



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MÁSTER OFICIAL EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

ESTRÉS OXIDATIVO

Y

PULPA DENTAL

TRABAJO FIN DE MÁSTER

ISABEL CRESPO GALLARDO
SEVILLA, NOVIEMBRE 2013

Trabajo fin de master Isabel Crespo Gallardo
Universidad de Sevilla, facultad de Odontología.
Sevilla, 5 de noviembre de 2013.

D. JUAN JOSE SEGURA EGEA, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Patología y Terapéutica Dental del Departamento de Estomatología de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICA QUE: D^a **Isabel Crespo Gallardo**, Licenciada en Odontología por la Universidad de Sevilla, ha realizado bajo su tutela y dirección el Trabajo de Investigación titulado "**Estrés oxidativo y pulpa dental**", como trabajo Final del Máster Oficial en Ciencias Odontológicas.

Sevilla, 5 de noviembre de 2013

Fdo.: Juan J. Segura Egea

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, debo agradecer a mi director, jefe y amigo, el Dr. Juan José Segura Egea, su ayuda, supervisión e incondicional apoyo, que han permitido que sea posible realizar este Trabajo Fin de Máster.

En segundo lugar, agradecer a todos mis profesores de licenciatura y máster, la ayuda recibida y el ejercicio de maestría en esta profesión.

En el mismo nivel debo de considerar también a mis compañeros de máster, que durante todo este año me han mostrado un gran apoyo en momentos de agobio.

Finalmente, a mi familia y mis amigos, que han sabido apoyarme en todo momento.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.	Pag. 6
I.I HISTOLOGÍA DE LA PULPA DENTAL.	Pag. 7
I.II FISIOLÓGÍA DE LA PULPA DENTAL.	Pag. 18
I.III RESPUESTA INMUNE E INFLAMATORIA FRENTE A LA CARIES.	Pag. 21
I.IV CONCEPTO DE ESTRÉS OXIDATIVO.	Pag. 23
I.IV.I CONTEXTO Y TERMINOLOGÍA.	Pag. 24
I.IV.II IMPORTANCIA BIOLÓGICO/INMUNE.	Pag. 28
I.IV.III ESPECIES REACTIVAS (CONCEPTO Y FIGURAS).	Pag. 37
I.IV.IV SISTEMAS ANTIOXIDANTES.	Pag. 41
II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.	Pag. 43
III. MATERIAL Y MÉTODO.	Pag. 45
IV. RESULTADOS.	Pag. 47
V. DISCUSIÓN.	Pag. 53
V.I ESTRÉS OXIDATIVO EN TEJIDO PULPAR.	Pag. 55
V.II ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PULPA DENTAL INFLAMADA.	Pag. 56
V.III RELEVANCIA DE LA DIETA EN EL ESTRÉS OXIDATIVO DE LA PULPA DENTAL.	Pag. 61
V.IV RESTAURACIONES CON RESINAS COMPUESTAS Y ESTRÉS OXIDATIVO.	Pag. 63
V.V ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PULPA DENTAL: IMPLICACIONES CLÍNICAS.	Pag. 70
IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	Pag. 72

I. INTRODUCCIÓN

I.I HISTOLOGÍA DE LA PULPA DENTAL

La pulpa dental es el tejido blando que ocupa la parte central del diente. Produce, sustenta y es una parte integrante de la dentina que la rodea.

Embriológicamente, el diente se origina a partir de la lamina dental (células epiteliales), esta lamina se invagina y da origen al germen dentario, en última instancia el tejido del interior de la invaginación se convierte en la pulpa dental. Esta pulpa deriva de células que emigran de la cresta neural (células ectomesenquimatosas) que se mezclan localmente con células mesenquimatosas.

Ciertas peculiaridades de la pulpa están impuestas por la dentina mineralizada rígida, en la que se encuentra encerrada. Así pues, la pulpa está situada en el interior de un medio poco distensible, que limita su capacidad para aumentar de volumen durante los episodios de vasodilatación y presión tisular aumentada; por tanto, es de gran importancia que se produzca una regulación cuidadosa del flujo sanguíneo. Además, es un órgano sensorial único. Al estar encerrada en una capa protectora de dentina, cubierta a su vez por esmalte, cabría esperar que tuviese poca capacidad de respuesta frente a los estímulos; sin embargo, a pesar de la conductividad térmica baja de la dentina, la pulpa es sensible a los estímulos térmicos, como los helados y las bebidas calientes

La pulpa dental es similar en muchos aspectos a otros tejidos conectivos del cuerpo (hasta el tejido pulpar maduro recuerda al tejido conectivo embrionario) pero sus características merecen una especial consideración.

Después de desarrollo dental, la pulpa conserva su capacidad para formar dentina a lo largo de toda su vida. Esto permite que la pulpa vital compense parcialmente la pérdida de esmalte o dentina causada por un traumatismo mecánico o por una enfermedad. La efectividad de esta función depende de muchos factores.

La dentina y la pulpa forman en realidad un complejo monotisular, complejo dentino-pulpar, cuyo aspecto histológico varía con la edad y la exposición a los estímulos externos. En general el tamaño y forma de la pulpa dental depende de la forma externa del diente.

Entre las células que componen la pulpa dental se encuentran:

a) ODONTOBLASTOS:

La célula que da a la pulpa su especificidad es el odontoblasto, bautizada así por Waldeyer en 1865. Los odontoblastos están situados en la parte más externa de la pulpa, formando una capa celular, el estrato odontoblástico, inmediatamente por debajo de la predentina. El odontoblasto posee una prolongación citoplasmática, el proceso odontoblástico, que se introduce en el interior de un túbulo dentinario (Fig. 1). El tamaño del odontoblasto depende de su actividad. Puede ser considerado como un fibroblasto especializado.

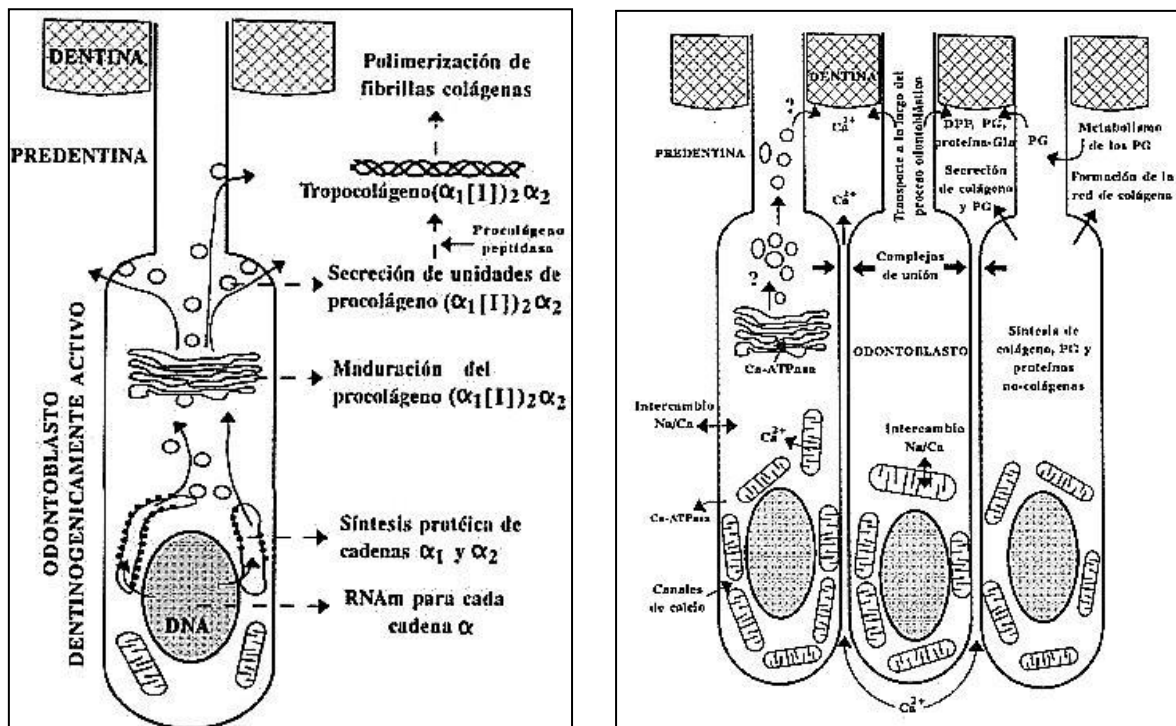


Figura 1. Estructura del odontoblasto; función secretora y formadora de dentina.

Desde el punto de vista ultraestructural, el odontoblasto funcionalmente activo muestra un núcleo voluminoso, situado en su polo basal, que puede contener hasta cuatro nucleólos. En el citoplasma descubrimos un gran número de vacuolas, un aparato de Golgi bien desarrollado y mitocondrias distribuidas por el citoplasma. El retículo endoplásmico (RE) está compuesto por cisternas agrupadas y paralelas entre sí, dispersas en forma difusa por el citoplasma ocupando gran parte de este.

En la base del proceso odontoblastico, la célula comienza gradualmente a estrecharse en diámetro a medida que pasa de la predentina a la dentina mineralizada, disminuyendo el número de organelas y presentando un retículo endoplásmico liso, algunas mitocondrias y gránulos ribosómicos. La disminución de

organelas citoplasmáticas refleja la disminución de la actividad funcional del odontoblasto.

El odontoblasto maduro es una célula postmitótica altamente diferenciada que ha perdido su capacidad de dividirse. Si un odontoblasto resulta dañado, los adyacentes se afectan inmediatamente, ya que existen numerosos complejos de unión entre ellos. Cuando los odontoblastos mueren, la función secretora de dentina se transfiere a odontoblastos vecinos o bien, aparecen nuevos odontoblastos desde células pluripotenciales que se encuentran en el tejido conectivo pulpar. Así, tras la necrosis de los odontoblastos, la capacidad defensiva y reparadora del complejo dentino-pulpar se manifiesta en la generación de nuevas células formadoras de dentina, denominadas neo-odontoblastos, dentinoblastos u odontoblastos secundarios. Los nuevos odontoblastos originados en los procesos reparativos de la dentina y la pulpa provienen de la diferenciación de células madre de la pulpa dental de origen ectomesenquimatosa, aunque algunos autores opinan que también podrían derivar de los fibroblastos pulpares (Seltzer S). La fibronectina juega un papel muy importante en la diferenciación de las células ectomesenquimales en odontoblastos (Grosman L., 1973)

b) FIBROBLASTOS

Son las células principales y más abundantes del tejido conectivo pulpar, especialmente en la pulpa cameral, donde forman la capa denominada rica en células. Los fibroblastos secretan los precursores de las fibras de colágena,

reticulares y elásticas, así como la sustancia fundamental de la pulpa, elaborando los mucopolisacáridos que la constituyen.

Podemos diferenciar entre fibroblasto activo y fibroblasto en reposo (para algunos autores también denominado fibrocito). Los fibroblastos activos presentan un contorno fusiforme y un citoplasma basófilo, con gran desarrollo de las organelas que intervienen en la síntesis proteica.

c) CÉLULAS MESENQUIMATOSAS INDIFERENCIADAS (CÉLULAS MADRE PULPARES)

Las denominadas células mesenquimáticas indiferenciadas o células madres de la pulpa dental (CMPD), constituyen una población de reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos productores de dentina o en fibroblastos productores de matriz pulpar, según el estímulo que actúe sobre ellas, incluso pueden diferenciarse en osteoblastos o en cementoblastos¹. Durante la inflamación pueden diferenciarse en macrófagos o células de resorción (dentinoclastos). El número de células mesenquimáticas disminuye con la edad, por lo que también disminuye con la edad la capacidad de regeneración pulpar (Gómez De Ferraris M^aE. & Campos Muñoz A., 2002).

Las CMPD se localizan generalmente en la región subodontoblástica o en la proximidad de los capilares sanguíneos (Shi S. y col., 2001). Morfológicamente son difíciles de diferenciar de los fibroblastos en cortes histológicos, apareciendo como células poliédricas con un citoplasma muy teñido y núcleo central (Gómez De

Ferraris M^aE. & Campos Muñoz A., 2002). Dispone de un abundante citoplasma con amplias prolongaciones periféricas.

d) MACRÓFAGOS

Los macrófagos pulpaes juegan un papel primordial en la defensa de la pulpa frente a la infección, siendo la base de la inmunidad innata o inespecífica a nivel pulpar (Jontell M. y col, 1988). Son células fagocíticas que intervienen en la eliminación de los antígenos y detritus durante la inflamación pulpar. Expresan receptores de membrana para numerosas moléculas bacterianas: receptor para el LPS (CD14), receptores C11b/CD18, receptores para manosas, y receptor para glúcidos, entre otros. También expresan "*scavengers*" (barredores), que se unen a ligandos muy diversos como: lipoproteínas, proteínas, poli y oligonucleótidos, polisacáridos aniónicos, fosfolípidos y otras moléculas. Por último, el macrófago expresa en su membrana receptores para opsoninas (moléculas que se unen a las bacterias y facilitan su fagocitosis), como receptores para la proteína C-reactiva, la fibronectina, o el factor 3b (C3b) del complemento (Hahn CL. & Liewehr FR., 2007). Los macrófagos, una vez interaccionan con la bacteria y se adhieren a ella con su receptor, la internalizan y la fagocitan. En la pulpa, la función fagocítica característica de la respuesta inmune inespecífica, no se produce hasta que el frente de avance de la caries entra en contacto directo con el tejido pulpar.

El macrófago pulpar es también esencial en la inmunidad pulpar adquirida o adaptativa, pues presenta los antígenos a los linfocitos T iniciando así la respuesta inmune específica.

e) MASTOCITOS O CELULAS CEBADAS

Derivan de los polinucleares basófilos sanguíneos y son poco abundantes en la pulpa sana, destacando su presencia en las pulpas inflamadas. En su citoplasma contienen gránulos llenos de histamina y heparina, liberando estas sustancias durante la inflamación. Al estar cerca del músculo liso vascular, la histamina hace que se provoque una vasodilatación, aumentando la permeabilidad del vaso y permitiendo el escape de líquido y leucocitos (Zachrisson B.U., 1971).

f) LINFOCITOS

Son las células efectoras de la inmunidad específica. Son básicamente dos tipos de células, células T y células B. No se asocian a tejido pulpar sano pero sí a lesiones y reacciones inmunitarias resultantes.

Todos estos elementos celulares se encuentran inmersos en componentes intercelulares como:

a) SUSTANCIA FUNDAMENTAL

Es la materia que se encuentra entre las células y las fibras del tejido conectivo, constituida principalmente por glucosaminoglicanos (GAG) o proteoglicanos. En dientes recién erupcionados, el GAG predominante es el

dermatán sulfato, en cambio, en la pulpas maduras predomina el ácido hialurónico y, en menor proporción, se encuentran el dermatan sulfato y el condroitín sulfato.

Presenta un aspecto homogéneo cuando se observa al microscopio óptico, con zonas de mayor o menor apetencia tintorial. La sustancia fundamental puede ser considerada como un “sol” (sistema líquido coloidal), o un gel que no puede ser “exprimido” con facilidad hacia el exterior del tejido conectivo. Su composición química es muy variable, pero en general, debemos tener en cuenta que está formada en gran parte por un filtrado sanguíneo, además de los diferentes elementos nutritivos y de desecho que lleva. A esto hay que añadir los elementos propios que aportan las células pulpares, en especial, los mucopolisacáridos del tipo glucosaminoglicanos (GAG) o proteoglicanos, producidos y secretados por los fibroblastos, que fijan agua e iones.

Por lo que a su contenido en **sales minerales** se refiere, la sustancia fundamental pulpar posee mayor cantidad de calcio y fósforo que el plasma debido a que los GAG actúan como resinas de intercambio iónico, fijando los cationes mediante sus cargas polianiónicas. El contenido de calcio y fluoruro de la sustancia fundamental tiende a aumentar con la edad, siendo el fluoruro un elemento que, lógicamente, variará en función del área geográfica donde resida el sujeto (por la concentración de flúor en el agua).

Los **mucopolisacáridos pulpares**, la mayoría del tipo glucosaminoglicanos (GAG) son un grupo de heteropolisacáridos que contienen generalmente dos tipos de unidades monosacáridas alternantes, de las cuales una por lo menos posee un

grupo ácido, ya sea un grupo carboxilo o un grupo sulfúrico. En la pulpa dentaria, los GAG principales son el ácido hialurónico, el ácido condroitín-sulfúrico y el heparán-sulfato.

El **ácido hialurónico** es un polímero lineal. La unidad que se repite es un disacárido de ácido glucurónico y N-acetilglucosamina, unidos por un enlace beta (1-3), unido a su vez a otras moléculas iguales por un enlace beta (1-4). El ácido hialurónico de la pulpa es un material blando gelatino-viscoso, no teniendo la consistencia fluida viscosa del de las articulaciones sinoviales.

El **ácido condroitín-sulfúrico** tiene una estructura muy parecida al anterior, la única diferencia es que contiene restos de N-acetilgalactosamina en vez de N-acetilglucosamina. Según su resistencia a las hialuronidasas y la situación del grupo sulfato del N-acetil-D-Galactosamina, se distinguen 3 tipos de ácido condroitín sulfúrico: tipo A (condroitín 4-sulfato), tipo B (dermatán 4-sulfato) y tipo C (condroitín 6-sulfato).

El **heparan sulfato** se distingue del ácido hialurónico por llevar un radical sulfato. No todos los autores coinciden en la presencia de este GAG en la pulpa dental.

No se conocen todas las funciones de los mucopolisacáridos, pero entre las conocidas se encuentran: 1) Por ser coloides hidrofílicos, intervienen en el enlace de agua y su retención, lo que permite interconversiones sol-gel; 2) Estabilizan las fibrillas de colágeno al enlazar transversalmente, de manera química sus moléculas;

3) Intervienen también en el enlace de calcio en áreas mineralizables y de esta manera participan en el mecanismo de calcificación.

Por último, en la sustancia intercelular de la pulpa dental se encuentran también **fibronectina**, que actúa como mediador de la adherencia celular, glucógeno (como principal fuente de energía), glucoproteínas, proteínas libres y azúcares neutros.

La sustancia fundamental tiene dos importantes funciones: formar un amortiguador que protege las células y componentes vasculares y actuar como filtro molecular dado que excluye las proteínas más grandes y la urea.

b) FIBRAS PULPARES

La pulpa contiene 3 tipos de fibras: colágenas, elásticas y de reticulina. Todas ellas son sintetizadas por los fibroblastos y, aunque existen importantes diferencias en su composición química, todas contienen una proteína peculiar: el colágeno. La matriz extracelular pulpar difiere de la matriz dentinaria, porque contiene cantidades significativas de colágeno tipo III, VI y fibronectina. Además se han identificado colágeno tipo III, IV y fibronectina. El colágeno tipo IV está formando parte de la membrana basal de los vasos sanguíneos y la variedad V refuerza las paredes vasculares.

Las **fibras colágenas** están constituidas por colágeno tipo I, el cual representa aproximadamente el 60% del colágeno pulpar. Son escasas y dispuestas en forma

irregular en la pulpa coronaria. En la zona radicular adquieren una disposición paralela y están en una mayor concentración. La densidad del diámetro de las fibras aumenta con la edad.

Las **fibras reticulares** están formadas por delgadas fibrillas de colágeno tipo III asociadas a fibronectina, las fibras reticulares son fibras finas que se distribuyen de forma abundante en el tejido mesenquimatoso de la papila dental. Estas fibras se disponen al azar en el tejido pulpar, excepto a nivel de la región odontoblástica donde se insinúan entre las células y constituyen el plexo de Von korff. En este plexo las fibras son más gruesas y adoptan el aspecto de “fibras en sacacorchos”. Las fibras reticulares pueden aumentar de diámetro con la edad, pero en una menor proporción que las fibras colágenas. En el adulto el colágeno tipo III será sustituido por colágeno tipo I, por lo que se las suele denominar fibras precolágenas.

Por último, las **fibras elásticas** están formadas principalmente por la proteína elastina y son muy escasas en la pulpa dental

I.II Fisiología de la pulpa dental

La pulpa cumple cinco funciones algunas formativas y otras de soporte:

I.- Inducción: la pulpa interviene en el inicio y el desarrollo de la dentina. Cuando se ha formado la dentina, colabora a la formación del esmalte. Estos procesos son interdependientes: el epitelio del esmalte induce la diferenciación de los odontoblastos, y los odontoblastos y la dentina inducen la formación del esmalte. Estas interacciones entre epitelio y mesenquima constituyen los procesos fundamentales de la formación de los dientes.

II.- Formación: los odontoblastos forman la dentina. Estas células superespecializadas intervienen en la formación de la dentina de tres modos:

- a) sintetizando y secretando la matriz inorgánica.
- b) transportando inicialmente los componentes inorgánicos a la matriz recién formada.
- c) creando unas condiciones que permitan la mineralización de la matriz.

La dentinogénesis primaria suele ser un proceso muy rápido durante las fases iniciales del desarrollo dental. Tras la maduración dental, la formación de la dentina continúa a un ritmo mucho más lento y siguiendo un patrón menos simétrico (dentinogénesis secundaria). Los odontoblastos pueden producir también dentina en respuesta a una lesión, que puede guardar relación con la caries, un traumatismo o un tratamiento restaurador. Generalmente, esta dentina no es tan organizada como

la primaria y la secundaria, y se localiza fundamentalmente en la zona de la lesión. Esta dentina recibe el nombre de dentina terciaria reaccionaria es tubular, y sus túbulos se comunican con los de la dentina original. Es producida por los odontoblastos originales. La dentina reparadora es producida por nuevos odontoblastos que se diferencian a partir de las células progenitoras tras la muerte de los odontoblastos originales. Esta dentina es fundamentalmente atubular.

III.- Nutrición: la pulpa aporta nutrientes esenciales para formar la dentina y mantener la integridad de la propia pulpa. La nutrición de la dentina se produce a partir de los vasos sanguíneos pulpares subyacentes. Los nutrientes pasan desde los capilares pulpares hacia el líquido intersticial que penetra en los túbulos dentinarios con presión positiva convirtiéndose en el fluido dentinario que llena los túbulos y aporta los nutrientes a la dentina.

IV.- Defensa: en el diente maduro, los odontoblastos producen dentina en respuesta a las lesiones, especialmente cuando el espesor de la dentina original disminuye por causa de la caries, la atricción, los traumatismos o los tratamientos restauradores. También puede producirse dentina en aquellas zonas en las que ha perdido su continuidad, como en una zona de exposición pulpar. En estos casos, la nueva dentina se forma gracias a la inducción, la diferenciación y la migración de nuevos odontoblastos a la zona expuesta. La pulpa posee además la capacidad de procesar e identificar sustancias extrañas (como las toxinas sintetizadas por las bacterias de la caries dental) y de generar una respuesta inmunológica a su presencia.

V.- Sensibilidad: los nervios pulpares pueden responder a los estímulos que actúan directamente sobre el propio tejido, o que llegan al mismo a través del esmalte y dentina. Los estímulos fisiológicos solo pueden producir una sensación dolorosa. La estimulación de los nervios sensitivos mielinizados de la pulpa provoca un dolor inmediato y agudo. La activación de las fibras dolorosas amielínicas da lugar a un dolor más lento y amortiguado. La sensación pulpar a través de la dentina y el esmalte suele ser rápida y aguda, y se transmite a través de fibras A δ (fibras mielínicas).

I.III RESPUESTA INMUNE PULPAR

Con frecuencia en la pulpa dental se producen procesos inflamatorios como consecuencia de una infección bacteriana resultante de caries, trauma, o causas iatrogénicas. Los odontoblastos son las primeras células que encuentran antígenos bacterianos de la caries dental, después de lo cual inducen rápidamente la quimiotaxis de las células dendríticas inmaduras (Hahn CL & LiewehrFR. 2007; Staquet MJ. y col, 2011).

La inflamación en la pulpa dental está acompañada por la liberación de una amplia variedad de moléculas altamente oxidantes conocidos como especies de oxígeno reactivas, ROS; aunque también se produce en la pulpa sana debido al metabolismo aeróbico (respiración mitocondria). El exceso de producción de ROS contribuye a la patogénesis de muchas enfermedades que implican inflamación y representa un estado en el que los tejidos son susceptibles al daño oxidativo.

En la pulpa dental se producen varias condiciones que pueden estar relacionadas con el estrés oxidativo, tales como la inflamación, la hipoxia y algunas enfermedades sistémicas (Tulunoglu y col. 1998; Esposito y col. 2003; Varvaray col. 2005; Bodor y col. 2007; Leite y col. 2008, 2012). Por ejemplo, enfermedades como la diabetes causa una alteración en la actividad de las enzimas antioxidantes de los tejidos de la pulpa dental de ratas (Leite y col. 2008, 2012).

Además, la pulpa dental es un tejido que se encuentra dentro de las cámaras mineralizadas y por lo tanto requiere un perfecto flujo vascular para la nutrición, la oxigenación y la eliminación de metabolitos. El estrés oxidativo afecta a la vascularización del tejido aumentando la disfunción endotelial (Armstrong AW y col. 2011).

I.IV CONCEPTO DE ESTRÉS OXIDATIVO

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se definen como compuestos que contienen oxígeno y tienen una mayor reactividad que el oxígeno molecular. Se incluyen en esta definición moléculas oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), ozono, ácidos hipoclorosos como el ácido hipocloroso (HOCl), peróxidos orgánicos y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), así como los radicales de oxígeno tales como superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$), hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), y los radicales hidroperoxilo ($\cdot\text{HO}_2$) (Valko M. y col. 2007; Nathan C. & Cunnigham-Bussel U., 2013).

Las especies reactivas de oxígeno se forman constantemente en el cuerpo humano y se eliminan por las defensas antioxidantes. El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre la producción de especies moleculares altamente reactivas (por ejemplo, especies reactivas de oxígeno [ROS] o especies reactivas de nitrógeno [RNS]) y las defensas antioxidantes. Un antioxidante es una sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con la de un sustrato oxidable, de manera significativa los retrasa o previene la oxidación de dicho sustrato (Halliwell B. 1991).

I.IV.I CONTEXTO Y TERMINOLOGÍA

Los radicales libres se han definido como cualquier especie capaz de existir independiente, que contiene uno o más electrones no apareados. Ellos son, por naturaleza, altamente reactivo y diversas especies, capaz de extraer electrones, y oxidar con ello una variedad de biomoléculas vitales para la función de células y tejidos, que no sólo incluye los radicales libres de oxígeno, sino también especies de nitrógeno y cloro. Esta revisión se centrará principalmente en los radicales de oxígeno. Sin embargo, no es posible examinar las actividades ROS sin discutir especies colaboradoras brevemente de otras clases. ROS es un término que se ha vuelto más popular, ya que abarca otras especies reactivas que no son verdaderos radicales, pero sin embargo son capaces de la formación de radicales en los entornos intra - y extracelular. En la Tabla 1 se resumen los principales radicales de oxígeno y ROS.

Tabla 1. Verdaderos radicales y especies reactivas del oxígeno (ROS) y sus símbolos.

Verdaderos radicales	Símbolo radical	ROS	Fórmula química de la ROS
Superoxido	$O_2^{\cdot-}$	Peroxido de hidrógeno	H_2O_2
Hidroxilo	$\cdot OH$	Acido hipocloroso	$HOCl$
Perhidroxilo	$H O_2^{\cdot-}$		
Hidroperoxilo	$HOO\cdot$	Oxígeno singlete	1O_2
Alcoxilo	$RO\cdot$	Ozono	O_3
Ariloxilo	$ArO\cdot$		
Ariperoxilo	$ArOO\cdot$		
Peroxilo	$ROO^{\cdot-}$		
Aciloxilo	$RCOO^{\cdot-}$		
Acilperoxilo	$RCOOO^{\cdot-}$		

Por convención se utiliza \cdot para significar un electrón desapareado y) o + para indicar la carga molecular, que puede ser o + ve) VE o de hecho neutro (por ejemplo, $\cdot OH$).

Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias que cuando están presentes en concentraciones bajas, en comparación con las de un sustrato oxidable, se retrasa o se inhibe la oxidación de dicho sustrato significativamente. En la fisiología normal hay un equilibrio dinámico entre la actividad de ROS y la capacidad de defensa antioxidante y cuando el equilibrio se desplaza en favor de ROS, ya sea por una reducción en las defensas antioxidantes o un aumento de la producción o actividad de ROS, resultada el estrés oxidativo. El estrés oxidativo se define por Sies (1991), como una alteración en el equilibrio pro-oxidante-antioxidante en favor de los primeros, dando lugar a daño potencial. Teniendo en cuenta que se estima que entre 1 mil millones y 3 mil millones especies reactivas se generan por célula por día, la importancia de los sistemas de defensa antioxidantes para el mantenimiento de la salud se convierte en indispensable.

El potencial redox es una medida (en voltios) de la afinidad de una sustancia para los electrones, en relación con el hidrógeno. Las sustancias más fuertemente electronegativas que el hidrógeno (es decir, capaces de oxidar el hidrógeno) tienen potenciales redox positivos y son oxidantes. Las sustancias menos electronegativas que el hidrógeno (es decir, capaces de reducir el hidrógeno) tienen potenciales redox negativos y son reductores. Las reacciones de oxidación y reducción van siempre de la mano y se denominan reacciones redox. Dentro del surco gingival, un bajo potencial redox se considera esencial para el crecimiento y la supervivencia de los anaerobios subgingivales, mientras que dentro de las células y tejidos de un ambiente reductor (bajo potencial redox) es protector contra el estrés oxidativo.

Por tanto, existe un conflicto aparente en el desarrollo de futuras estrategias terapéuticas para la periodontitis que se basan en la biología redox, porque el mantenimiento de un estado de bajo redox para proteger a las células huésped y los tejidos de estrés oxidativo es propicio para la promoción del crecimiento y la supervivencia de los anaerobios. Sin embargo, es vital para la comprensión de esta revisión y las complejidades de la biología redox recordar que el cuerpo está compartimentado. Las bacterias no son patógenos intracelulares (a diferencia de los virus), por lo que el mantenimiento de un estado redox bajo dentro de una célula pueden no tener relevancia para el estado redox de alta dentro de la bolsa periodontal / surco gingival.

Un ejemplo clave de las diferencias en compartimientos en la composición antioxidante fue destacada por Brock y col. en 2007, que demostró que la composición antioxidante de fluido crevicular gingival difería sustancialmente de los compartimientos de plasma y la saliva, con glutatión reducido (GSH) es un antioxidante importante en el fluido crevicular gingival, mientras que el ácido úrico predomina en la saliva y el plasma, que también poseen altos niveles de proteína-antioxidante (Chapple IL & Matthews JB, 2007).

I.IV.II IMPORTANCIA BIOLÓGICA

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) reaccionan preferentemente con ciertos átomos para modular funciones que van desde la homeostasis celular a la muerte celular. Acciones moleculares incluyen tanto la inhibición y la activación de las proteínas, mutagénesis de ADN y la activación de la transcripción de genes. Acciones celulares incluyen la promoción o la supresión de la inflamación, la inmunidad y la carcinogénesis. ROS ayuda al anfitrión a competir contra los microorganismos y también participan en la competencia intermicrobial. Su química y su pleiotropía, los hacen difíciles de localizar, cuantificar y manipular, lo que dificulta su estudio (Nathan C. & Cunningham-Bussel U, 2013).

Muchos autores afirman que el "estrés oxidativo" ocurre cuando la producción de ROS supera su catabolismo. Sin embargo, el término estrés es una referencia imprecisa a una gama restringida de ROS señalización que se extiende desde adaptativa a mala adaptación y tiene un papel importante en la biología celular. (Fig. 2). Por lo tanto, el estrés oxidativo no es una descripción, ni un sinónimo de la biología de ROS.

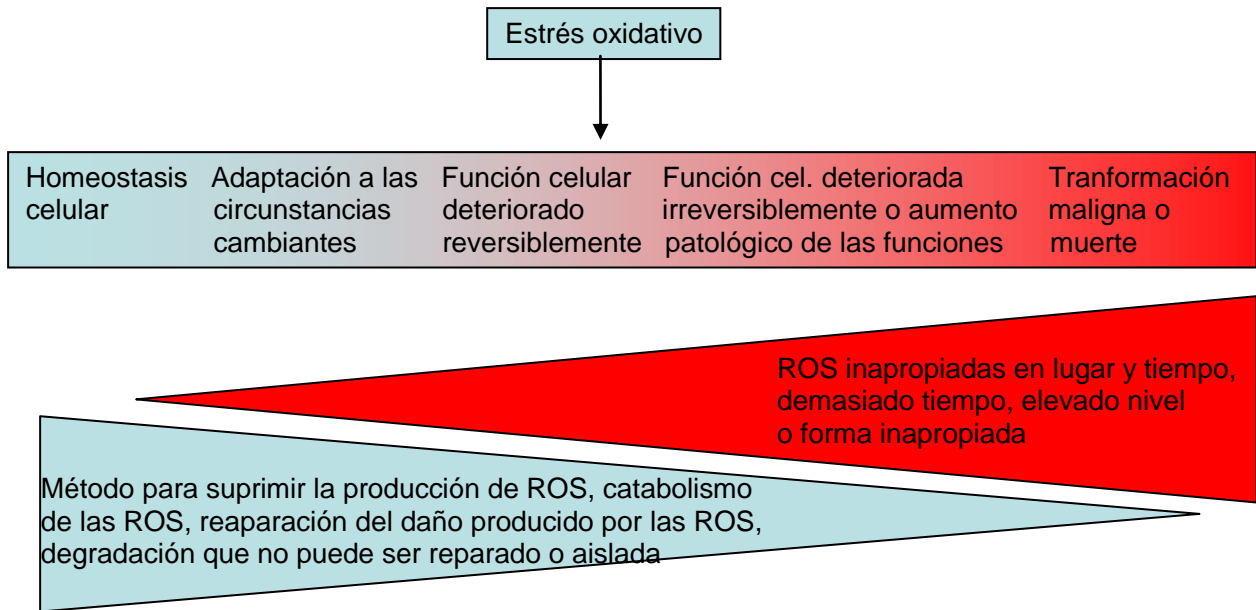


Figura 2 Importancia biológica del estrés oxidativo. Las ROS pueden contribuir a la homeostasis fisiológica y a la activación de las células (lado izquierdo). Cuando la producción de ROS escapa a estas restricciones – por ejemplo, cuando hay niveles altos o hay una producción sostenida de los radicales hidroxilos- las macromoléculas se dañan (“estrés oxidativo”). Los daños a menudo pueden ser reversibles por la reparación sustitución, degradación o secuestro de las macromoléculas dañadas (centro del diagrama). Sin embargo, si el daño excede la capacidad de la célula para estas respuesta puede conducir a la muerte celular (lado derecho)

Varios puestos de control restringen la producción de ROS por las NOXS, a momentos y lugares que son apropiados para las funciones celulares. NOXs son proteínas transmembranas del flavocitocromo, con dominio citosólico, las cuales transfieren un electrón de NADPH a un cofactor FAD. A partir de ahí, el electrón se pasa a un grupo hemo, el cual lo dona a un O₂ en el lado extracelular de la membrana, generando O₂^{•-}. Un paso de control en este proceso es la carga de la apoproteína con el cofactor de flavina. En otro nivel de regulación, la señalización del Ca²⁺, las cascadas de fosforilación y la activación de las pequeñas proteínas G controlan el reclutamiento de proteínas accesorias desde el citosol a unirse a la flavocitocromo en la membrana, formando el complejo de NOX funcional. NOXs son

funcionales después de la activación de sus receptores por ligandos tales como la insulina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento de fibroblastos, quimiocinas, factor de necrosis tumoral (TNF), granulocitos-macrófagos estimulante de colonias factor de (GM-CSF), la angiotensina, la esfingosina-1-fosfato, lisofosfolípidos, componente de complemento 5a (C5a) y el leucotrieno B4 (LTB4), así como por la adhesión celular y por fagocitosis.

La producción de ROS en la mitocondria está regulada por diversos factores, entre ellos la hipoxia.

Las óxido nítrico sintasas (NOS) pueden producir ROS cuando las concentraciones de su cofactor tetrahidrobiopterina o su cosustrato L -arginina son limitantes.

Las células mantienen la homeostasis, a pesar de la producción de ROS, no sólo catabolizando las ROS, sino también por la reparación de daño oxidativo. Por ejemplo, ROS puede oxidar los sulfuros que tienen los átomos de hierro en los grupos de sulfuro de hierro. Como resultado, se pierden átomos de hierro. La apoproteína pierde su función original y podría tener que ser re-sintetizado un nuevo grupo hierro-azufre que se uniría. La oxidación del ADN por ROS activa la reparación por escisión de nucleótidos y las vías para la reparación de las bases de la escisión.

Algunos daños oxidativos no pueden ser reparados, tales como la formación de grupos carbonilo en las cadenas laterales de los aminoácidos en las proteínas. Esto da lugar a células que degradan irreversiblemente macromoléculas oxidadas utilizando el proteasoma o autofagosomas. Algunas macromoléculas pueden estar oxidadas tan extensivamente que no pueden ser ni reparadas ni degradadas; las células pueden responder secuestrando estas macromoléculas con chaperonas.

El hecho de que los reguladores de ROS son codificados por una gran proporción del genoma y se distribuyen a través de tantas clases funcionales refleja los efectos funcionales generalizados de los ROS. Parece poco probable que la evolución selecciona para la aptitud al atribuirle un papel tan amplio de moléculas que reaccionan de manera no específica. Se argumenta a continuación que los efectos biológicos de ROS son de hecho altamente específicos.

En el sistema inmune, ROS no son ni productos únicos de un subconjunto de las células, como los fagocitos, ni tienen una acción, como para matar a otras células. En su lugar, las ROS tienen un papel fisiológico en la señalización que probablemente se extiende a cada tipo de célula en inmunología. Al igual que con cualquier mecanismo de señalización, ROS puede llegar a ser citotóxica si la señal es demasiado fuerte, si dura mucho tiempo o si se deriva en el momento o el lugar equivocado.

ROS en la inmunidad innata. El primer papel funcional atribuido a la producción de ROS por células de mamíferos fue la muerte de los microorganismos por fagocitos. Esto fue confirmado por el descubrimiento de que los individuos con la enfermedad granulomatosa crónica (CGD), un trastorno caracterizado por la mayor susceptibilidad a la infección, tienen mutaciones que causan enfermedades en NOX2, la principal fuente de ROS en los leucocitos polimorfonucleares (PMN) y los fagocitos mononucleares. PMN migran a los sitios de daño a los tejidos en respuesta a factores quimiotácticos tales como la interleuquina-8 (IL-8), C5a, LTB₄, y los péptidos liberados por las mitocondrias formilo o bacterias. Todo esto puede desencadenar NOX2 dependiente de la producción de H₂O₂. Se ha demostrado en larvas de pez cebra, donde las células endoteliales cerca de tejido herido activan los Nox isoforma de doble oxidasa (DUOX), que H₂O₂ en sí es un factor quimiotáctico. Un mecanismo mediante el cual H₂O₂ afecta a la migración de los leucocitos en los peces y los seres humanos implica la activación oxidativa de la tirosina cinasa Lyn y tal vez otras quinasas de la familia SRC. Por lo tanto, H₂O₂ podría ayudar a dirigir el movimiento PMN en un autocrina o paracrina.

Por otra parte, H₂O₂ que se produce en los PMN puede contribuir a la migración de PMN por la promoción de la acumulación de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato en el borde de ataque de la membrana plasmática. NOX2 que se localiza en la membrana plasmática genera H₂O₂, que inactiva transitoriamente la fosfatasa PTEN, permitiendo que se acumulen polifosfatos de inositol. En la cima de un gradiente quimiotáctico, donde se congregan los PMN migración y comienzan a ingerir las bacterias, los niveles de ROS son probablemente mucho más altos y más sostenidos que los PMN individuales que están comenzando a emigrar de la

circulación sanguínea. Los altos niveles de ROS pueden suprimir la motilidad celular. Por lo tanto, ROS puede coordinar la migración de PMN hacia los patógenos que heridas probablemente introducir y, a continuación, ROS puede promover la retención de los PMN en ese sitio. En consonancia con el papel potencial de NOX2 en la migración de los PMN de mamíferos, los PMNs NOX2-deficientes no pudieron migrar hasta un gradiente quimiotáctico *in vitro* o a los sitios de inflamación *in vivo*. Por lo tanto, la inmunodeficiencia de CGD no sólo implica defectuosa destrucción bacteriana, pero también podría ser un resultado de la acumulación de PMN retardada. Por lo tanto, podría parecer paradójico que la CGD fue nombrado por la tendencia a la formación excesiva de granulomas, sin embargo, esto podría reflejar una inactivación oxidativa alteración de factores quimiotácticos, como C5a, péptidos formilados y LTB4. Esto indica que ROS puede ayudar no sólo a iniciar, sino también poner fin a la inflamación.

Como se mencionó anteriormente, los factores derivados del huésped, tales como la IL-8 y C5a, que son inducidos en respuesta a productos bacterianos, pueden desencadenar la producción de ROS a partir de leucocitos. Sin embargo, las bacterias también pueden desencadenar la producción de ROS directamente a través de diversos tipos de receptores en los leucocitos. Por ejemplo, el receptor de la participación Toll-like (TLR) puede inducir la producción de ROS por NOX2 y por otras fuentes que contribuyen a la señalización.

Ros e inflamomas. Una cuestión importante en la inmunidad innata es la forma en la que se estructuran y activan los diversos agonistas en las mismas

inflamasomas. ROS parece mediar la activación de inflamasoma en una variedad de circunstancias, aunque los pasos moleculares implicados y las fuentes de ROS siguen siendo controvertidos. Es posible que otra fuente de ROS pudiese iniciar el daño mitocondrial, en efecto a partir de un proceso que a continuación se convierte en auto-sostenible.

ROS, la microbiota intestinal y los patógenos entéricos. En contraste con los pacientes con EGC, los ratones que son deficientes sólo en NOX2 no son susceptibles a las infecciones espontáneas durante la cría estándar, que es similar a los ratones que sólo son deficientes en óxido nítrico sintasa inducible (NOS2; también conocido como iNOS). Sin embargo, los ratones que carecen tanto NOX2 y NOS2 sucumben a las infecciones invasivas espontáneas, por su propia microbiota en forma de abscesos grandes llenos de PMN y monocitos. Parece que las proteínas y péptidos antibióticos, las bombas de la acidificación, las hidrolasas lisosomales y los mecanismos autofágicos de los PMN y monocitos no son eficaces en los órganos infectados en ausencia de ambos NOX2 y NOS2. Esto podría indicar que tanto ROS y RNS están obligados a integrarse con los otros mecanismos enumerados anteriormente. En efecto, las ROS son necesarios para la autofagia antibacteriano en PMN, macrófagos y algunas células epiteliales. La redundancia mutua parcial de NOX2 y NOS2 oscurece toda la importancia de ROS en el control de infecciones. Tomados en conjunto, estos datos muestran que NOX2 y NOS2 son esenciales para los ratones a coexistir con su microbiota.

Algunos patógenos intestinales pueden aprovecharse de la producción inflamatoria de ROS. Por ejemplo, puede convertir ROS tiosulfato endógena en tetracionato, que *S. Typhimurium* se puede utilizar como un aceptor de electrones para lograr una ventaja de crecimiento en las regiones de la luz intestinal que son casi anóxica.

ROS y la regulación de la función de los linfocitos. ROS fueron las primeras moléculas que se encuentran para suprimir la función de células T.

ROS y células tumorales. Una vez que se descubrieron que las ROS son un mecanismo principal por el cual el sistema inmune controla los patógenos, los investigadores preguntaron si ROS también contribuyen a la capacidad de los macrófagos activados para matar selectivamente a las células tumorales. En varios modelos de ratones ROS parecía representar una gran parte de la actividad antitumoral de los macrófagos activados inmunológicamente. Matar se podría aumentar en gran medida farmacológicamente por la inhibición de la síntesis de glutatión celular o la glutatión reductasa, o mediante la restricción de selenio en la dieta, que se requiere para la función de la glutatión peroxidasa. Sin embargo, las células humanas demostraron ser aproximadamente 100 veces más resistentes a los ROS que sus homólogos de ratón. El fenómeno de la sobreproducción de ROS por las células tumorales ha sido ampliamente confirmado. En algunos casos, la producción excesiva de ROS se ha atribuido a mutaciones en un gen mitocondrial que codifica un componente de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. Introducción de las mutaciones en otras células tumorales era

suficiente para conferir tanto una mayor generación de ROS y el potencial metastásico dependiente de ROS. La liberación de ROS por las células tumorales podría sensibilizar o incluso auto-activar, los receptores del factor de crecimiento mediante la inhibición de las tirosina fosfatasas asociadas. Células tumorales con producción de ROS también podrían ayudar a explicar cómo las células tumorales alteran su metabolismo central de carbono -por ejemplo, hacia la síntesis de precursores de ácidos nucleicos- y también podría contribuir a la inmunosupresión. Por otra parte, las acciones mutagénicas de ROS que se derivan de las células inflamatorias pueden contribuir a las etapas iniciales de la tumorigénesis. Después de que se estableció un tumor, ROS deriva de la radioterapia, la quimioterapia o de las células tumorales por sí mismos pueden contribuir a la inestabilidad genómica de las células tumorales, el fomento de la resistencia a fármacos, al igual que la producción de ROS que es inducida por antibióticos en las bacterias puede causar mutaciones que promueven resistencia a los antibióticos. Por último, el tumor derivado de las células ROS puede desencadenar en el estroma del tumor a producir factores angiogénicos. En contraste con las células cancerosas más diferenciadas, las células madre de cáncer mostraron niveles más bajos de ROS intracelular, mayores niveles de antioxidantes y las respuestas de las vías de reparación del ADN más eficaces a la radiación ionizante. Por lo tanto, los efectos de ROS en los tumores pueden variar.

I.IV.III ESPECIES REACTIVAS

Fuentes endógenas de ROS en los mamíferos (Tabla 2) se incluyen siete isoformas de NADPH oxidasas (NOXs) que son expresados diferencialmente en diversas células y especies: la cadena respiratoria mitocondrial; la flavoenzima ERO1 en el retículo endoplasmático; xantina oxidasa; lipoxigenasas, ciclooxigenasas; citocromos P450; una desmetilasa dependiente de flavina; oxidasas de poliaminas y aminoácidos; sintasas de óxido nítrico.; iones de cobre libres o iones de hierro que se liberan de las agrupaciones de sulfuro de hierro (Grupos prostéticos que se requieren para la función de algunas enzimas, en el hierro-azufre agrupaciones dos, tres o cuatro átomos de hierro se unen a la proteína a través de dos o cuatro grupos sulfhidrilo); y grupos hemo o proteínas de almacenamiento de metal puede convertir $O_2^{\cdot-}$ y/o H_2O_2 de OH^{\cdot} .

Tabla 2. Fuentes de las ROS y sus mediadores en el catabolismo.

Fuentes exogenas de ROS	<ul style="list-style-type: none"> Tabaco Aire contaminado Radiación ultravioleta Radiación γ Varias drogas
Fuentes endógenas de ROS	<ul style="list-style-type: none"> NADPH oxidasas Mitocondrial Flavoenzima ERO1 del reticulo endoplasmático Xantina oxidasa Lipoxigenasas Ciclooxigenasas Enzima del citocromo P450 Desmetilasa dependiente de la flavina Oxidasas de poliaminas y aminoácidos Sintasas de óxido nítrico Iones de Fe y Cu libres Grupos hemos Proteínas de almacenamiento del metal

Catabolismo de ROS por sistemas antioxidantes	Superoxido dismutasa Catalasas Glutation peroxidasas Glutation reductasas Tioredoxina Tioredoxina reductasa Metionina sulfoxido reductasa Peroxirredoxina o peroxinitrito reductasa
Catabolismo de ROS por pequeñas moléculas que reaccionan no enzimáticamente	Ascorbato Piruvato Ketaglutarato α Oxaloacetato

Pero las ROS no son la única clase de pequeñas moléculas de señalización endógenas, reactivas; otras clases incluyen especies reactivas de nitrógeno (RNS), como el óxido nítrico (NO^\bullet) y NO_2^\bullet , sulfuro de hidrógeno (H_2S) o su anión SA^- , y monóxido de carbono (CO). Las RNS pueden tener propiedades que se superponen o que son diferentes a las ROS (Nathan C. & Cunningham-Bussell U., 2013).

Objetivos de ROS:

1.- Objetivo atómico: las ROS muestran un tipo de especificidad que es atómica molecular de un lugar: ROS reacciona covalentemente, a menudo reversible, con sólo ciertos elementos atómicos en macromoléculas, y con sólo un subconjunto de esos átomos (Fig. 3). Dependiendo del origen y el nivel de ROS, esto podría ocurrir en ubicaciones subcelulares discretas o a través de una gran proporción de la célula. Como resultado, las diversas vías de señalización que son reguladas simultáneamente por los niveles celulares de ROS, se asocian con el estado metabólico de la célula. En consonancia con la idea de "especificidad atómica", uno de los átomos con los que ROS más a menudo reacciona

reversiblemente en la señalización celular - azufre - es uno de los átomos menos abundantes en las macromoléculas biológicas. Incluso entonces, ROS no reaccionan con todos los átomos de azufre, pero sobre todo con un subconjunto de los átomos de azufre en las cadenas laterales de cisteína o residuos de metionina en los péptidos o proteínas.

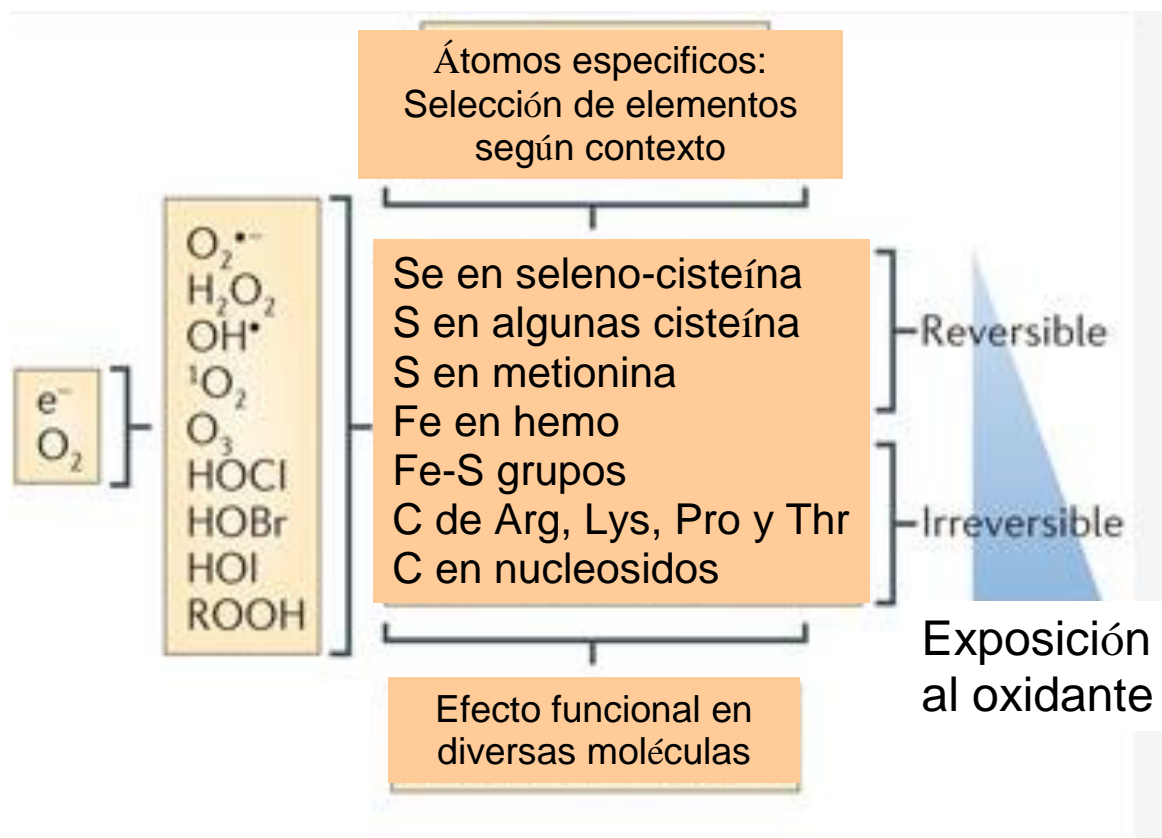


Figura 3. Objetivo atómico. Durante la reducción del oxígeno a agua, la reducción de un electrón secuencial puede producir intermediarios de oxígeno reactivo (ROI) – superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo – junto con el oxígeno singlete y el oxono. ROIs comprenden un subconjunto de especies reactivas de oxígeno (ROS). ROS adicionales son la hipocloros ($HOCl$), hipobromoso ($HOBr$) y ácidos hipoyodoso (IOH) que surgen cuando peroxidasas catalizan la oxidación de haluros por H_2O_2 , así como productos importantes de la reacción de ROS con otras moléculas que retienen fuerte potencial oxidante, tal como peróxidos de lípidos (incluido como $ROOH$ en la figura). ROS en niveles bajos tienden a reaccionar reversiblemente con un número limitado de átomos – por ejemplo, selenio o átomos de azufre en un subconjunto de residuos de cisteína y metonina- confieren especificidad atómica en reacciones que implican diversas macromoléculas. A niveles más altos de ROS son propensos a reaccionar de modo irreversible con ciertos átomos de hierro y carbono.

2.- Dianas moleculares: Proteínas. Se han descrito una lista parcial de las proteínas reguladas fisiológicamente por ROS. Un papel importante de ROS en la transducción de señales es la oxidación de la cisteína transitoriamente sulfhidrilo que contribuye al sitio activo de la mayoría de las fosfatasas. La fosforilación que sigue a la unión de un ligando a su receptor se suele atribuir a la activación de una quinasa, pero también puede ser el resultado de una explosión de la formación de ROS y la inactivación transitoria de las fosfatasas afines. Evaluación proteoma a escala ha demostrado que la regulación de ROS de fosfatasas, y por lo tanto de la fosforilación, es generalizada.

En otras proteínas, detección de ROS por los residuos de cisteína puede proporcionar control de realimentación para regular los niveles de ROS.

Una función principal de ROS es su contribución a la activación de la transcripción por varios mecanismos, por ejemplo, a través de la inhibición de la degradación de los factores de transcripción, con su consiguiente acumulación.

3.- Dianas moleculares: ADN. La ROS mitocondrial de puede promover la transcripción mediante la oxidación de ADN en sí mismo, en lugar de mediante la oxidación de las proteínas reguladoras de unión a ADN. Esto complementa el reconocimiento de larga data del potencial mutagénico de ROS (Nathan C. & Cunnigham-Bussel U, 2013).

I.IV.IV SISTEMAS ANTIOXIDANTES.

Para evitar el daño celular derivado de las ROS, las células han desarrollado mecanismos de defensa específicos. Los organismos biológicos tienen un sistema antioxidante compuesto principalmente por un grupo de enzimas para el control de los radicales libres, tales como superóxido dismutasa (SOD), catalasa y la glutatión (GSH) sistema (peroxidasa y reductasa). El sistema antioxidante secundario se compone de moléculas no enzimáticas, la mayoría de los cuales son derivados de la dieta, como vitaminas C, E, carotenos y otros (Valko M y col, 2007).

Hasta hace poco, se pensaba que los sistemas antioxidantes de una célula eran superóxido dismutasas, catalasas y las enzimas del ciclo redox del glutatión, que acoplaban la reducción de peróxido para la oxidación y la regeneración de glutatión reducido. Muchas adicionales e importantes enzimas fisiológicas ROS-reguladoras son ahora reconocidas, entre ellas las tiorredoxinas, tiorredoxina reductasas, peroxirredoxinas (que también funcionan como reductasas peroxinitrito) y sulfóxido de metionina reductasas. Por otra parte, estudios recientes han incrementado nuestra comprensión de la homeostasis del glutatión. Por ejemplo, el nivel de glutatión reducido se conserva en la levadura no sólo a través de la acción de la glutatión reductasa, sino también a través de las acciones de la tiorredoxina reductasa y la glutarrredoxina, y la exportación de glutatión oxidado en la vacuola.

La piruvato quinasa, una enzima implicada en la glicólisis y la gluconeogénesis, es crucial en la regulación de la retroalimentación negativa de ROS. Cuando las células metabolizan la glucosa, ROS inhibe la piruvato quinasa

mediante la oxidación de Cys358. La inhibición resultante de la glicolisis dirige el flujo de carbono en la ruta de la pentosa fosfato. Esto aumenta la producción de NADPH y sostiene la reducción del glutatión oxidado y tiorredoxina, volviendo a ROS niveles homeostáticos.

Además, muchas moléculas pequeñas que reaccionan con ROS no enzimáticamente pueden ser reciclados o repuesta, dándole a la ROS una capacidad de almacenamiento en búfer. Estos incluyen ascorbato y los α -cetoácidos del metabolismo central de carbono, tales como piruvato, α -cetoglutarato y oxalacetato (Tabla 2). Así como algunas moléculas que son más conocidos para otras funciones también pueden actuar como antioxidantes, por lo que las moléculas que son conocidos principalmente como antioxidantes pueden tener otras funciones. Por ejemplo, cuando se liberan de las células, la tiorredoxina es un potente quimioatrayente y la peroxirredoxina puede desencadenar la inflamación.

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

Tras analizar la bibliografía sobre estrés oxidativo podemos deducir que éste juega un papel fundamental y clave en el desarrollo de la respuesta inflamatoria e inmune.

Teniendo en cuenta que la inflamación es la causante de la principal patología pulpar, la pulpitis, así como de su complicación irreversible, la necrosis pulpar, y su repercusión a nivel periapical, la periodontitis apical, es indudable que el estrés oxidativo ha de jugar un papel importante en la patología pulpo-periapical.

Actualmente se ha constatado que la inflamación pulpar se acompaña de la liberación de una amplia variedad de moléculas altamente oxidantes conocidas como especies de oxígeno reactivas, ROS; aunque también se produce en la pulpa sana debido al metabolismo aeróbico (respiración mitocondria). El exceso de producción de ROS contribuye a la patogénesis de muchas enfermedades que implican inflamación y representa un estado en el que los tejidos son susceptibles al daño oxidativo.

El objetivo de esta revisión es analizar la literatura científica relevante en relación con el estrés oxidativo y su papel en la inflamación pulpar.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión de artículos publicados en revistas científicas entre los años 1985 y 5 noviembre de 2013, obtenidos a través de las bases de datos PubMed, Medline, Embase, Cochrane Data Base e Índice Médico Español.

Se incluyeron en la búsqueda todo tipo de artículos: revisiones sistemáticas, estudios clínicos, estudios descriptivos, series de casos y controles, casos clínicos y trabajos de investigación básica en humanos o en animales.

Se utilizaron las siguientes palabras clave para la realización de la búsqueda: “oxidative stress AND dental pulp”, “superoxide dismutase and dental pulp”, “ROS and dental pulp”, “free radical and dental pulp”.

IV. RESULTADOS

En una primera búsqueda se obtuvieron 408 artículos. Posteriormente se pasó a la lectura de los títulos y resúmenes, descartando aquellos no relacionados con el tema de estudio, quedando un total de 101 artículos, de los que se obtuvieron los textos completos en PDF (Fig. 4).

Se revisó la metodología empleada en los 101 artículos con el fin de comprobar su validez interna y su fiabilidad. Se excluyeron todos aquellos artículos que no tratasen sobre estrés oxidativo en la pulpa dental o cuya metodología no fuese adecuada. Así, tras la lectura detallada, nos quedamos con un total de 11 artículos (Tabla 3).

En la discusión, también se incluyen artículos clásicos y otros que aportan algún aspecto interesante, pero no se analizan desde el punto de vista metodológico. En concreto, se utilizaron 7 artículos para la explicación y la definición de algunos conceptos (Tabla 4).

Figura 4 Estrategia de búsqueda.

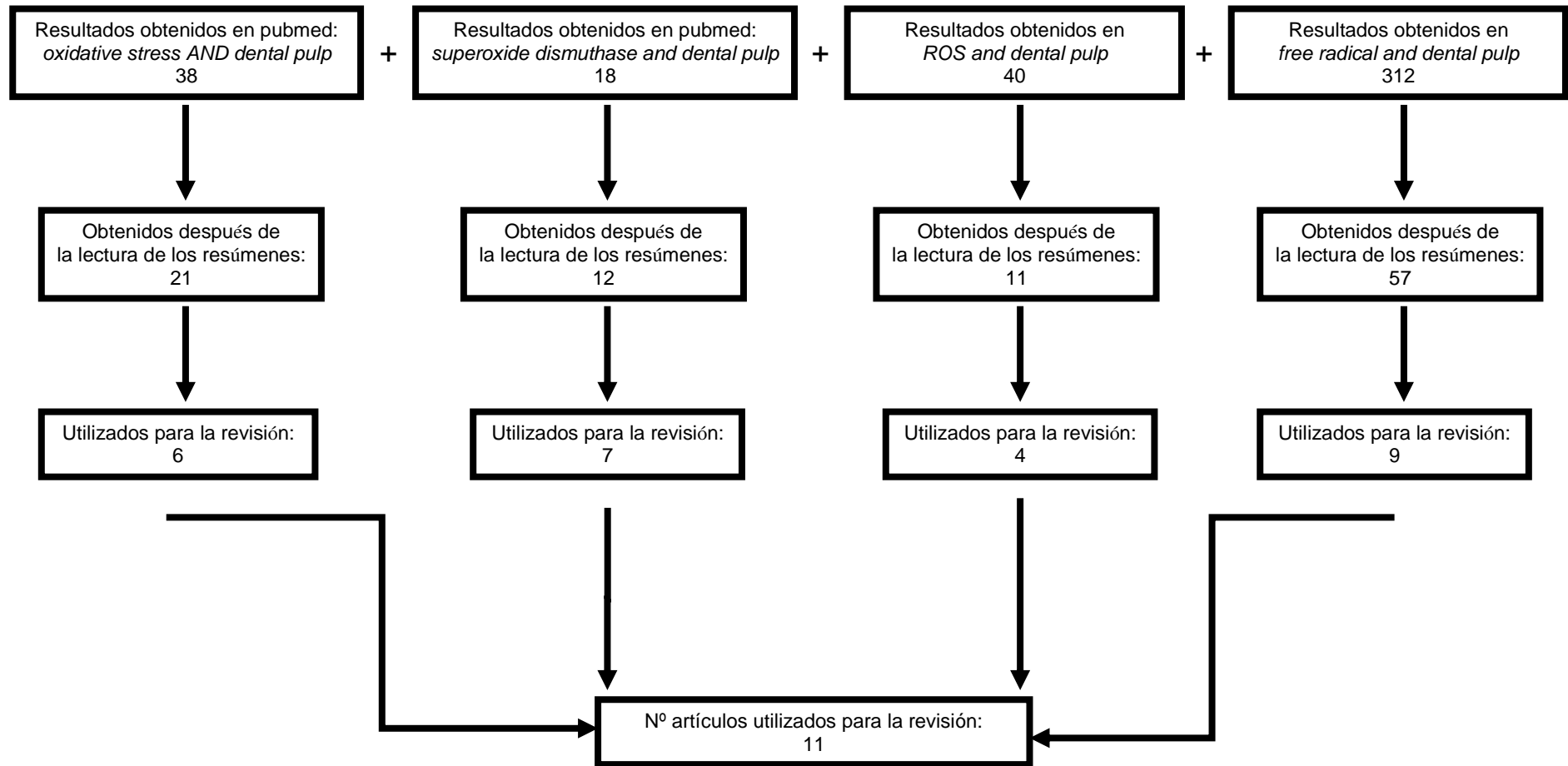


Tabla 3. Artículos incluidos en la discusión.

TÍTULO	AÑO	AUTORES	REVISTA	TIPO DE ESTUDIO
<i>The Anti-Inflammatory Effects of Human Recombinant Copper-Zinc Superoxide Dismutase on Pulp Inflammation.</i>	2001	Baumgardner K.R. y Sulfaro M.A.	Journal of Endodontics	Investigación
<i>Elevated expression of Cu, Zn-SOD and Mn-SOD mRNA in inflamed dental pulp tissue</i>	2007	Bödör C, Matolcsy A, Bernath M.	International Endodontic Journal	Investigación
<i>Copper–zinc superoxide dismutase activity in normal and inflamed human dental pulp tissue.</i>	1991	Davis WL, Jacoby BH, Craig KR, y col.	Journal of Endodontics	Investigación
<i>Ability of healthy and inflamed human dental pulp to reduce hydrogen peroxide</i>	2003	Esposito P , Varvara G , Murmura G y col.	European Journal of Oral Science	Investigación
<i>A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers</i>	2013	Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G y col	Biomaterials	Revisión

<i>Butein protects human dental pulp cells from hydrogen peroxide-induced oxidative toxicity via Nrf2 pathway-dependent heme oxygenase-1 expressions</i>	2013	Lee DS, Li B, Kim KS y col.	Toxicology In Vitro	Investigación
<i>Mechanical stress activates proinflammatory cytokines and antioxidant defense enzymes in human dental pulp cells</i>	2008	Lee SK, Min KS, Youngho-Kim y col.	Journal of Endodontics	Investigación
<i>Combination of astaxanthin and fish oil supplementation alters antioxidant enzyme profile of dental pulp tissue.</i>	2012	Leite MF, Lima AM, Otton R.	International Endodontic Journal	Investigación
<i>Superoxide dismutase activity in healthy and inflamed pulp tissues of permanent teeth in children.</i>	1998	Tulunoglu O, Alacam A , Bastug M y col.	Journal of Clinical Pediatric Dentistry	Investigación
<i>Dental resin curing blue light induced oxidative stress with reactive oxygen species production.</i>	2012	Yoshino F, Yoshida A, Okada E y col	Journal of Photochemistry and Photobiology B	Investigación
<i>Copper-zinc superoxide dismutase activity in healthy and inflamed human dental pulp.</i>	2005	Varvara G, Traini T, Esposito P y col	International Endodontic Journal	Investigación

Tabla 4. Artículos incluidos en discusión a modo explicatorio

TÍTULO	AÑO	AUTORES	REVISTA
<i>Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein).</i>	1969	McCord JM. y Fridovich I.	Journal of Biological Chemistry
<i>Mitochondrial superoxide dismutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization</i>	1973	Weisiger RA y Fridovich I	Journal of Biological Chemistry
<i>Protection of human neutrophils by endogenous catalase: studies with cells from catalase-deficient individuals.</i>	1980	Roos D, Weening RS, Wyss SR y col	Journal of Clinical Investigations
<i>Oxidants by phagocytes: agents of defense and destruction</i>	1984	Babior BM.	Blood
<i>Aspartate aminotransferase activity in human healthy and inflamed dental pulps.</i>	2001	Spoto G, Fioroni M, Rubini C y col.	Journal of Endodontics
<i>Redox signaling in macrophages.</i>	2001	Forman HJ. y Torres M.	Molecular Aspects of Medicine
<i>Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue</i>	2010	Weydert CJ y Cullen JJ.	Nature Protocols

V. DISCUSIÓN

Para llevar a cabo el análisis de los datos obtenidos hemos establecido los siguientes apartados:

- Estrés oxidativo en tejido pulpar.
- Estrés oxidativo en la pulpa dental inflamada.
- Relevancia de la dieta en el estrés oxidativo de la pulpa dental.
- Restauraciones con resinas compuestas y estrés oxidativo.
- Estrés oxidativo en la pulpa dental: implicaciones clínicas.

ESTRÉS OXIDATIVO EN TEJIDO PULPAR.

Tejido de la pulpa tiene una adaptación compensatoria y una reacción antioxidante capaz de protegerse a sí misma (Lee SK y col., 2008). Evaluaron los efectos del estrés mecánico cíclico (fluido de cizalla, compresión y estiramiento longitudinal axial) sobre la expresión de citoquinas proinflamatorias y genes citoprotectores antioxidantes de la pulpa dental. El estrés mecánico cíclico se ha estudiado en otras células como osteoblastos, condrocitos, células musculares o células del ligamento periodontal; sin embargo se sabe poco sobre los efectos que puede tener sobre las células madre mesenquimales de la pulpa dental. Además, se ha demostrado que grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias interleucina-1 β (IL-1 β) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) pueden inducir pulpitis en ratas. En resumen, este estudio es el primero en demostrar que las citoquinas inflamatorias y las ROS producidas en respuesta a la tensión mecánica podrían desempeñar un papel clave en la activación de las primeras señales celulares mediadas por la respuesta antioxidante implicada en la transcripción de genes, proporcionando de ese modo la protección celular o supresión de efectos secundarios perjudiciales a través de la activación de la antioxidante y desintoxicación de enzimas en las células de la pulpa dental humana.

ESTRÉS OXIDATIVO EN LA PULPA DENTAL INFLAMADA.

La inflamación en la pulpa dental está acompañada por la liberación de una amplia variedad de ROS. En los procesos inflamatorios el sistema antioxidante no es suficiente, debido a los altos niveles de ROS. Por lo tanto, la complementación del sistema de defensa antioxidante, puede limitar la gravedad de la respuesta inflamatoria. Para probar esta hipótesis, Baumgardner K.R. & Sulfaro M.A., 2001, examinaron los efectos de los radicales libres de superóxido en la inflamación pulpar (inducida mediante una preparación cavitaria estandarizada) de molares de ratas. Se comparó la extensión de la inflamación pulpar histomorfométricamente de los animales tratados con superóxido dismutasa de cobre y zinc, conjugado con polietilenglicol (hr-CuZn-SOD), frente a los controles con solución salina.

La SOD es una enzima detoxificante que cataliza el ion superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Existen 3 isoformas: cobre-zinc SOD (Cu-Zn-SOD), que se encuentra en el citosol; SOD manganeso (Mn-SOD), que se encuentra en la mitocondria, y un SOD extracelular (EC-SOD) (McCord JM & Fridovich I., 1969; y Weisiger RA. & Fridovich I, 1973). Se ha demostrado que en la pulpa dental, la isoforma Cu, Zn-SOD está presente en los fibroblastos y macrófagos, así como en la matriz extracelular. Se ha estudiado mucho acerca de la SOD en la inflamación pulpar con resultados muy contradictorios entre los diferentes autores. Además, el muestreo del tejido (diferencias entre edades) y los métodos utilizados para la evaluación de la actividad SOD son muy diferentes.

Baumgardner K.R. & Sulfaro M.A., 2001, comprobaron que la administración de hrCuZn-SOD no eliminó completamente la inflamación en todos los animales tratados, pero hubo una disminución estadísticamente significativa de la gravedad de la respuesta inflamatoria, así como un mayor grado de dentina reparadora. De acuerdo con todo lo expuesto en los puntos anteriores, proponen que la suplementación exógena de hrCuZn-SOD parece promover un entorno dentro de la pulpa en el que el reemplazo de odontoblastos podría desarrollar y depositar dentina reparadora bajo una respuesta inflamatoria mínima, en comparación con los controles tratados con solución salina. El concepto de un estado pro-oxidante, los anteriores estudios de las pulpas inflamadas han demostrado un aumento de la tinción inmunorreactivas a los anticuerpos contra SOD, así como una mayor actividad de la enzima SOD funcional en comparación con los controles de celulosa no inflamadas. El aumento de inmunoreactividad de SOD se ha demostrado, in situ, que se producen en células de la pulpa residentes que rodean un área inflamada y puede ser una respuesta compensatoria a la aumento del estrés oxidativo inducido por la inflamación.

Varvara y col, 2005, estudian de nuevo CuZn-SOD, pero mediante métodos espectrofotométricos comparando pulpas sanas e inflamadas (pulpitis sintomática irreversible diagnosticadas clínica y radiográficamente), teniendo en cuenta la edad del sujeto. Con respecto a la edad no obtuvieron resultados significativamente diferentes, aunque debido al diseño del estudio, los mismos autores reconocen la invalidez de estos resultados y la necesidad de más y mejores diseños de estudios. Los resultados demuestran un descenso de la actividad de la CuZn-SOD en el tejido pulpar inflamado con respecto al control sano. Durante la inflamación producida por

la infección bacteriana, la actividad de los macrófagos está presente en el tejido de la pulpa, así como en otros tejidos (Forman H.J. & Torres M, 2001). Además, tales células son capaces de liberar H_2O_2 al medio ambiente extracelular (Babior B.M. 1984).

Un aumento de la actividad de Zn-SOD Cu visto por Davis W.L. y col., 1991 demuestran que habría por lo tanto un sistema de defensa activo presente durante los procesos inflamatorios en el tejido de pulpa dental (Roos D. y col., 1980; Esposito y col., 2003), como en otros tejidos del cuerpo (Babior BM., 1984; Forman Hj. & Torres M., 2001). Sin embargo, la actividad Zn-SOD Cu disminuyó en los tejidos pulpitis sintomáticas investigados por Varvara G y col, 2005. La reducción de esta actividad en el tejido pulpitis irreversible, por lo tanto, podría ser atribuido a la progresión de la inflamación que podría dar lugar a un agotamiento o destrucción de esta enzima, aunque la pulpa del diente sigue siendo vital. En efecto, Spoto G y col., 2001, demostraron una actividad de aspartato aminotransferasa (AST) significativamente menor en el tejido con pulpitis irreversible, en comparación con el tejido de la pulpa sana, y estos autores explicaron sus resultados a través de una extensa destrucción de AST debido a la inflamación. Un resultado similar se encontró para la actividad de la catalasa, en los que es de interés que el tejido con pulpitis reversible, tenía la mayor actividad catalasa, en comparación con el tejido pulpitis irreversible, lo que muestra la capacidad de recuperar (Esposito y col., 2003).

Por lo tanto, es concebible que la actividad de las enzimas tales como el Cu, Zn-SOD, catalasa... depende del grado de progresión de la pulpitis.

Sin embargo, hay una aparente inconsistencia de estos datos en comparación con los de la Tulunoglu O. y col. 1988. Posiblemente, los diferentes procedimientos analíticos utilizados pueden explicar los diferentes resultados y, de hecho, Tulunoglu O. y col, estudiaron la actividad total de SOD. Este contraste sería, por lo tanto, muestra de que puede haber diferentes funciones para cada isoforma SOD en el tejido de pulpa dental durante el proceso de la inflamación, un concepto que queda por dilucidar plenamente en estudios adicionales.

Un paso más allá, es determinar los niveles de expresión de ARN mensajero (mARN) de la superóxido dismutasa cobre-zin y SOD manganeso (Mn-SOD) en pulpa dental sana e inflamada. Así podemos evitar errores en el método de los estudios anteriores, como por ejemplo las variaciones del Ph, que pueden inducir a error. Bödör C. y col., 2007, para una mayor sensibilidad, utiliza la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa a tiempo real (QRT-PCR), comparando pulpa sana e inflamada. El estudio concluye que el desarrollo de la pulpitis se asoció con una elevada transcripción tanto de Cu, Zn-SOD y Mn-SOD y parecen confirmar el concepto del potencialmente diferente papel de cada isoenzima SOD durante la inflamación pulpar, sin embargo, esta cuestión debe aclararse más.

Aunque, las observaciones basadas a nivel de ARN no siempre son directamente comparables con las observaciones sobre la base de los niveles de proteína, tales como la medición de la actividad enzimática o inmunorreactividad, estos resultados están de acuerdo con estudios previos y son coherentes. Aunque ambas isoenzimas de SOD, la citoplasmática Cu-Zn-SOD y la mitocondrial Mn-SOD están implicadas, hay una significativamente mayor expresión de Mn-SOD en comparación con el Cu-Zn-SOD. La diferente expresión de estas dos isoenzimas puede ser una característica única de la inflamación de la pulpa dental.

RELEVANCIA DE LA DIETA EN EL ESTRÉS OXIDATIVO DE LA PULPA DENTAL.

Aunque la pulpa dental es una fuente potencial de ROS, hay poca información sobre si existe una regulación del sistema antioxidante enzimático por los compuestos presentes en la dieta.

Varios parámetros enzimáticos y no enzimáticos del sistema antioxidante del tejido de la pulpa dental han sido estudiados bajo diferentes condiciones biológicas (Leite M.F. y col, 2012; Tulunoglu O. y col, 1998; Esposito P. y col, 2003). Leite MF. en 2012 analiza la función antioxidante en la pulpa dental de la astaxantina (ASTA) y el aceite de pescado. Se observa que el tratamiento con moléculas antioxidantes, particularmente ASTA y sus derivados, mejoran las propiedades reológicas de la sangre; además, ASTA presenta propiedades anti-inflamatorias y la eficacia potencial en la configuración de la isquemia-reperfusión. Por tanto, la administración preventiva de ASTA y aceite de pescado podría evitar las enfermedades microvasculares de la pulpa dental relacionadas con el trauma y enfermedad inflamatoria, debido a su confirmada acción antioxidante.

El estrés oxidativo observado en casos de pulpitis irreversible, también, se podría reducir mediante la administración de ASTA y aceite de pescado. A su vez, una dieta rica en aceite de pescado reduce la producción de mediadores de la inflamación y la acumulación de células inmunes por la disminución de la adhesión de los linfocitos y macrófagos a las células endoteliales, que juegan un papel activo en la caries dental. Leite MF y col. concluyen que se necesitan más estudios para

considerar el efecto profiláctico de agentes antioxidantes en el tejido pulpar de los seres humanos. Cabe decir que, también sería interesante evaluar el efecto terapéutico de estos elementos en los casos de trastorno de pulpa.

RESTAURACIONES CON RESINAS COMPUESTAS Y ESTRÉS OXIDATIVO.

Las resinas compuestas dentales son biomateriales usados comúnmente para restaurar estéticamente la estructura y función de los dientes deteriorados a causa de la caries, la erosión, o la fractura. Como resultado del proceso de polimerización incompleto se liberan monómeros residuales, como dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA) o metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA). Estos monómeros son citotóxicos a través de la apoptosis, de la inducción de efectos genotóxicos, y de retrasar el ciclo celular; también, influyen en la respuesta de las células del sistema inmune innato, inhiben las funciones específicas de los odontoblastos, o retrasan la diferenciación odontogénica y los procesos de mineralización en células derivadas de pulpa, incluyendo las células madre. Estas observaciones indican que los monómeros de resina actúan como factores de estrés ambiental que perturban inevitablemente las redes celulares reguladoras a través de la interferencia de las vías de transducción de señales. Los resultados actuales sugieren que los monómeros aumentan la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS).

Hoy día, en el mercado encontramos diferentes materiales resinosos, por ejemplo, adhesivos, fluidos, convencionales, reforzados con fibra o cemento de resina. Su aplicación terapéutica depende de la profundidad, el tamaño, y la ubicación del defecto a tratar.

La composición química, básica, de las resinas compuestas incluyen partículas de carga inorgánica (cuarzo, cerámica o Silicia), y aditivos que se

incorporan a una mezcla de una matriz de resina orgánica. Dicha matriz esta basada en la química metacrilato entre otros, contiene monómeros principales fuertemente viscosos como 2,2-bis [4 - (2-hidroxi-3-methacrylyoxy-propoxi) fenil] propano (Bis-GMA) o dimetacrilato de uretano (UDMA), así como monómeros diluyentes tales como metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) o el comonómero dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA).

Las propiedades físicas y químicas, así como el rendimiento clínico de materiales compuestos dependen de polimerización adecuada de monómeros de resina. Dado que la conversión de monómero a polímero nunca es completa, las propiedades mecánicas y el rendimiento al desgaste de los materiales compuestos puede disminuir en una situación clínica. Por otra parte, un bajo grado de conversión conduce a la liberación de monómeros residuales no consolidados en el entorno oral y deja compuestos susceptibles a la biodegradación. Por esta razón, los materiales compuestos dentales son una fuente duradera de compuestos bioactivos tanto a corto como a largo plazo.

FUNCIONES DE LAS ENZIMAS ANTIÓXIDANTES EN CÉLULAS EXPUESTAS A TEGMA Y HEMA:

El glutati6n (GSH), un trip6ptido sintetizado a partir de glicina, ciste6ina y glutamato, es la regulaci6n redox tiol no enzim6tico m6s importante disponible en las c6lulas. La funci6n antioxidante de GSH es debido a la oxidaci6n del grupo sulfhidrilo

(-SH) en los residuos de cisteína y tiene la única función de mantener el estado de tiol esencial de las proteínas por eliminación directa de ROS, y actuando como un sustrato de la glutatión peroxidasa (GPx), que cataliza la reducción de H_2O_2 .

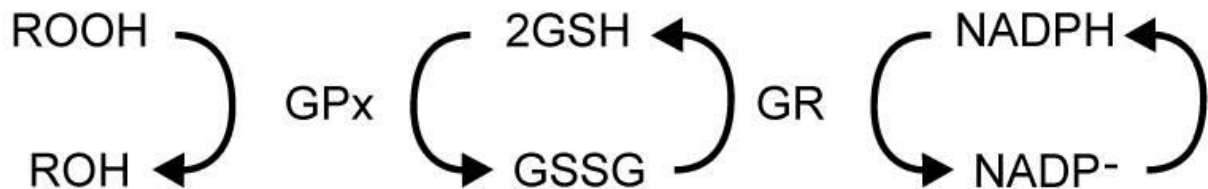


Figura 5. *Ensayo de la actividad glutatión peroxidasa. El ensayo es un GPx, ensayo acoplado indirecta para el glutatión peroxidasa. Este ensayo se aprovecha de la glutatión disulfuro de (GSSG) formado por la acción enzimática de GPx y se regenera por un exceso de glutatión reductasa (GR). La acción de GR se controló siguiendo la desaparición de la NADPH co-sustrato. (Weydert CJ.)*

Durante la homeostasis redox normal, la relación entre GSH y su forma oxidada GSSG (glutatión disulfuro) en las células es del orden de 100:1, mantenida por la reacción de glutatión reductasa, en el que la NADPH sirve como sustrato (Fig. 5). El estrés oxidativo conduce a un cambio cuantitativo en GSH a las relaciones de GSSG y eleva el potencial redox celular, a un nivel más oxidado, que puede apoyar la supervivencia y la diferenciación celular (cambio redox leve), o tener consecuencias desfavorables generales sobre el metabolismo celular.

En particular, la cantidad intracelular de GSH se redujo en las células expuestas a HEMA o TEGDMA, mientras que no se detectó un aumento en GSSG.

Esta disminución de GSH en cultivos celulares expuestos a monómero se asoció con el aumento de la formación de ROS y los fenómenos tales como la muerte celular a través de la apoptosis, la proliferación celular retardada, o los procesos de mineralización, a pesar de una relación causal entre la producción de ROS y los hechos observables sigue siendo poco clara. Se discutieron dos hipótesis plausibles sobre la formación de ROS en base a la naturaleza química de GSH y metacrilato. Es posible que ROS se producen durante el metabolismo de monómeros de resina o como resultado de sus efectos sobre la actividad de las enzimas que producen ROS. Alternativamente, ROS puede ser producido secundariamente debido a agotamiento de GSH intracelular a través de la formación de aductos de GSH-monómero (aductos: en química, es un producto AB formado por la unión directa de dos moléculas A y B, sin que se produzcan cambios estructurales, en su topología, en las porciones A y B).

FUNCIÓN DEL GLUTATIÓN EN CÉLULAS EXPUESTAS A MONÓMEROS TEGMA Y HEMA:

En el primer paso proceso de degradación de de ROS, la superóxido dismutasa (SOD1) elimina $O_2^{\cdot -}$ por la degradación en $H_2O_2 + O_2$. Glutación peroxidasa (GPx), peroxirredoxinas (Prx), y la catalasa a continuación, descomponer el aumento del nivel de H_2O_2 en agua, en cuyo punto GPx utiliza GSH, como un agente reductor. El glutatió disulfuro (GSSG), la forma oxidada del glutatió, es a su vez restaurada a su estado reducido por el gasto de NADPH a través de la actividad de la glutatió reductasa selectiva. En vista del análisis de las respuestas

celulares inducidas por los monómeros residuales de la resina dental, presumiblemente basado en el estrés oxidativo y la regulación redox, el papel de contenido de GSH y la síntesis, en particular, se consideran objetivos factibles. Por otra parte, la vía de GSH puede ser relevante para la intervención clínica. En este sentido, la importancia del glutatión se puede analizar mediante la reducción de concentración de sustancias como L-butionina sulfoximina (BSO), que inhibe selectivamente la enzima primera etapa de la síntesis de GSH. Por otro lado, los precursores del aminoácido cisteína como 2-oxotiazolidina-4-carboxilato (OTC) o N-acetil cisteína (NAC) deben alimentar la síntesis de GSH en condiciones de estrés.

Así, se hizo evidente que la concentración intracelular de glutatión dirige la expresión de antioxidantes enzimáticos como una respuesta adaptativa de las células expuestas a monómeros como el HEMA. Parece que una disminución de expresión de GPx en presencia del monómero de la resina es un resultado de agotamiento de GSH, casi con toda seguridad causada por la formación de aductos de GSH con el monómero. La regulación a la baja de GPx reduce la resistencia de las células al estrés oxidativo. Obviamente, la cantidad intracelular de ROS estaba todavía por debajo del umbral necesario para inducir la expresión de catalasa en estas condiciones, se ha sugerido previamente que GPx era activo en la degradación de H₂O₂ a bajas concentraciones, mientras que la expresión de catalasa fue inducida por altas concentraciones de ROS. El agotamiento de GSH en los cultivos celulares tratados con monómero probablemente aumenta los niveles de ROS más allá de las capacidades de la tríada SOD1, GPx, y GSH, y como resultado conduce a una mayor expresión de la catalasa como una respuesta adaptativa hacia el estrés oxidativo inducido por HEMA. La fuerte inducción de la expresión de

catalasa también implica que el peróxido de hidrógeno sea la especie predominante ROS producidos en la presencia de HEMA.

Una alta carga de especies reactivas de oxígeno fue obviamente inducida en células expuestas a HEMA ya que la expresión inducible por respuesta al estrés de la hemo oxigenasa (HO-1) aumentó. Aunque no directamente relacionado con el metabolismo de ROS, la sensible redox de la HO-1 participa en la defensa antioxidante por la degradación hemo, un grupo prostético estable en hemoproteínas, lo que resulta en la generación del antioxidante bilirrubina a través de la biliverdina y en una reacción dependiente de NADPH.

En la Fig. 6. se observa un modelo de expresión de las enzimas antioxidantes como respuesta celular adaptativa al estrés oxidativo inducido por el monómero residual de la resina. Los resultados actuales sugieren que el GSH es el antioxidante primario central. Además, parece que incluso las pequeñas variaciones en la homeostasis redox pueden influir en las funciones celulares (Krifka S. y col., 2013).

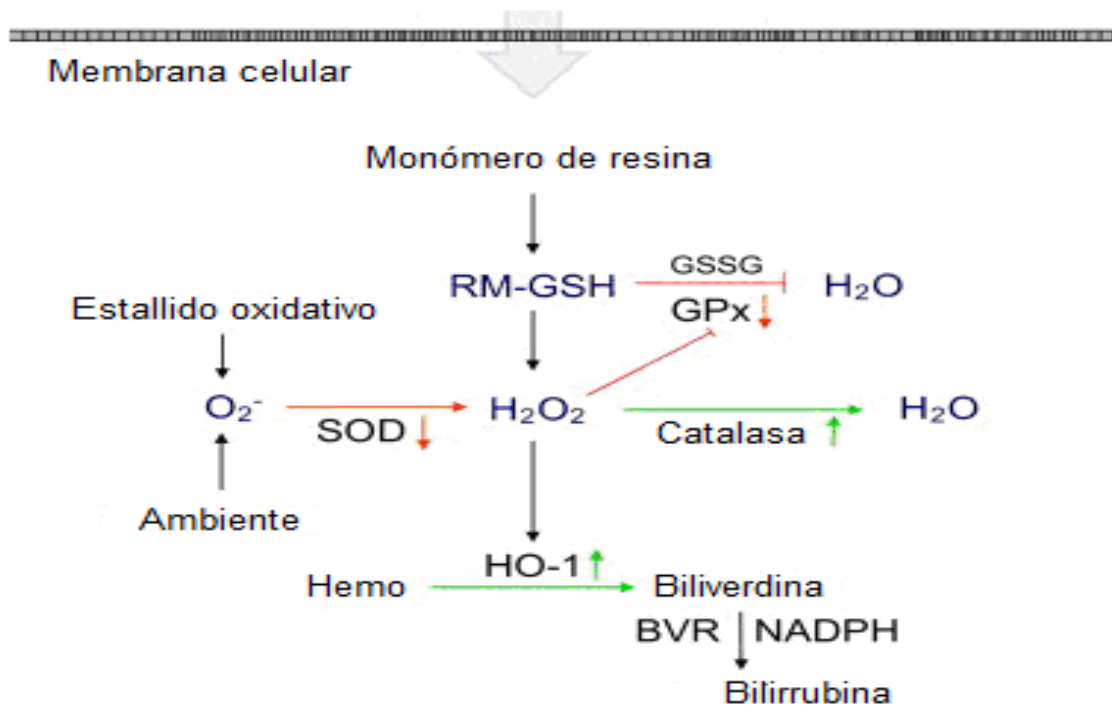


Figura 6. Regulación redox adaptativa en las células expuestas a monómeros de resina dental. Los resultados actuales sugieren que HEMA, como representante de RM (monómero de la resina), se une a glutatión (GSH), resultando en una disminución en los niveles de GSH, lo que hace que la regulación negativa de la expresión de la glutatión peroxidasa (GPx). Como consecuencia de ello, el aumento de formación de H_2O_2 que conduce a la inducción de la catalasa y una inhibición de la retroalimentación de la expresión de superóxido dismutasa (SOD). El aumento del estrés oxidativo aumenta la expresión de hemo oxigenasa (HO-1), que cataliza la formación de biliverdina, y en última instancia resulta en la generación del antioxidante bilirrubina por la biliverdina reductasa (BVR).

APLICACIONES CLÍNICAS DE LA AFECTACIÓN DEL ESTRÉS

OXIDATIVO EN LA PULPA DENTAL.

Lee DS y col. de 2013, realiza un estudio sobre los efectos de la buteína en la pulpa dental. *Rhus Verniciflua* Stokes (Anacardiaceae) es una planta que es originaria de los países del este asiático, como Corea, China y Japón, y que se utiliza como colorante natural, aditivo alimentario, y en la medicina natural (Fig. 7). La buteína (3,4,2', 4'-tetrahidroxichalcona) un polifenol, es uno de los principales componentes activos de *R. verniciflua* que se pueden aislar.

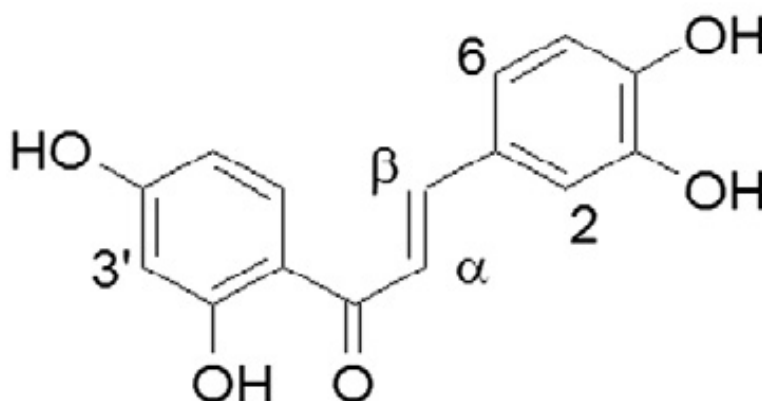


Figura 7. Estructura química de la Buteína.

En este estudio se concluye que la buteína se puede usar para prevenir la muerte celular y, por lo tanto, pueden ser útiles como un agente de la enfermedad pulpar. En presencia de Buteína la citotoxicidad de H_2O_2 y la producción de ROS fueron bloqueadas, estos efectos son dosis dependientes. Además, también se

aumento la expresión de la proteína hemo-oxigenasa-1 (HO-1) y la actividad de la hemo-oxigenasa.

También, se ha relacionado la luz azul de curado de las resina con la generación intracelular de ROS. Yoshino F. y col. indican que en la microcirculación pulpa dental se podría haber generado por irradiación con luz azul, especies reactivas de oxígeno (ROS) como H_2O_2 y $OH\cdot$. Sin embargo, los antioxidantes intracelulares y la fuente de GSH han impedido la apoptosis celular. Estos resultados, nos vuelven a sugerir la posibilidad de utilizar antioxidantes para proteger la pulpa dental del estrés oxidativo asociado con la generación de ROS en los tratamientos dentales que requieren repetida y / o múltiples tratamientos con irradiación de luz azul, tales como el blanqueamiento dental. Sin embargo, la fuente de luz que se utiliza actualmente en la práctica clínica dental es no sólo QHT, sino también LED. Se necesitan más estudios para dilucidar con mayor precisión los mecanismos de daño biológico del estrés oxidativo y los mecanismos de defensa de la pulpa dental cuando se utiliza la irradiación con luz azul, incluso la procedente de una fuente de luz LED o de otras irradiaciones (que van desde 400 hasta 3.000 mW/cm^2).

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Armstrong AW, Voyles SV, Armstrong EJ y col. *Angiogenesis and oxidative stress: common mechanisms linking psoriasis with atherosclerosis*. Journal of Dermatology Science. 2011; 63: 1–9.
2. Babior BM. *Oxidants by phagocytes: agents of defense and destruction*. Blood. 1984 Nov; 64(5):959-66.
3. Baumgardner K.R. y Sulfaro M.A. *The Anti-Inflammatory Effects of Human Recombinant Copper-Zinc Superoxide Dismutase on Pulp Inflammation*. Journal of Endodontics. 2001 Mar;27(3):190-5.
4. Bödör C, Matolcsy A, Bernath M. *Elevated expression of Cu, Zn-SOD and Mn-SOD mRNA in inflamed dental pulp tissue*. International Endodontic Journal 2007 Feb; 40(2):128-32.
5. Brock GR, Matthews JB, Butterworth CJ y col. *Local and systemic antioxidant capacity in periodontitis health*. Journal of Clinical Periodontology 2004 Jul;31(7):515-21.
6. Bullon P., J.M. Morillo, M.C. Ramirez-Tortosa y col. *Metabolic Syndrome and Periodontitis: Is Oxidative Stress a Common Link?*. Journal Dental Research 2009 Jun; 88 (6): 503-18.

7. Chapple IL & Matthews JB. *The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction.* Periodontol 2000. 2007;43:160-232.
8. Davis WL, Jacoby BH, Craig KR, y col. *Copper–zinc superoxide dismutase activity in normal and inflamed human dental pulp tissue.* Journal of Endodontics 1991 Jul;17(7):316-8.
9. Esposito P , Varvara G , Murmura G y col. *Ability of healthy and inflamed human dental pulp to reduce hydrogen peroxide.* European Journal of Oral Science 2003; 111, 454–6.
10. Forman HJ y Torres M. *Redox signaling in macrophages.* Molecular Aspects of Medicine 2001 Aug-Oct;22(4-5):189-216.
11. Gómez De Ferraris M^ªE y Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental.* Madrid: Médica Panamericana; 2002.
12. Grossman L. *Práctica Endodóntica.* 3^o edición. Editorial Mundi. Buenos Aires. Cap 2. 1973.
13. Hahn CL y Liewehr FR. *Innate immune responses of the dental pulp to caries.* Journal of Endodontics 2007;33:643–651

14. Halliwell B. *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease*. The American journal of medicine 1991 Sep 30;91(3C):14S-22S.
15. Hargreaves K.H. y Cohen S. *Vias de la pulpa*. Barcelona: Elsevier España; 2011.
16. Jontell M, Bergenholtz G, Scheytnius A y col. *Dendritic cells and macrophages expressing class II antigens in the normal rat incisor pulp*. Journal of Dental Research 1988;67: 1263-1266.
17. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G y col. *A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers*. Biomaterials. 2013 Jun; 34(19):4555-63.
18. Miyawaki H, Takahashi J, Tsukahara H y col. *Effects of astaxanthin on human blood rheology*. Journal of Clinical Biochemistry Nutritional 2008 Sep;43(2):69-74.
19. Lee DS, Li B, Kim KS y col. *Butein protects human dental pulp cells from hydrogen peroxide-induced oxidative toxicity via Nrf2 pathway-dependent heme oxygenase-1 expressions*. Toxicology In Vitro.2013 Mar;27(2):874-81.

20. Lee SK, Min KS, Youngho-Kim y col. *Mechanical stress activates proinflammatory cytokines and antioxidant defense enzymes in human dental pulp cells.* Journal of Endodontics 2008 Nov; 34(11):1364-9.
21. Leite MF, Ganzerla E, Marques MM y col. *Diabetes induces metabolic alterations in dental pulp.* Journal of Endodontic 2008 Oct;34(10):1211-4.
22. Leite MF, Lima AM, Otton R. *Combination of astaxanthin and fish oil supplementation alters antioxidant enzyme profile of dental pulp tissue.* International Endodontic Journal. 2012 Dec; 45(12):1109-15.
23. Martín Jiménez, M. *Regeneración y revascularización pulpa.* Trabajo fin de máster, Facultad de Odontología, US. 2012.
24. McCord JM y Fridovich I. *Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein).* Journal of Biological Chemistry 1969 Nov 25;244(22):6049-55.
25. Nathan C, Cunnigham-Bussel Una. *Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species.* Nature Review. Immunology 2013 May; 13 (5) :349-61.
26. Roos D, Weening RS, Wyss SR y col. *Protection of human neutrophils by endogenous catalase: studies with cells from catalase-deficient individuals.* Journal of Clinical Investigations 1980 Jun; 65 (6) :1515-22.

27. Seltzer S y Bender I. *Pulpa Dental*. 3^o edición. Editorial El Manual Moderno S.A. México. Cap 17. 1987.
28. Shi S, Robey PG, Gronthos S. *Comparison of human dental pulp and bone marrow stromal stem cells by cDNA microarray analysis*. *Bone* 2001 Dec;29(6):532-9.
29. Sies H. *Oxidative stress: from basic research to clinical application*. *The American Journal of Medicine* 1991 Sep 30;91(3C):31S-38S.
30. Spoto G, Fioroni M, Rubini C y col. *Aspartate aminotransferase activity in human healthy and inflamed dental pulps*. *Journal of Endodontics* 2001 Jun; 27 (6) :394-5.
31. Staquet MJ, Carrouel F, Keller JF y col. *Pattern recognition receptors in pulp defense*. *Advances in Dental Research* 2011 Jul;23(3):296-301.
32. Torabinejad M. y Walton R. *Endodoncia, principios y práctica*. Barcelona: Elsevier España; 2010.
33. Tulunoglu O, Alacam A , Bastug M y col. *Superoxide dismutase activity in healthy and inflamed pulp tissues of permanent teeth in children*. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 1998 Summer;22(4):341-5.

34. Valko M, Leibfritz D, Moncol J y col. *Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease.* The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2007; 39, 44–84.
 35. Varvara G, Traini T, Esposito P y col. *Copper-zinc superoxide dismutase activity in healthy and inflamed human dental pulp.* International Endodontic Journal 2005 Mar, 38 (3) :195-9.
 36. Weisiger RA y Fridovich I. *Mitochondrial superoxide dimutase. Site of synthesis and intramitochondrial localization.* Journal of Biological Chemistry 1973 Jul 10;248(13):4793-6.
 37. Weydert CJ y Cullen JJ. *Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue.* Nature Protocols 2010 Jan;5(1):51-66.
 38. Yoshino F, Yoshida A, Okada E y col. *Dental resin curing blue light induced oxidative stress with reactive oxygen species production.* Journal of Photochemistry and Photobiology B 2012 Sep 3;114:73-8.
 39. Zachrisson B.U. *Mast cells in human dental pulp.* Archives of Oral Biology 1971 May; 16 (5) :555-6.
-