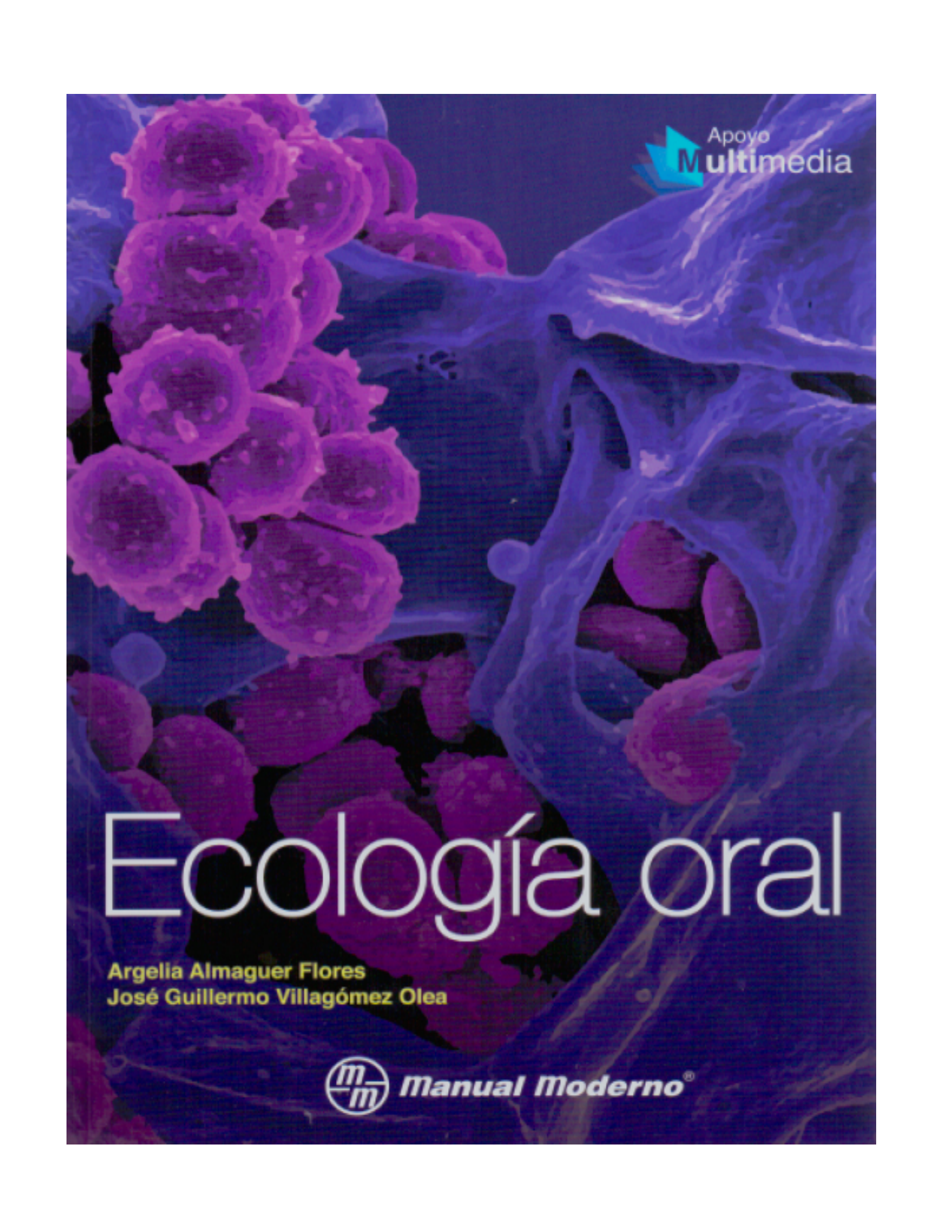


A microscopic image of oral cells, showing a cluster of cells on the left and a larger, more complex structure on the right, all in shades of purple and blue.

Apoyo
Multimedia

Ecología oral

Argelia Almaguer Flores
José Guillermo Villagómez Olea



Manual Moderno®

1

Historia de la ecología microbiana oral y las hipótesis sobre la etiología de la caries dental y la enfermedad periodontal

José Guillermo Villagómez Olea y Gilberto José Ríos Ferrer

La historia de la ecología microbiana oral se remonta al nacimiento de la microbiología general y al de la microbiología oral, ambas han permanecido íntimamente ligadas debido a que sus avances científicos y tecnológicos se retroalimentan. Sin embargo, por ecología microbiana oral se entiende como el estudio de los microorganismos y sus interacciones, con el medio ambiente dinámico en el que viven, en este caso, la cavidad oral; integrando aspectos de diferentes disciplinas como bioquímica, biología molecular, genética e inmunología.

Han existido varios hallazgos que han marcado hitos importantes y el fruto de este conocimiento obtenido permite hoy día comprender que la perturbación del ecosistema oral conduce a afecciones y alteraciones orales, y así también, ha moldeado el raciocinio de las aproximaciones clínicas que se utilizan tanto en la prevención como en la terapéutica.

A lo largo de la historia se han realizado investigaciones principalmente desde un enfoque reduccionista, es decir, mediante el aislamiento y estudio individual de aquellas especies posibles de cultivar, y por lo tanto, de identificar. Sin embargo, con el desarrollo de herramientas que permiten el estudio de los microorganismos no cultivables y el análisis masivo de datos, estos paradigmas están cambiando y ahora se trata de pasar a una visión general que tome en cuenta todas las partes involucradas y sus interacciones resultantes, tanto entre microorganismos de una misma especie, como de diferentes, y el medio en el que se encuentran.

En este capítulo se expone de qué manera se fue dando, durante diferentes etapas históricas, la construcción de las hipótesis científicas que buscan explicar la etiología de las enfermedades orales, enfocándonos principalmente en la caries dental y la enfermedad periodontal (cuadro 1-1).

Cuadro 1-1. Descripción comparativa de los principales eventos que dieron lugar a la ecología microbiana oral y a la microbiología general

Ecología microbiana oral	Año(s)	Microbiología general
	1676-1686	van Leeuwenhoek observa a los microorganismos por primera vez y se lo comunica a la <i>Royal Society</i>

	1688	Redi publica su trabajo sobre la generación espontánea
Fauchard publica su obra "El cirujano dentista o tratado sobre los dientes"	1728	
	1765-1776	Spallanzani rechaza la teoría de la generación espontánea
	1786	Müller describe la primera clasificación bacteriana
	1798	Jenner desarrolla vacuna contra viruela humana
	1838-1839	Schwann y Schleiden desarrollan la teoría celular
Robert Ficus (1847) sugiere que la caries y enfermedad periodontal es causada por los <i>animáculos</i> de van Leeuwenhoek	1847-1850	Semmelweis demuestra que la fiebre puerperal es transmitida por la mala higiene de los médicos
G. Gros identifica a <i>Entamoeba gingivalis</i> en la cavidad oral	1849	Snow realiza estudio epidemiológico del cólera en Londres
	1857	Pasteur demuestra la fermentación acidoláctica por microorganismos
	1858	Virchow afirma que las células provienen de otras células
	1861	Pasteur demuestra que los microorganismos no provienen por generación espontánea
	1867	Lister publica su trabajo sobre antisepsia
	1869	Mischer descubre los ácidos nucleicos
	1876-1877	Koch demuestra que el ántrax es causado por <i>Bacillus anthracis</i>
	1880	Pasteur desarrolla método para atenuar un patógeno virulento del cólera de gallina
	1881	Robert Koch logra cultivar bacterias en gelatina, consiguiendo un medio sólido y más práctico. Pasteur desarrolla vacuna contra el ántrax
Friedrich Witzel reporta la presencia de microorganismo en lesiones periodontales	1882	Koch descubre a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , causante de la enfermedad
Black publica "La formación de venenos por microorganismos. Un estudio biológico de la teoría de la enfermedad causada por gérmenes"	1884	Se publican los postulados de Koch
	1884	Se desarrolla la tinción de Gram
	1885	Pasteur desarrolla vacuna contra la rabia. Escherich descubre a la bacteria <i>E. coli</i> . Fraenkel descubre a la bacteria <i>S. pneumoniae</i>
	1887	Richard Petri diseña la placa que lleva su apellido
Miller propone la teoría quimioparasitaria de las enfermedades orales	1889	
	1890	von Behring y Kitasato producen suero antitoxina de la difteria
	1891	Paul Ehrlich propone que los anticuerpos son los

ETAPA DE 1676 A 1883: EL NACIMIENTO DE LA MICROBIOLOGÍA GENERAL Y ORAL

El nacimiento de ambas disciplinas ocurre a finales del siglo XVII, con Anton van Leeuwenhoek (1632-1723), quien observa por primera vez en 1676, al utilizar lentes para microscopio diseñados por el mismo, los microorganismos provenientes de muestras de agua obtenidas en estanques de lluvia y los denomina *animálculos* o “pequeños animales”.³ Posteriormente, en 1683, informa las primeras identificaciones realizadas sobre microorganismos de la cavidad oral. Sus hallazgos los escribe en cartas en holandés, su lengua nativa, y que hace traducir al inglés, generalmente acompañándolas con dibujos que el mismo realizaba meticulosamente, y las envía a *The Royal Society of London for Improving Natural Knowledge*, o simplemente la *Royal Society*. Hoy en día se conoce que dichos dibujos corresponden a bacterias de tipo cocos, espiroquetas y fusiformes.⁴ A pesar de estos descubrimientos seminales, por un largo tiempo se ignoró el estudio de los microorganismos y su relación en la cavidad oral.⁵

El cirujano francés Pierre Fauchard (1678-1761), reconocido como el padre de la odontología moderna por publicar en 1728 la primera obra enciclopédica en odontología: *Le chirurgien dentiste, ou Traité des dents* (El cirujano dentista o tratado sobre los dientes), fue uno de los primeros en rechazar la existencia de dicho gusano pues afirmó que el establecimiento de enfermedades como la caries dental se debía a las modificaciones en la dieta de las personas y que específicamente eran los azúcares, los causantes de las afectaciones de los dientes y las encías,² aunque no mencionaba en sustitución del gusano, la existencia de microorganismo alguno.

En 1847, Robert Ficinus (1809-1852) publica en una revista oftalmológica, *Über das Ausfallen der Zähne und das Wesen der Zahnkaries* (acerca de la pérdida de los dientes y la naturaleza de la caries dental), donde sugiere que los *animálculos* descritos por van Leeuwenhoek son responsables de la caries dental y también de la enfermedad periodontal, pues menciona que “...estos animales fuerzan su camino dentro de las fibras, entre la gingiva y el cemento, aflojando a la primera y formando el cálculo que a su vez afloja los dientes...”⁶

Los protozoarios, los cuales son microorganismos cien veces más grandes que las bacterias, también fueron de los primeros microorganismos en identificarse como presentes en la cavidad oral. En 1849, G. Gros identificó una ameba parásita presente en este sitio, obtenida de pacientes con periodontitis y a la cual llamó “Endamoeba gingivalis”, y que más tarde fue renombrada como *Entamoeba gingivalis*. Sin embargo, no se le dio ninguna importancia al hallazgo hasta la década de 1980, cuando Trevor Lyons propuso que podría estar involucrada en algunos tipos de enfermedad periodontal.⁷

Fue Adolf Friedrich Witzel (1847-1906), quien en 1882 reporta por primera vez el hallazgo de microorganismos en lesiones periodontales, al asociarlos como causa probable la enfermedad periodontal (a la que denomina alveolitis infecciosa) que -afirmase caracteriza por recesión gingival, formación de bolsas periodontales, depósitos de cálculo y supuración. También observa bacterias al microscopio y “*micrococci*”

ETAPA DE 1884-1930: EL NACIMIENTO DE LAS PRIMERAS HIPÓTESIS CIENTÍFICAS Y LA BÚSQUEDA DE UN MICROORGANISMO CAUSAL

A casi dos siglos de las primeras observaciones hechas por van Leeuwenhoek, las obras de tres científicos con formación en ciencias naturales y odontología, proporcionan las bases que marcan el inicio formal de la microbiología oral.

Greene Vardiman Black (1836-1915) publica en 1884 su libro *The Formation of Poisons by Microorganisms. A Biological Study of the Germ Theory of Disease* (La formación de venenos por microorganismos. Un estudio biológico de la teoría de la enfermedad causada por gérmenes), donde propone que dicha teoría da una explicación causal de que son los microorganismos los responsables de la caries dental, por medio de la producción de ácidos. Asimismo, afirma que esto lo sustenta tomando en cuenta las investigaciones que en ese momento realizaba un científico, de apellido Miller, que se encontraba trabajando en el laboratorio del célebre Robert Koch.⁸

Willoughby Dayton Miller (1853-1907), físico, matemático y odontólogo al que se considera como el “padre de la microbiología oral”, a lo largo de su vida científica publicó más de 150 trabajos científicos y en 1889 su obra magna (primero en alemán y al año siguiente en inglés) *The Micro-organisms of the Human Mouth. The Local and General Diseases which are Caused by Them* (Los microorganismos de la boca humana. Las enfermedades locales y generales que son causadas por éstos). En ella propone, basado en los resultados de sus investigaciones, la **teoría quimioparasitaria**, la cual es una hipótesis que explica que los ácidos orgánicos (quimio-) producidos por la fermentación realizada por bacterias orales (-parasitaria) son los que conducen al colapso del mineral que constituye a los dientes, y eventualmente, al establecimiento de la caries dental (cuadro 1-2).⁹

Cuadro 1-2. ¿Por qué llamaron teorías y no hipótesis a las primeras explicaciones de las enfermedades orales?

Durante los siglos pasados aún no se formalizaban muchos aspectos de la ciencia, como lo sistemas de evaluación y publicación. Esto condujo a que muchas hipótesis científicas fuesen presentadas como teorías a pesar de que carecían del cuerpo de evidencia que normalmente constituye a una. Hoy en día cuando surge una nueva explicación científica de fenómenos tan complejos (como lo son la caries dental y enfermedad periodontal), se suelen denominar hipótesis porque normalmente sólo se tiene evidencia que demuestra parcialmente la explicación propuesta.

En 1897, James Leon Williams (1852-1932) describe la presencia en las superficies dentales de masas similares a “lienzo grueso” donde están presentes microorganismos formadores de ácidos y que éste... “protege al esmalte pero al mismo tiempo evita que el ácido segregado se elimine, ejerciendo su efecto protector sobre el.” es decir ejerce un efecto dual, tanto en detrimento como de defensa.¹⁰ Esta es la primera descripción de lo que posteriormente se conocería como placa dentobacteriana (hoy en día, también conocida como biopelícula dental). A pesar de que estos hallazgos complementan su hipótesis, Miller se mostró escéptico sobre la verdadera existencia de estas estructuras.¹⁰

CONCLUSIONES

Las observaciones de van Leeuwenhoek marcan el inicio de la microbiología general pero también de la oral, al observar por primera vez los microorganismos provenientes de la placa dentobacteriana. A pesar de esto, fue la suma del trabajo de Black, Williams y Miller, lo que constituyó la formalización de la microbiología oral al estudiar los mecanismos por los cuales se da el establecimiento de enfermedades orales por parte de microorganismos y al lograr identificar a la placa dentobacteriana (hoy denominada biopelícula dental).

A lo largo de la historia de la ecología microbiana oral se han propuesto diferentes hipótesis que tratan de explicar la etiología de las enfermedades orales, pero son las hipótesis contemporáneas las que toman en cuenta los componentes globales e interacciones entre los elementos que conforman al ecosistema oral. Sin embargo, es probable que aún se modifiquen y surgan nuevas hipótesis pues los estudios "ómicos" están permitiendo analizar el papel de microorganismos previamente no reconocidos o identificados como parte normal de la dinámica en el ecosistema oral.

Referencias

1. **Gerabek WE:** The tooth-worm: historical aspects of a popular medical belief. *Clinical oral investigations*. 1999; 3(1):1-6.
2. **Maloney WJ, Maloney MP:** Pierre Fauchard: the father of modern dentistry. *Journal of the Massachusetts Dental Society*. 2009;58(2):28-29.
3. **van Leeuwenhoek A:** Observations, Communicated to the Publisher by Mr. Antony van Leeuwenhoek in a Dutch Letter of the 9th of Octob. 1676. Here English'd: concerning Little Animals by Him Observed in Rain-Well-Sea. and Snow Water; as Also in Water Wherein Pepper Had Lain Infused. *Phil Trans*. 1677;12:821-831.
4. **Lane N:** The unseen world: reflections on Leeuwenhoek (1677) 'Concerning little animals'. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*. 2015;370(1666).
5. **Slavkin HC:** Biofilms, microbial ecology and Antoni van Leeuwenhoek. *Journal of the American Dental Association*. 1997;128(4):492-495.
6. **WH-A:** *History of Dentistry*. Quintessence, editor. Chicago 1981.
7. **Bonner M, Amard V, Bar-Pinatel C, Charpentier F, Chatard JM, Desmuyek Y et al.:** Detection of the amoeba *Entamoeba gingivalis* in periodontal pockets. *Parasite*. 2014;21:30.
8. **Black GV:** The formation of poisons by microorganisms. A biological study of the germ theory of Disease. First Edition ed. Philadelphia, EUA: Blakiston, son & co.; 1884.
9. **Miller WD:** *Microorganisms of the human mouth: the local and general diseases which are caused by them*. 1st Edition ed: Philadelphia: The S.S. White Dental MFG. Co, 1890.
10. **Williams JL:** A contribution to the study of pathology of enamel. *Dental Cosmos* 1897;34(4):269-301.
11. **Clarke JK:** On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Br J Exp Pathol* 1924;5(3):141-147.
12. **Tanzer JM:** Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *Journal of dental research*. 1995;74(9):1536-1542.
13. **Bowen WH:** The Stephan Curve revisited. *Odontology*. 2013;101(1):2-8.
14. **Edgar WM:** The role of sugar in the aetiology of dental caries. 3. The physiochemical evidence. *Journal of dentistry*.

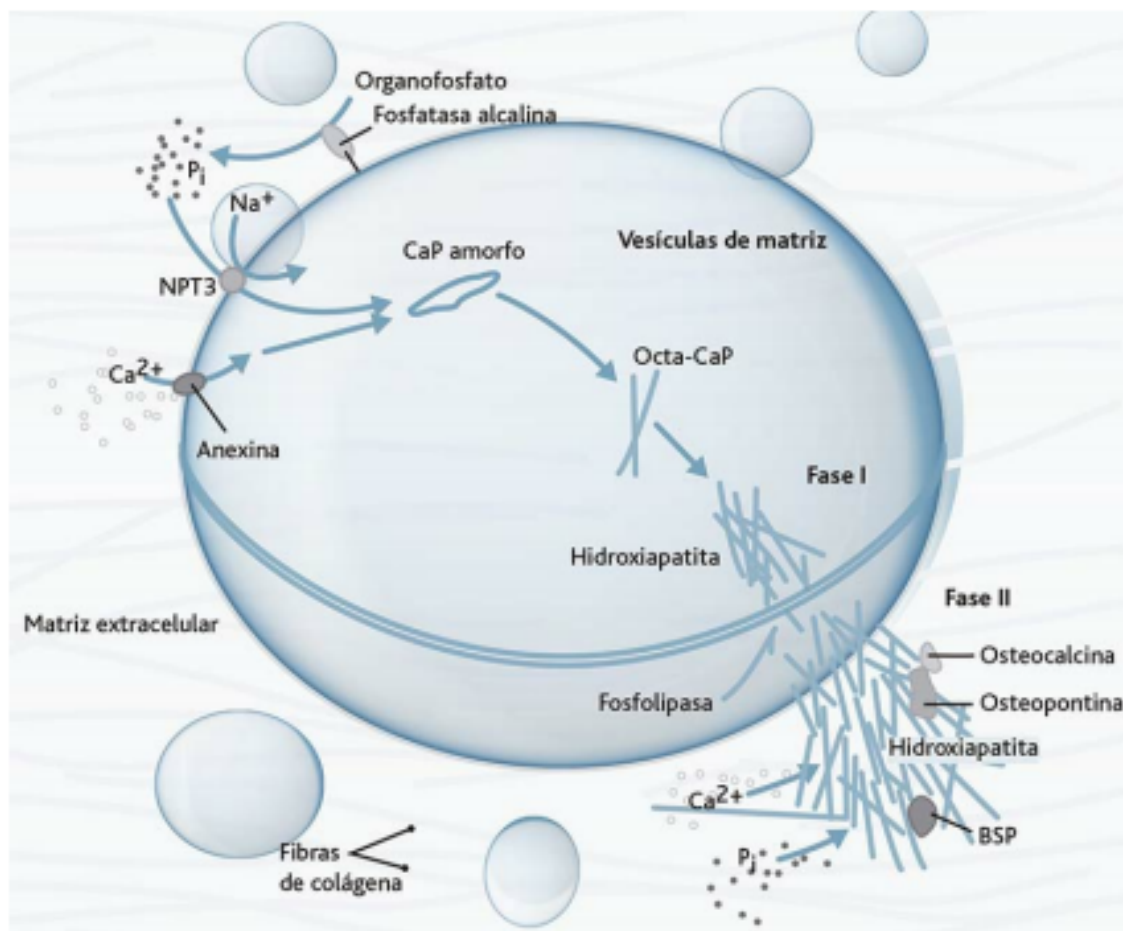


Figura 2-1. Mineralización en vesículas de matriz.

En el caso del esmalte, dichas vesículas están ausentes, por lo que la matriz del mismo es secretada y delimitada por la lámina basal, producida por los ameloblastos, e inmediatamente después es mineralizada. Una vez que el esmalte ha alcanzado su grosor final, los ameloblastos secretan proteasas específicas que degradan las proteínas presentes, dando como resultado cristales de hidroxiapatita organizados en un tejido mineral denso.¹

La función esencial de las moléculas que participan en el proceso de mineralización se atribuye a su interacción con los iones de calcio, que permiten el crecimiento cristalino y a posibles interacciones con otras moléculas. Los glucosaminoglucanos con carga negativa, el ácido γ -carboxiglutámico y otros aminoácidos (glutamato Glu, aspartato Asp, y fosfo-serina) son capaces de quelar iones de calcio que permiten la cristalización o la inhibición de la mineralización (como el caso de la proteína de la matriz Gla, MGP). La adsorción de las distintas moléculas sobre caras cristalinas preferenciales, puede bloquear la adición de más iones e influir en la forma y/o tamaño del cristal. Por otro lado, si la

interacción estabiliza el núcleo cristalino, facilitará la mineralización.¹

El término “mineral” de acuerdo con la Asociación Internacional de Mineralogía (IMA, por sus siglas en inglés) se define como “un elemento o compuesto químico que es normalmente cristalino y que ha sido formado como resultado de un proceso geológico”.² Posteriormente, Skinner en el año 2005, propuso el término “biomineral”, describiéndolo como “un elemento o compuesto que puede ser amorfo o cristalino y que es formado mediante un proceso biogeoquímico.”³ Sin embargo, aún no existe un consenso internacional aceptado, acerca de estas definiciones.

Estudios cristalográficos revelan que los biominerales son estructuras con un alto grado de ordenamiento y con propiedades magnéticas o eléctricas, producto de la interacción de la fase mineral con la fase orgánica. Dichos estudios demuestran que las proteínas determinan la fase mineral, nucleación, crecimiento y morfología de los cristales, en donde, las fibras de colágena juegan un papel importante, al brindar el andamio necesario para la precipitación de iones. Se sabe que el crecimiento de los biocristales está determinado por la existencia de un núcleo preformado el cual posiblemente es de naturaleza amorfa, y que se transformará en un mineral cristalino, mediante la transformación de estado sólido.¹

Mecanismos de biomineralización

El término biomineral se refiere a los minerales producidos bajo condiciones controladas en sistemas biológicos. Dichos biominerales poseen características de tamaño, forma y cristalinidad que son distintas de sus equivalentes abióticamente formados. Esta notable capacidad, está codificada en los genomas de los organismos biomineralizantes, que son capaces de producir biomoléculas que inducen la nucleación de minerales polimorfos específicos y que controlan su crecimiento.¹

Un cristal, es un cuerpo sólido que posee una disposición de repetición regular de moléculas consistentes, átomos o iones. La nucleación es el evento inicial durante la precipitación de un cristal inorgánico a partir de los iones disueltos. El proceso se produce a través de la agregación de iones en fase, desde soluciones individuales para formar un grupo pequeño, conocido como núcleo.

La formación de un núcleo cristalino sigue las leyes de Ostwald-Lussac, quienes propusieron que la vía para obtener un estado cristalino final requiere pasar por estadios menos estables para incrementar su estabilidad. La estabilidad de un núcleo depende de su tamaño, que a su vez, es dependiente del nivel de sobresaturación de la solución; ya que núcleos más grandes que el radio crítico tienden a un crecimiento más grande, mientras que aquellos por debajo del límite inferior del radio crítico tienden a disolverse. La formación de un núcleo en una solución pura se conoce como nucleación homogénea.

En contraste, los organismos facilitan la biomineralización, a través de nucleación heterogénea, en núcleos preexistentes o semillas de cristales (el núcleo recién formado tiene una composición similar pero diferente al resto). Esto ocurre debido a la presencia de impurezas y otras moléculas orgánicas en solución, lo que reduce la barrera de energía

libre.^{4,5}

Después de la formación de un núcleo, la tasa de crecimiento de un cristal en una solución sobresaturada es dependiente de la velocidad de transporte o difusión de iones de la red a la superficie del cristal.

Hay dos maneras para que se logre el crecimiento del cristal. El primer método implica el crecimiento de un núcleo de 2 dimensiones en una superficie pre-existente, que, aunque más favorable que la creación de un núcleo 3-dimensional, el crecimiento es menor que el producido en soluciones altamente supersaturadas. Por tanto, el crecimiento se logra aumentando el nivel de sobresaturación de los iones primarios.

El segundo mecanismo de mineralización implica el uso de macromoléculas biológicas, tales como proteínas o polisacáridos, como plantillas que imitan la red cristalina de una cara cristalina particular, compensando así la entropía desfavorable asociado con la transición de fase de solución sólida. Por lo general, el crecimiento cristalino se da en arreglos de espiral que se crean en las dislocaciones de la red cristalina (roturas en la red cristalina), conocidos como dislocaciones de tornillo o montículos de crecimiento. Al crecer en forma de espiral, proporcionan una fuente perpetua de láminas de crecimiento.⁴

Para que la precipitación de cristales se lleve a cabo, es necesario que la energía libre de la solución inicial sea mayor que la suma de la energía libre, tanto de la fase cristalina como de la solución final. Por tanto, las moléculas de agua juegan tienen una función relevante, pues su interacción con iones, moléculas y partículas coloidales son un factor importante en la entalpía y entropía del sistema. El efecto sobre la entalpía depende de la fuerza de unión del agua con las moléculas del soluto y la fuerza de los enlaces que forman el cristal. En el caso del efecto de la entropía, tiene que ver con el comportamiento de las moléculas de soluto para cambiar la energía libre durante la cristalización.⁴

La cristalización no es un proceso estático, ya que las moléculas constantemente se unen y liberan de la estructura cristalina. La probabilidad de que las moléculas se desprendan de la estructura cristalina depende de la fuerza de sus enlaces, los cuales pueden ser influenciados por la temperatura. El balance entre las moléculas adheridas y las libres determinan otro factor importante en la cinética de crecimiento, la solubilidad. Un cristal altamente soluble, puede crecer más rápido que cristales menos solubles, incluso en condiciones de supersaturación. Además, la temperatura y el pH también son factores determinantes en el grado de solubilidad de un cristal, debido a los posibles enlaces que puedan establecerse en la solvatación de las moléculas.⁴

ESTRUCTURA INORGÁNICA DE LOS TEJIDOS DENTALES Y DEL PERIODONTO

Composición de la hidroxiapatita

Las sales de fosfato de calcio con importancia biológica incluyen el fosfato de calcio amorfo, así como también una variedad de formas cristalinas las cuales se resumen en el (cuadro 2-1).

Cuadro 2-1. Compuestos minerales de sales de calcio

Fosfato de calcio	Mineral	Fórmula química	Relación Ca/P
Fosfato dicálcico (DCPA)	Monetita	CaHPO_4	1
Fosfato de calcio dihidratado (DCPD)	Brushita	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1
Fosfato β -tricálcico (TCP)	Whitlockita	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Fosfato octacálcico (OCP)	-	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_5 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.33
Hidroxiapatita	Apatita	$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$	1.67
Fluorapatita	-	$\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$	1.67

La hidroxiapatita (HAP) ha sido uno de los biominerales más estudiados, ya que es el principal componente inorgánico del hueso y órganos dentarios de humanos, y de mamíferos, en general.

Este biocristal, pertenece al grupo de las apatitas y está constituido por átomos de calcio, fósforo, oxígeno e hidrógeno ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).

Tiene una estructura cristalina hexagonal, cuya celda unitaria está caracterizada por poseer un plano rico en iones calcio con carga positiva, y otro plano rico en iones fosfatos e hidroxilos con carga negativa, ambos planos son altamente específicos para la adsorción de diversas moléculas orgánicas que participan en la regulación de la morfología del cristal.

Dependiendo del tejido mineralizado, los cristales de hidroxiapatita pueden adoptar distintas orientaciones, las cuales le brindarán características anisotrópicas como absorción, biocompatibilidad y solubilidad.

La hidroxiapatita pura, contiene 39.68 wt % de calcio (Ca) y 18 wt % de fósforo (P), que dan lugar a la relación Ca/P de 1.67.

La hidroxiapatita en los tejidos mineralizados del humano no es un cristal estequiométrico, ya que presenta cantidades traza de otros iones (CO_3^{2-} , Na^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , F^- , Zn^{2+}). Uno de los iones que cobran mayor importancia es el flúor (F^-), el cual es un elemento esencial para el crecimiento dental y óseo. El ion F^- tiene la capacidad de estimular la proliferación y diferenciación de osteoblastos. El flúor puede integrarse a la estructura de la hidroxiapatita sustituyendo al ion hidroxilo (OH^-), su presencia, incrementa la cristalinidad y el tamaño del cristal disminuyendo su solubilidad. De esta