin embargo, podrían seguirse pasos similares con otros sustratos tales como la película adquirida. También, este modelo obtenido para *Streptococcus sanguis* y para *Streptococcus pyogenes* podría ser válido para cualquier otra especie y aún cepa, obviamente participando en cada caso, moléculas proteicas específicas (Munro, y col., 1993).

#### **OTRAS CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS LTAs**

Se ha postulado también que los LTAs podrían actuar como una barrera de difusión iónica

causando la acumulación de ácido en la placa (Holt, 1982). La saturación de los grupos fosfato negativamente cargados de los LTAs con los iones calcio de la saliva, o aquéllos provenientes de la desmineralización del esmalte, o ambos, daría por resultado la formación de una barrera que dificultaría la difusión posterior de iones positivos (por ejemplo hidrógeno) a la superficie del diente, ocasionando la desmineralización por aumentode ácidos. Con el mismo razonamiento, la unión de los LTAs a la capa de hidratación de la hidroxiapatita podría prevenir la difusión de iones hidrógeno hacia el diente, otorgándole cierta protección.

En relación con las enfermedades periodontales, los LTAs pueden contribuir a la patogénesis a través de la estimulación de la resorción ósea, y de interacciones con el sistema inmune (Hocini y col., 1993), mediante la activación de los macrófagos y de la mitogenicidad.

#### **CONCLUSIONES**

La adhesión de microorganismos a los diferentes epitelios ha sido motivo de estudio de varios grupos de investigadores (Hasty y col., 1992, Nader de Macías y col., 1992, Silva de Ruíz y col., 1993), y se han desarrollado modelos experimentales que pueden o no responder a la realidad.

Específicamente para las bacterias orales, la capacidad de adhesión de las mismas parecería estar influenciada por:

1. El grado y tipo de sustitución, por ejemplo, carbohidrato o D-alanina, o ambos, a lo largo de la estructura glicerol-fosfato de los LTAs.

2. Las cantidades relativas de LTAs provenientes de la célula y aquéllas disponibles para actuar como puente.
3. El grado de exposición de los LTAs a los bordes de la pared celular.
4. La interacción de moléculas del medio extracelular con los LTAs, por ejemplo, calcio, glucanos.

Estudios posteriores son necesarios a fin de especificar los mecanismos desarrollados por cada una de las especies y cepas, y su verificación "in vivo".

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado parcialmente por subsidio No. 0585 de CONICET, Argentina.

## BIBLIOGRAFIA

- Beachey, E.H.: Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J. Infect. Dis.*, 143:325-345, 1981.
- Doyle, R.J., Chatterjer, A.N., Streips, U.M. y Young, F.E.: Soluble macromolecular complexes involving bacterial teichoic acids. *J. Bacteriol.*, 124:341-347, 1975.
- Gibbons, R.J.: Adhesion of bacteria to the surfaces of the mouth, p 79-82. en R.C.W. Berkley, J.M. Lynch, J. Melling, P.R. Rutter y B. Vincent (ed). *Microbial adhesion to surfaces*. Ellis Horwood, Ltd., Chichester, England, 1980.
- Gibbons, R.J.: Influence of salivary components on bacterial adhesion. *Microbiol.*, 54:282-285, 1982.
- Gibbons, R. y Van Haute, J.: Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.*, 29: 19-44, 1975.
- Hasty, D.L., Ofek, I., Courtney, H.S. y Doyle, R.J.: Multiple adhesins of *Streptococci*. *Infect. Immun.*, 60:2147-2152, 1992.
- Hocini, H., Ischaki, S., Bouvet, J.P. y Pillot, J.: Unexpectedly high levels of some presumably protective secretory immunoglobulin A antibodies to dental plaque bacteria in salivas of both caries-resistant and caries-susceptible subjects. *Infect. Immun.*, 61:3597-3604, 1993.
- Holt, S.C.: Bacterial adhesion in pathogenesis: an introductory statement. *Microbiol.*, 54:261-265, 1982.
- Jacques, N.A., Hardy, L., Knox, K.W. y Wicken, A.J.: Effect of growth conditions on the formation of extracellular lipoteichoic acid by *Streptococcus mutans* BHT. *Infect. Immun.*, 25:75-84, 1979.
- Kessler, R.E.: Contributions of lipoteichoic acids to dental adhesion and pathogenesis of oral diseases. *Microbiol.*, 54: 338-341, 1982.
- Kessler, R.E. y Shockman, G.D.: Precursor-product relationship of intracellular and extracellular lipoteichoic acids of *Streptococcus faecium*. *J. Bacteriol.*, 137: 869-877, 1979.
- Mack, D., Siemssen, N. y Laufs, R.: Parallel induction by glucose of adherence and a polysaccharide antigen specific for plastic-adherent *Staphylococcus epidermidis*: evidence for functional relation to intercellular adhesion. *Infect. Immun.*, 60:2048-2057, 1992.
- Munro, G.H., Evans, P., Todryk, S., Buckett, P., Kelly, C.G. y Lehner, T.: A protein fragment of streptococcal cell surface antigen I/II which prevents adhesion of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.*, 61: 4590-4598, 1993.
- Nader de Macías, M.E., López de Bocanera, M.E., Silva de Ruíz, C. y Pesce de Ruíz Holgado, A.: Isolation of lactobacilli from the urogenital tract of mice. Elaboration of beads for their inoculation. *Microbiol. - Alim. - Nutr.*, 10: 43-47, 1992.
- Ofek, I., Simpson, W.A. y Beachey, E.H.: Formation of molecular complexes between a structurally defined M protein and acylated or deacylated lipoteichoic acid of *Streptococcus pyogenes*. *J. Bacteriol.*, 149: 426-433, 1982.
- Rolla, G.: Formation of dental integuments. Some basic chemical considerations. *Swed. Dent. J.*, 1:241-251, 1977.
- Rosenberg, M. y Doyle, R.J.: Microbial cell surface hydrophobicity: history, measurement, and significance, p. 1-37. En R.J. Doyle y M. Rosenberg (ed). *Microbial cell surface hydrophobicity*. Amer. Soc. for Microbiol, Washington, D.C., 1990.
- Russell, M.W. y Mansson-Rahemtulla, B.: Interaction between surface protein antigens of *Streptococcus mutans* and human salivary components. *Oral Microbiol. Immunol.*, 4:106-111, 1989.
- Silva de Ruíz, C., Nader de Macías, M.E., López de Bocanera, M.E. y Pesce de Ruíz Holgado, A.: *Lactobacillus fermentum* administered in suspensions and in agarose beads to mice: a comparative study. *Microbiol. - Alim. - Nutr.*, 11:391-397, 1993.
- Stinson, M.W., Safulko, K. y Levine, M.J.: Adherence of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* to *Streptococcus sanguis* in vitro. *Infect. Immun.*, 59: 102-108, 1991.
- Tardif, G., Sulavik, M.C., Jones, G.W. y Clewell, D.B.: Spontaneous swtching of the sucrose-promoted colony phenotype in *Streptococcus sanguis*. *Infect. Immun.*, 57:3945-3948, 1989.
- Van Driel, D., Wicken, A.J., Dickson, M.R. y Knox, K.W.: Cellular locations of the lipoteichoic acid's of *Lactobacillus fermentum* NCTC 6991 and *Lactobacillus casei* NCTC 6375. *J. Ultrastruct. Res.*, 4:483-497, 1980.
- Vickerman, M.M. y Jones, G.W.: Adhesion of glucosyltransferase phase variants to *Streptococcus gordonii* bacterium-glucan substrata may involve lipoteichoic acid. *Infect. Immun.*, 60:4301-4308, 1992.
- Wicken, A.J. y Knox, K.W.: Bacterial cell surface amphiphates *Biochem. Biophys. Acta*, 604: 1-26, 1980.

## DIRECCION PARA LA CORRESPONDENCIA

Dra. Aída Pesce de Ruíz Holgado.  
Centro de Referencias para Lactobacilos (CERELA)  
Chacabuco 145  
(4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, República Argentina.