

Avances en el desarrollo de una vacuna contra la caries dental

Marcela Alcota, Fermín González.

Resumen

La caries dental continúa siendo una costosa y prevalente enfermedad bucal. Los avances en biología molecular han permitido que los esfuerzos de la investigación apunten a desarrollar una vacuna contra la caries que sea bien tolerada y efectiva dada la etiología específica bacteriana de la enfermedad. El objetivo de esta revisión es actualizar los recientes progresos en cuanto al desarrollo de esta vacuna.

Summary

Dental caries continues to be a costly and prevalent oral disease. Research efforts towards developing a well tolerated and effective vaccine against dental caries were the demonstration of a specific bacterial aetiology for this disease and the progress in molecular biology. The purpose of this review is to evaluate the recent progress on the development of this vaccine.

Servicio Dentomaxilofacial
Hospital Clínico Universidad de
Chile.

Correspondencia:
Dra. Marcela Alcota R.
Servicio Dentomaxilofacial
Santos Dumont 999
Independencia

Introducción

La evidencia de una causa bacteriana específica de la caries dental y el conocimiento de la función de las glándulas salivales como un sitio efector del sistema mucoso inmune ha otorgado bases científicas para el desarrollo de una vacuna contra la caries dental. Los esfuerzos de la investigación que apuntan a desarrollar una vacuna que sea efectiva y bien tolerada ha sido facilitado por el progreso en biología molecular, con la clonación y caracterización funcional de los factores de virulencia del *Streptococcus mutans*, el principal agente etiológico de esta enfermedad, así como también al mayor conocimiento en inmunología mucosa, incluyendo el desarrollo de sistemas de liberación de sofisticados antígenos que estimulan la inducción de una respuesta inmune específica: Anticuerpos IgA salival. ⁽¹⁾

El objetivo de esta revisión es actualizar los conocimientos en inmunología mucosa y evaluar los recientes progresos en el desarrollo de una vacuna IgA - Secretora y Sistema Inmune Mucoso Común (SIMC)

La defensa inmune específica contra la bacteria que es responsable de la iniciación de la caries dental (*S. mutans*) depende de la concentración de anticuerpos salivales. ⁽²⁾

La más importante inmunoglobulina salival es la Inmunoglobulina A-Secretora (IgA-S) que se encuentra en rangos de concentración de aproximadamente 100-300 g/ml en adultos⁽³⁾. Esta es producida en las glándulas salivales por plasmocitos mucosales, que secretan IgA polimérica la cual es tomada y transportada por un receptor que le da el componente secretor, expresado sobre la superficie basolateral de las células epiteliales glandulares y liberado en la saliva como IgA-S ⁽⁴⁾.

La IgA-S es el producto del Sistema Inmune Mucoso Común (SIMC) el que consta de linfocitos B y T y su progenie, células dendríticas presentadoras de antígenos y macrófagos, como también células

epiteliales especializadas, distribuidas en la mucosa y en glándulas exocrinas, en sitios organizados inductivos mucosos, en nódulos linfáticos, la circulación y el sitio efector en la lámina mucosa propia y glándulas ⁽⁵⁾. El SIMC constituye la mayor parte del sistema inmune completo, y la IgA es la Inmunoglobulina más abundante ya que se produce en cantidades que exceden todos los otros tipos de Ig. Esto no debe sorprender, puesto que el SIMC es el responsable de la protección de aproximadamente 400 m² de superficie mucosa en el humano adulto. A través de esta organización, el SIMC responde continuamente a exposiciones antigénicas no parenterales, tales como: comida, aire inhalado, microbiota comensal residente en el tracto orogastrointestinal, respiratorio alto y tracto genital. Normalmente, estas respuestas son modestas, y son necesarios ensayos de sensibilidad para demostrar anticuerpos IgA-S específicos en las secreciones, pero es claro que una respuesta vigorosa puede ser obtenida con la estimulación agresiva de patógenos específicos o sus productos. Por este motivo, son muchos los esfuerzos para desarrollar nuevas vacunas mucosas y así explotar estas propiedades del SIMC y diseñar estrategias apropiadas para crear vacunas que resulten en una respuesta de anticuerpos IgA-S en las secreciones, incluyendo la saliva ^(6,7,8).

Finalmente, la cavidad oral recibe Igs de la circulación por transudación a través del crévice gingival. Estas comprenden a IgM, IgG, IgA en proporciones equivalentes a su presencia en el plasma sanguíneo, pero normalmente representan sólo pequeñas cantidades (menor a 15 g/ml en comparación a los niveles de IgA-S).

Mecanismos de Protección Mediados por Anticuerpos contra *S. Mutans* (Tabla 1)

El tropismo del *S. mutans* por la superficie de los dientes depende de adhesinas de superficie celular y enzimas extracelulares, las cuales son vulnerables al bloqueo por anticuerpos IgA-S en la saliva.

Específicamente, un grupo de proteínas fibrilares de superficie conocidas como antígenos I/II (Ag I/II) de la familia de adhesinas, han sido implicadas en la adherencia inicial a la película salival adquirida de la superficie dentaria, y un grupo de enzimas denominadas glucosiltransferasas (GTF) secretadas sobre células asociadas están también involucradas en la acumulación del *S. mutans* (sacarosa dependiente) en la superficie del diente.

Experimentos in vitro y en humanos han demostrado que la IgA-S inhibe la adhesina Ag I/II, inhibiendo la unión del *S. mutans* a la película adquirida salival. Incluso se ha demostrado que el anticuerpo IgA-S inhibe la adherencia del *S. mutans* más efectivamente que otras Igs⁽⁷⁾.

El efecto antiadhesivo de la IgA-S puede ser explicado por:

-bloqueo del receptor de adhesión (Ag I/II)

Tabla 1

Mecanismos de protección mediada por anticuerpos contra S. mutans Isotipo

Isotipo	Paso en la patogénesis de la caries	Modo de acción	Especificidad anticuerpo
IgA-S	Adhesión a la película adquirida salival	Bloqueo de la interacción adhesina receptor.	Ag I/II
		Reducción de hidrofobicidad	Superficie antigénica
		Aglutinación y clearance	Superficie antigénica
	Unión a colonizadores tempranos	Bloqueo de la interacción adhesina-receptor	Ag I/II
	Acumulación sacarosa dependiente	Inhibición de la producción de glucanos:	GTF:
		-Inhibición de la unión al sustrato -Inhibición de síntesis de polímeros	Región catalítica Región de unión a glucanos
		Bloqueo de adhesión	GTF, GBP
	Producción de ácidos y otras actividades metabólicas	Bloqueo de la adquisición de glucosa Sinergismo con: Peroxidasa (inhibición de la producción de ácidos) Lactoferrina (inhibición de la adquisición de hierro)	Desconocido Desconocido Moléculas que adquieren Fe ³⁺
IgG	Colonización de superficie	Opsonización y fagocitosis cervical de los dientes	Ag I/II; u otra superficie antigénica
	Invasión de túbulos dentinarios	Inhibición de la unión al colágeno	Ag I/II

-la unión de la IgA-S a la superficie bacteriana altera sus propiedades físico-químicas Ej. Disminuyendo su hidrofobicidad ⁽⁸⁾.

-El aumento de la hidrofobicidad de la superficie celular debido a la unión de IgA-S puede facilitar el atrapamiento de la bacteria en el moco salival y su clearance por entrecimiento, esto también facilitaría su aglutinación.

Por otro lado, se ha demostrado que otro mecanismo de acción de la IgA-S es su unión a una zona específica del *S. mutans* conocida como adhesina P1-Ag/II evitando su adhesión a los colonizadores tempranos o flora comensal, provocando un bloqueo en la interacción bacteriana.

La inhibición de la acumulación de bacterias sacarosa-dependientes, se produce por bloqueo de la Glucosiltransferasa (GTF). La GTF es una enzima secretada por el *S. mutans*, que sintetiza glucanos a partir de la glucosa. Los glucanos son también uno de los principales involucrados en la adhesión y acumulación de esta bacteria. En principio la IgA-S inhibe la síntesis de glucanos por su unión a la zona catalítica de la enzima GTF o por unión a la zona que une al glucano, por lo que inhibe directamente a la enzima. Además, la IgA-S podría también unirse a otros epitopos obstruyendo el acceso de sacarosa o glucosa hacia la GTF o resultando en un cambio conformacional de la molécula de GTF que interrumpe su actividad.⁽²⁾

Finalmente, se conoce que el *S. mutans* además de GTF produce una proteína que se une a los glucanos denominada GBP. La GBP promueve la colonización por uniones de microorganismos que adhieren a glucanos, una potente protección contra la caries dental sería utilizar anticuerpos antiGBP.⁽¹⁰⁾

Como se ha mencionado anteriormente la protección inmune específica contra el *S. mutans* está dada principalmente por la IgA-S, sin em-

bargo existen otras Igs y otros mecanismos involucrados en la protección contra esta bacteria:

La IgG derivada del plasma en el fluido gingival crevicular o en los túbulos dentinarios pueden contribuir a una protección inmune contra la caries. In vitro se ha demostrado una acción anti Ag I/II mediada por opsonización por IgG del *S. mutans* o por fagocitosis neutrófila, lo que constituiría un mecanismo de protección en las áreas cervicales de los dientes. Aunque es poco probable que el *S. mutans* colonice estas áreas de los dientes ya que son accesibles a ser fagocitados y desintegrados en la saliva, este mecanismo puede resultar importante como protección durante la erupción de los dientes en los infantes y en los niños.

Por otro lado, la propiedad del Ag I/II a unirse al colágeno y mediar la invasión del *S. mutans* a través de los túbulos dentinarios ⁽¹¹⁾ puede ser neutralizada por la IgG derivada del exudado de los vasos capilares de la pulpa dental. Anticuerpos han sido encontrados en los túbulos dentinarios ^(12 13) que pueden difundir libremente por los túbulos de mayor diámetro ⁽¹⁴⁾. Si la detención de la caries en dentina expuesta puede ser explicada por la inhibición de la invasión microbiana mediado por IgG este mecanismo permanece sin pruebas concluyentes, pero es una posibilidad interesante.

Otros autores sugieren que la IgG del plasma y la IgA-S interfieren con las funciones metabólicas del *S. mutans* aunque su evidencia es limitada ⁽¹⁵⁾.

También se ha descrito que la IgA-S puede aumentar la actividad del sistema de la peroxidasa salival/SNC/H₂O₂ lo cual inhibe la glicólisis del *S. mutans*.⁽¹⁶⁾

Finalmente se ha asociado a la IgA-S con la lactoferrina, en donde los anticuerpos actúan sinérgicamente con los últimos organismos privados de hierro, posiblemente por la inhibición de canales alternativos de adquisición de este.

Influencia materna sobre la inmunidad del recién nacido

La influencia materna en la inmunidad del recién nacido se manifiesta principalmente a través de dos formas de entrega de Igs. El feto recibe IgG materna por una transferencia placentaria⁽¹⁷⁾ la que se mantiene presente en el recién nacido hasta los 6 meses de edad. Posterior al nacimiento, el niño recibe mediante la lactancia Igs maternas, principalmente la forma IgA-S la cual es abundante en el calostro y disminuye progresivamente en la leche materna. Esta IgA-S no es absorbida por la circulación del niño, confiriendo protección pasiva principalmente en el tracto orogastrointestinal y respiratorio superior.⁽²⁾

Estas dos fuentes de Igs son independientes en relación a su origen, cronología, forma de entrega y efectos biológicos, por lo tanto aunque las interacciones ambientales son importantes en determinar la colonización de la cavidad bucal, las influencias maternas ejercen un efecto principal a través de la transferencia pasiva de anticuerpos que modulan tanto la respuesta inmune (transferencia placentaria de IgG) como la colonización microbiana (IgA-S de la leche materna)⁽¹⁸⁾.

IgA-S, colonización bacteriana del diente y respuesta inmune del recién nacido

Aunque al nacer, el tracto gastrointestinal y la cavidad oral son estériles, el recién nacido es inmediatamente expuesto tanto a la flora microbiana comensal como a la patógena. La IgA-S está virtualmente ausente al nacer pero comienza a desarrollarse durante las primeras semanas de vida alcanzando los niveles del adulto a los 6 meses. Durante este tiempo la protección contra los patógenos orales está dada por la IgA-S de la leche materna, los factores de defensa innatos de la saliva, como lactoferrina, lisozima, peroxidasas y péptidos antimicrobianos y además posiblemente por la transferencia de IgG desde la placenta materna.

Estudios han revelado que los infantes desarrollan IgA-S contra streptococos orales, a través de exposicio-

nes naturales cuando estos comienzan a colonizar la cavidad oral, en el caso de los colonizadores tempranos (*S. mitis*, *S. oralis* y *S. sanguis*) esto es a las 6 semanas de vida,⁽¹⁹⁾ y en el *S. mutans* una vez que han hecho erupción los dientes. Esto se explica debido a que cuando los dientes comienzan a erupcionar (4-8 meses de edad), ocurre un cambio ecológico, y los organismos capaces de formarse y sobrevivir en la placa dental son los que emergen, a pesar que el período de ventana para la infección con *S. mutans* ocurre como promedio a los 26 meses⁽¹⁹⁾. El tiempo entre la erupción inicial de los dientes y la apertura del período de ventana de infectividad es un período crítico para el hospedero durante el cual puede influenciar que microorganismos comienzan a establecerse, ya que durante este, disminuyen los factores inmunes maternos, la IgG derivada de la placenta es catabolizada y la lactancia materna es frecuentemente discontinuada, pero también el infante comienza a ser inmunológicamente independiente, desarrollando y modulando el sistema inmune que involucra a la cavidad oral.

Inmunización activa y pasiva contra *S. Mutans*

Recientes estudios sobre inmunización activa se han enfocado en el desarrollo de formas seguras y eficaces de inducir la respuesta protectora de IgA-S anti *S. mutans*.

Antígenos de virulencia que son actualmente considerados de primera importancia para una vacuna contra la caries incluyen la adhesina Ag I/ II, GTF, GBP. Segmentos recombinantes o péptidos sintéticos de estos antígenos también han sido probados como candidatos inmunógenos⁽²⁰⁾. Estos últimos han ganado popularidad ya que la respuesta inmune sería dirigida a epitopos protectores asociados con la función de virulencia de las proteínas, en vez de epitopos potencialmente indeseables como aquellos que muestran homología con proteínas del hospedero u otras bacterias.

En relación a la ruta de inmunización más efectiva para inducir una respuesta mucosal de IgA, recientemente un considerable interés se ha orientado hacia la inmunización intranasal⁽²¹⁾.

La administración mucosal de proteínas solubles es usualmente inefectiva en la inducción de una potente respuesta de IgA-S en la superficie mucosa, esto debido en parte a la limitada absorción del antígeno intacto por los sitios de inducción mucosal. Por lo tanto, los sistemas de liberación de antígenos (liposomas, microesferas y vectores microbianos vivos atenuados) y coadyudantes (toxina del cólera CT y su subunidad B CTB) han sido estudiados en su capacidad para aumentar especialmente la IgA-S en la respuesta mucosal al antígeno de la vacuna⁽²²⁻²³⁾.

Otra estrategia experimental para inducir una respuesta IgA-S a antígenos proteicos es la expresión de genes heterólogos que codifican inmunógenos de interés en un derivado no virulento de *Salmonella typhimurium*.

Estrategias de inmunización pasiva han sido usadas en animales de experimentación y humanos para determinar su efectividad contra la infección de *S. mutans* y la formación de caries. Dentro de las diversas fuentes de administración pasiva de anticuerpos anti *S. mutans* que han sido estudiadas se encuentran la leche bovina y la yema de huevo de gallina. Estudios con leche bovina inmune o yema de huevo con anticuerpo IgY específicos para antígenos *S. mutans* han mostrado, en animales de experimentación, una reducción en la actividad cariosa.⁽²⁰⁾ La aplicación tópica de anticuerpos monoclonales de ratón con especificidad anti Ag I/II, inhibe la recolonización con *S. mutans* en primates no humanos y humanos posterior a la higienización y tratamiento con clorhexidina⁽²⁴⁾.

Conclusiones

El desarrollo de una vacuna mucosa contra la caries dental, y la inducción de una respuesta inmune específica (IgA-S), puede constituir una forma más segura

y efectiva de prevenir la colonización de los dientes por *S. mutans* y evitar la caries dental. Principalmente si es aplicada en los períodos clave del proceso de colonización bacteriana.

Referencias

1. Hajishengallis G, Michalek SM
Current status of a mucosal vaccine against dental caries. Oral Microbiol Immunol 1999; 14: 1-20.
2. Russell MW, Hajishengallis G, Childers NK, Michalek SM
Secretory immunity in defense against cariogenic mutans streptococci. Caries Res 1999; 33: 4-15.
3. Brandtzaeg P.
Salivary immunoglobulins. En Tenovou JO (ed): Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology. Boca Raton, CRC Press, 1989; vol II: 1-54.
4. Mestecky J, Lue C, Russell MW
Selective transport of IgA: Cellular and molecular aspects. Gastroenterol Clin North Am 1991; 20: 441-71.
5. Mestecky J.
The common mucosal immune system and current strategies for induction of immune response in external secretions. J Clin Immunol 1987; 7: 265-76.
6. Smith DJ, Taubman MA.
Ontogeny of immunity to oral microbiota in humans. Crit Rev Oral Biol Med 1992; 3: 109-33.
7. Hajishengallis G, Nikolova E, Russell MW
Inhibition of Streptococcus mutans adherence to saliva-coated hydroxyapatite by human secretory immunoglobulin A antibodies to the cell surface protein antigen I/II: Reversal by IgA1 protease cleavage. Infect Immun 1992; 60: 5057-64.
8. Van Raamsdonk M, Van der Mei HC, de Soet JJ, Busscher HJ, de Graaff J.
Effect of polyclonal and monoclonal antibodies on surface properties of Streptococcus sobrinus. Infect Immun 1995; 63: 1698-1702.
9. Lamont RJ, Demuth DR, Davis CA, Malamud D, Rosan B.
Salivary-agglutinin mediated adherence of Streptococcus mutans to early plaque bacteria. Infect Immun 1991; 59: 4346-50.
10. Smith DJ, Taubman MA.
Experimental immunization of rats with Streptococcus mutans 59-kilodalton glucan binding protein against dental caries. Infect Immun 1996; 64: 3069-73.
11. Love RM, McMillan MD, Jenkinson HF.
Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by antigen I/II family of polypeptides. Infect Immun 1997; 65: 5157-64.
12. Ackermans F, Klein JP, Frank RM

Ultrastructural localization of immunoglobulins in carious human dentine. Arch Oral Biol 1981; 26: 874-86.

13 Okamura K

Histological study on the origin of dentinal immunoglobulins and the changes in their localization during caries. J Oral Pathol 1985; 14: 680-9.

14 Mjor IA, Noradhl I.

The density and branching of dentinal tubules in human teeth. Arch Oral Biol 1996; 14: 1-9.

15 Rolla G, Little WA, Ciardi JE.

Effect of antibody preparations on glucose uptake by a cariogenic Streptococcus. Scand J Dent Res 1985; 93: 13-6.

16 Tenovou J, Moldoveanu Z, Mestecky J, Pruitt KM,

Rahemtulla BM.

Interaction of specific and innate factors of immunity: IgA enhances the antimicrobial effect of the lactoperoxidase system against Streptococcus mutans. J Immunol 1982; 128: 726-31.

17 Lee SI, Heiner DC, Wara D.

Development of serum IgG subclass levels in children. Monogr Allergy 1986; 19: 108-21.

18 Husband AJ, Gleeson M

Development aspect of gut-associated immunity: A comparative review. En: MacDonald TT (Ed). Ontogeny of the Immune System of the Gut. Boca Raton: CRC Press 1990; 83-116.

19 Caufield P, Cutter G, Dasanayaque A.

Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res 1993; 72: 37-45.

20 Smith DJ, Taubman MA

Vaccines against dental caries infection. En: Levine MM, Woodrow GC, Kaper JB, Cobon GS (Eds). New Generation Vaccines. New York: Dekker, 1997; 913-30.

21 Wu H-Y, Russell MW.

Nasal lymphoid tissue, intranasal immunization, and compartmentalization of the common mucosal immune system. Immunol Res 1997; 16: 187-201.

22 Hajishengallis G, Russell MW, Michalek SM

Comparison of an adherence domain and structural region of Streptococcus mutans antigen I/II in protective immunity against dental caries in rats after intranasal immunization. Infect Immun 1998; 66: 1740-43.

23 Michalek SM, Katz J, Childers NK

A vaccine against dental caries: an overview. BioDrugs 2001; 15: 501-8

24 Ma JK-C, Lehner T

Prevention of colonization of Streptococcus mutans by

topical application of monoclonal antibodies in human subjects. Arch Oral Biol 1990; 35: S115-22.