



FACULTAD ODONTOLÓGIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA

Trabajo Fin de Máster

PAPEL DEL ESTRÉS ÓXIDATIVO
EN LA PERIODONTITIS Y DIABETES TIPO 2

AUTOR: J. DAMIÁN ÁLVAREZ PÉREZ

TUTOR: PROF. PEDRO BULLÓN



Prof. Dr. D. Pedro Bullón Fernández

Departamento de Estomatología
Universidad de Sevilla

HACE CONSTAR que D. J. Damián Álvarez Pérez, ha realizado bajo su tutela y dirección el trabajo titulado “PAPEL DEL ESTRÉS ÓXIDATIVO EN LA PERIODONTITIS Y DIABETES TIPO 2”, como trabajo fin de Máster.

Sevilla, tres de Noviembre de 2016

Firmado: Pedro Bullón Fernández

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en especial a los Profesores Bullón, Martínez-Sauquillo y Velasco por su comprensión y ayuda en éstos meses de mi regreso a la vida Académica Universitaria.

TFM

PAPEL DEL ESTRÉS ÓXIDATIVO EN LA PERIODONTITIS Y DIABETES TIPO 2

Autor : J. Damián Álvarez Pérez

Tutor : Prof. Pedro Bullón

Facultad Odontología Universidad de Sevilla

Finalizado en Huelva, tres de Noviembre 2015

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5- 29
Fisiopatología de la PERIODONTITIS crónica	
Fisiopatología en Diabetes tipo 2	
Fisiología del Estrés Óxidativo	
Regulación por genes y proteínas	
Definición Estrés Óxidativo	
Etiología y factores desestabilizadores en Estrés Óxidativo	
Fundamentos biológicos de FR/ROS en el Estrés Óxidativo celular.	
Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)	
JUSTIFICACIÓN TRABAJO	30
OBJETIVOS	31
MATERIAL MÉTODO	32
RESULTADOS-DISCUSIÓN	33-59
Introducción	
Sistema Super Óxido Dismutasa	
Papel primordial de PMN	
Sistema NAPDH y NAD ⁺	
Oxidasas de la NADPH y células del ENDOTELIO vascular	
AGEs	
Función Mitocondrial	
Puntos en común E.O. Periodontitis-diabetes2.	
CONCLUSIONES	60
ABREVIATURAS	61-62
TABLAS Y ALGORITMOS	63-64
BIBLIOGRAFÍA	65-73

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la PERIODONTITIS crónica es una de las principales patologías bucales que afectan a la población mundial, presentando altas tasas de prevalencia (1). Se trata de un grupo de enfermedades infecciosas de etiología multifactorial, causada por microorganismos que afectan al periodonto, es decir, a los tejidos que sostienen los dientes. Recientemente (2) en el Workshop de 2013, la Periodontitis ha sido relacionada con otras patologías sistémicas, siendo la diabetes tipo 2, una de éstas enfermedades.

En relación con la diabetes, sabemos que la glucosa es la fuente de energía principal, obtenida de los Carbohidratos de la dieta y utilizado por el cuerpo para proporcionar energía celular. La proteína que está encargada de regular la glucemia, es la insulina, hormona secretada por el páncreas, fundamental para la regulación de metabolismo de carbohidratos y grasas del organismo, a nivel celular. La insulina hace que las células en el hígado, el músculo y el tejido graso, puedan asimilar la glucosa de la sangre y almacenarla como glucógeno en el hígado y el músculo. Y la PERIODONTITIS suele asociarse en muchísimos casos (3) siendo algunos procesos en los que se puede instaurar el Estrés ÓXIDATIVO, determinando en algunos casos una mayor gravedad (4) en la patología inflamatoria de ambas enfermedades.

En todos los procesos homeostáticos del metabolismo celular, juega un equilibrio muy importante los oxidantes y antioxidantes, junto a determinadas células del sistema, como son los leucocitos PMN (polimorfos nucleares), monocitos y macrófagos (5) pudiendo controlar dichas células, el equilibrio homeostático de ambas enfermedades, periodontitis crónica y diabetes tipo 2.

Y aunque es posible encontrarse ambas patologías de forma independiente, lo habitual es, que dichas enfermedades coexistan o una conlleve a la otra, ya que los patrones de fisiología y patogenia puedan ser muy similares, a nivel intracelular aunque se lleguen a los mismos por diferentes rutas, en especial, en la PERIODONTITIS crónica por una ruta microbiológica-inmunológica; y en el caso de diabetes por una ruta metabólica.

Es por ello que el ESTADO ÓXIDATIVO celular y los radicales libres ha tomado mucha importancia en el ámbito de ciertas enfermedades crónicas, como arteriosclerosis, diabetes, ciertas neuropatías, enfermedad periodontal etc. (6).

En éste trabajo vamos a Inter-relacionar periodontitis-diabetes y estrés Óxidativo.

El estrés Óxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies Reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de eliminar los reactivos intermedios o reparar el daño resultante (7).

La regulación de los procesos reactivos es llevado a cabo por Enzimas que establecen un equilibrio constante en todas las reacciones químicas y controlan el equilibrio oxidantes /antioxidantes, regulando los Radicales libres y Peróxidos, que dañan a los componentes como proteínas, lípidos, ADN, alterando las reacciones enzimáticas, componentes de las membranas celulares, receptores proteicos de membrana y dañando el centro energético mitocondrial (8), y su cadena de transporte de electrones y protones.

Al mismo tiempo las especies reactivas de oxígeno pueden resultar beneficiosas ya que son utilizadas por el sistema inmunitario como un medio para a través de los macrófagos, neutralizar gérmenes patógenos (9).

Los máximos representantes del estrés Óxidativo, son los Radicales Libres y las Especies Reactivas del Oxígeno (ROS), representados por el anión Superóxido y el Radical Hidroxilo, O_2^- , HO, respectivamente.

Otra fuente de formación de radicales libres, es la actividad celular fagocitaria, puesta en marcha por el mecanismo defensivo contra los gérmenes, llevada a cabo por los PMN, células plasmáticas y Monocitos, todas capaces de formar anión superóxido, hidroperóxido, peroxinitritos, hipoclorito, especialmente relacionado en nuestro tema tratado en la relación diabetes-periodontitis.

Otra fuente de formación es la reacción Xantina oxidada / Xantina deshidrogenasa y otra, es en el metabolismo del ácido Araquidónico, por la auto-oxidación de Catecolaminas y diversos Xenobióticos como la Adriamicina, que forman anión Superóxido.

También en la función mitocondrial y a través del sistema de producción de energía celular, con la formación de (ATP), a nivel del complejo transportador de electrones se generan anión Superóxido y radicales Hidroxilos (9), siendo ésta formación la que ha cobrado gran importancia en el equilibrio constante entre oxidantes/antioxidantes.

FISIOPATOLOGÍA DE LA PERIODONTITIS CRÓNICA

Introducción PERIODONTITIS

Actualmente, la enfermedad periodontal es una de las principales patologías bucales que afectan a la población mundial, presentando altas tasas de prevalencia (1) .Se trata de un grupo de enfermedades infecciosas de etiología multifactorial, causada por microorganismos que afectan al periodonto, es decir, a los tejidos que sostienen los dientes. Dependiendo de la superficie que se encuentre afectada diferenciamos dos grandes grupos de enfermedades periodontales, la gingivitis y la periodontitis.

Los métodos de investigación y de referencias para el estudio de las enfermedades periodontales están recogidos y definidos desde hace tiempo (9,10), pero es de especial relevancia el haber introducido el CPITN respaldado por la Organización Mundial de la Salud (11), que más tarde cambió el nombre del índice periodontal comunitario CPI .

La metodología CPITN fue adoptado rápidamente, y desde entonces los estudios epidemiológicos se informan a través del CPITN, en casi todos los países .Todos éstos estudios han sido recogidos por el Programa de Salud Bucodental Organización Mundial de la Salud desde 1980, y están disponibles en (12).

Los datos de prevalencia de enfermedad periodontal podemos observar que estos son realmente alertantes. Particularmente en España, encontramos que entre el 85-94% de la población mayor de 35 años presenta algún problema relacionado con las encías y entre el 16-30% de los españoles mayores de 35 años tiene periodontitis, alcanzando el grado de severa en el 5-11% de la población adulta. A pesar de que entre los años 1993-2010 se observa una reducción de la periodontitis en un 67% en adultos entre 35 y 44 años y de un 47% en los mayores de 67 y de que en estos 17 años la periodontitis severa se ha reducido a la mitad, seguimos observando datos demasiado altos .(13).

A nivel internacional, encontramos que en EEUU, según la American Academy of periodontology (AAP), un 47,2% de la población tiene periodontitis, de la cual un 8.7% es leve, un 30% moderada y un 8,5% severa, lo cual equivaldría a un total de 64,7 millones de adultos estadounidenses mayores de 30 años con periodontitis (14).

A nivel europeo, alrededor del 50% de la población sufre algún tipo de periodontitis, de los cuales, aproximadamente el 10% es severa (15).

Implicaciones clínicas de la Enfermedad Periodontal

La periodontitis y gingivitis son las formas más comunes de la enfermedad periodontal; estos trastornos son causados por la interrupción de los procesos homeostáticos normales por numerosas especies de bacterias que se encuentran en la placa dental subgingival y son modificados por factores ambientales y genéticos, y la propia susceptibilidad del huésped.

La gingivitis es una inflamación superficial de las encías y, aunque la gingivitis es muy frecuente, es un trastorno reversible de manera efectiva con el régimen de higiene oral personal. La periodontitis es una enfermedad inflamatoria que causa destrucción de las estructuras anatómicas que rodean y sostienen los dientes, a saber, la encía, el ligamento periodontal y el hueso alveolar.

Periodontitis, embarazo y otras patologías sistémicas

Si relacionamos la enfermedad periodontal con el embarazo, el parto prematuro y el bajo peso al nacer encontramos numerosos estudios actuales en los que se puede apreciar una gran relación. Está demostrado que el embarazo se asocia con un mayor riesgo de gingivitis (16) encontrando datos de prevalencia que varían entre el 25% y el 100%.

Durante este periodo, en el que encontramos un aumento de la actividad inflamatoria y unos niveles más altos de estrógenos y progesterona se pueden observar cambios a nivel de los tejidos periodontales (17). Es importante saber, que la inflamación e infección de la placenta puede provocar la ruptura prematura de las membranas y una contracción uterina, que a su vez, puede causar un parto prematuro, es decir, antes de las 37 semanas de gestación, el cual en España tiene una frecuencia estimada del 7,9%. Esta inflamación e infección también puede provocar un déficit en el transporte de nutrientes a la placenta que puede conllevar a un bajo peso al nacer, es decir, un peso inferior a 2.500 gramos, en España tiene una frecuencia estimada del 7,5%.

Existen múltiples referencias en las que se relaciona un vínculo entre las infecciones de la boca y un resultado desfavorable del embarazo, esta evidencia es cada vez mayor y sugiere que la gingivitis y la periodontitis materna pueden ser un factor de riesgo de parto prematuro y otros resultados adversos del embarazo (18).

En la actualidad, cada vez con más frecuencia se relaciona la enfermedad periodontal con diferentes enfermedades sistémicas, entre las que destacan la enfermedad cardiovascular y cerebro-vascular, la aterosclerosis y la diabetes mellitus, todas éstas implicadas con el E.O. celular.

Sin embargo, a pesar del gran número de estudios, actualmente no existen datos suficientes para confirmar una relación directa y puede ser el E. O. el vínculo en común en estas dos enfermedades.

La aterosclerosis, enfermedad cardiovascular y cerebro-vascular son lesiones que incluyen un componente inflamatorio y que representan una serie de respuestas celulares y moleculares altamente específicas. Su relación no debe atribuirse a los factores de riesgo que comparten, como son edad, tabaco, sexo, estrés, estatus socioeconómico, diabetes y obesidad. Por tanto, se considera que existe una relación lineal entre ambas enfermedades, puesto que al aumentar la severidad de la periodontitis, aumenta la probabilidad de presentar enfermedad cardiovascular. En la revisión de las últimas Guías de la Sociedad

Europea de Cardiología (ESC) para la prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica, se ha incluido la periodontitis como factor de riesgo cardiovascular (19).

Además de esta afirmación, existen múltiples estudios disponibles que sugieren con firmeza una asociación aceptable desde el punto de vista biológico y la patogenia de la enfermedad cardiovascular, y sobre todo relacionando poblaciones específicas con mayor destrucción de tejidos periodontales, mostrando diferencias en la Prevalencia y gravedad (20).

Además de resaltar estas dos patologías, existen muchas más en las que se está estudiando una posible relación con la enfermedad periodontal, entre las que podemos destacar por ejemplo la obesidad, sobre la que encontramos numerosos estudios epidemiológicos que sugieren una asociación entre ella y la enfermedad periodontal, afirmando que un índice de masa corporal más alto podría ser un factor de riesgo potencial para la periodontitis en adultos de entre 18 y 24 años(21), ya que esta implica la prevalencia de un estado hiperinflamatorio, de un metabolismo aberrante de los lípidos y una resistencia a la insulina, factores que podrían determinar un aumento de la destrucción del sostén periodontal.

También existen estudios que relacionan la osteopenia u osteoporosis con la enfermedad periodontal, ya que sugieren que las mujeres postmenopáusicas con baja densidad de mineral en los huesos tienen mayores probabilidades de padecer pérdida de inserción clínica, retracción gingival o inflamación gingival muy pronunciada, por ello, los médicos deben ser conscientes de que, incluso entre las mujeres mayores con baja frecuencia de los principales factores de riesgo y las buenas prácticas de higiene oral, ciertos subgrupos, puede estar en riesgo de una pérdida de hueso alveolar acelerada(22).

Placa dental y biofilm (biocapas)

La placa dental o Biofilm constituye un entramado de biocapas de evolución constante y con gran dinamismo en su colonización por bacterias, estando dichas biocapas

sujetas a cambios en su composición y dependiendo del estado inmune del huésped en determinados momentos (23).

Las bacterias causan la destrucción del tejido “in situ“, por los productos tóxicos liberados directamente por las células defensivas e indirectamente mediante la activación de los sistemas de defensa del huésped que ponen en marcha la respuesta inflamatoria.

Patógenos habituales

Dentro de los microorganismos con evidencia fuerte encontramos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, es una de las asociaciones más claras entre un patógeno considerado sospechoso y la enfermedad periodontal destructiva. Es un bacilo gran negativo presente en aproximadamente el 95% de las lesiones periodontales en pacientes con periodontitis agresiva localizada, además de encontrarse también en porcentajes altos en las demás patologías.

Porphyromonas gingivalis es el segundo patógeno periodontal, es una bacteria anaeróbica gran negativa, que pertenece al grupo de los “Bacteroides de pigmentación negra”, su virulencia se atribuye a sus diversos componentes de la superficie, tales como fimbrias, lipopolisacáridos y proteasas, este microorganismo se encuentra con frecuencia en pacientes con enfermedad periodontal, pero también se ha observado, aunque en menor medida, en pacientes periodontalmente sanos (3). En los últimos años, se han realizado estudios para evaluar la relación entre los diferentes genotipos de *P. gingivalis* y patogénesis periodontal, el genotipo II resulta ser el más prevalente en pacientes periodontales y está asociado con las formas más agresivas de la enfermedad.

Existe una relación positiva fuerte con la profundidad de la bolsa periodontal, además, la presencia de dicho microorganismo indica un riesgo aumentado de pérdida ósea y de pérdida de nivel de inserción.

Tannerella forsythia y *Treponema Denticola* son dos patógeno periodontales, bacilos gran negativo anaerobio fusiforme muy pleomorfos y difícil de cultivar, debido a que requiere entre 7 y 14 días para la formación de colonias diminutas. Se hallaron cantidades mayores en sitios de enfermedad periodontal destructiva o en abscesos periodontales que en sitios con gingivitis o sanos. Se considera el factor de riesgo microbiano más significativo para distinguir individuos con periodontitis de los individuos con salud periodontal.

Dentro de los patógenos periodontales de evidencia moderada encontramos:

Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens, es un bacilo gran negativo anaerobio, y es el segundo bacteroide de pigmentación negra de mayor interés. Está implicada en la etiología de la gingivitis ulceronecrosante, en ciertas formas de periodontitis, en sitios de progresión de la periodontitis crónica y en los espacios intercelulares en biopsias de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis agresiva.

Campylobacter Rectus, es un vibrión móvil gran negativo anaerobio, participa en la iniciación de la periodontitis y es abundante en dentición primaria, mixta y permanente en niños y se observa una menos cantidad de ellos tras finalizar el tratamiento periodontal exitoso.

Fusobacterium nucleatum, es un bacilo gran negativo fusiforme anaerobio, prevalece en individuos con periodontitis y abscesos periodontales y también disminuye tras el tratamiento periodontal, su principal función en el ecosistema subgingival es que facilita la coagregación entre especies. Dentro de este grupo también destacan *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium nodatum*, *Staphylococcus intermedius*, *Treponema denticola* y espiroquetas.

Y por último, los microorganismos de evidencia inicial son: *Eikenella orrodens*, bacilos entéricos, *Pseudomonas*, *Selenomonas*, *Staphylococos* y hongos.

Citoquinas y factor susceptibilidad

La Homeostasis y relación con otras inflamaciones crónicas sistémicas(20) junto a los Factores genéticos , ambientales que influyen en la respuesta inmunoinflamatoria, y sin poder separar el factor de susceptibilidad del huésped (21,22), intervienen modulando o agravando la respuesta inflamatoria, puesta en marcha por los productos tóxicos (toxinas de bacterias) o componentes de liberación de los PMNs en la llamada de defensa, con la liberación de determinadas citoquinas Inflamatorias (23), y liberación de péptidos antimicrobianos también por los Neutrófilos con la formación de trampas (NET), y alteración de los componentes proteicos en las membrana celulares por los TLR, con la activación de señales intracelulares(nfK...)y puesta en marcha del sistema RANKL y destrucción por osteoclastos y disregulación en la Osteoprotegerina (OPG) (24).

Metaloproteinasas de la matriz MMPs, producidas por numerosas células que liberan endoproteasas y destruyen la matriz extra celular.

Comprenden unas **23 MMPs** en el hombre que comprenden una superfamilia estructuralmente relacionado pero genéticamente distintos de endoproteasas dependientes de zinc. MMPs se clasifican de acuerdo a su principal sustrato percibida pero ahora está claro que MMPs tener actividades enzimáticas complejas y superpuestas y voluntad de digerir una amplia variedad de péptidos, que se encuentra en un número de sustratos de proteína y pocos de los cuales son dianas únicas para algunas de las MMPs.

MMPs son sintetizadas por la mayoría de los tipos de células en el periodonto incluyendo fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales, y los osteoclastos, así como la infiltración de leucocitos, incluyendo neutrófilos y macrófagos.

MMPs tienen una amplia gama de funciones fisiológicas fundamentales, que incluyen el desarrollo de tejidos, la homeostasis, y reparación así como papeles en la respuesta inmune, incluyendo el procesamiento y presentación de antígenos, además de la migración celular.

MMPs están regulados a un número de niveles incluyendo por citoquinas y factor de crecimiento regulado por la transcripción de genes, el procesamiento y la activación (por otras proteasas in situ).

La inhibición de la actividad de MMPs mediante la formación de complejos con otras moléculas tales como inhibidores tisulares metaloproteinasas de matriz (TIMP) y glicoproteínas de suero, tales como la macroglobulina α_2 es otro mecanismo de regulación y el equilibrio entre los niveles de MMPs y estos inhibidores naturales se cree que es un importante determinante de la actividad de MMPs en general (25).

Otro aspecto en la enfermedad periodontal, es que existe alteración en la regulación de expresión y secreción de MMPs, con un desequilibrio entre MMPs y TIMPs (inhibidores tisulares de MMPs) con alteración de los niveles de MMPs de neutrófilos con elevación de MMP-8 y MMP-9, probablemente debido al número de neutrófilos que emigran en la lesión periodontitis crónica y aumentando enormemente en el GCF como el resultado del proceso inflamatorio .

La regulación e inhibición de la actividad de MMP mediante la formación de complejos con otras moléculas tales como inhibidores tisulares metaloproteinasas de matriz (TIMP) y glicoproteínas de suero, tales como la macroglobulina α_2 es otro mecanismo de regulación y el equilibrio entre los niveles de MMPs y estos inhibidores naturales se cree que es un importante determinante de la actividad de MMP en general.

En particular, está establecido que los niveles de MMP-8 en GCF se correlacionan estrechamente con la gravedad de la enfermedad periodontal y que los niveles disminuyen en paralelo a la terapia periodontal exitosa (26).

Señalización Molecular en periodontitis

Una amplia gama de moléculas reguladoras y efectoras en la iniciación, progresión, y la resolución de periodontitis.

Numerosas quimiocinas (tales como CCL3 (MIP-1 α), CXCL8 (IL-8), y CXCL10) son secretadas por las células periodontales en respuesta a mediadores proinflamatorios primarios tales como IL-1 β y se han identificado como teniendo papeles potenciales en patógeno periodontal y en particular en el reclutamiento y la migración de los neutrófilos y otros leucocitos en el periodonto (21,26, 30) ..

Un número de factores de crecimiento son importantes en la patogénesis periodontal ya que regulan la homeostasis del tejido conectivo y la reparación y pueden crear sinergia con citocinas proinflamatorias (27). Aunque hay algo de información sobre la posible función de los factores de crecimiento individuales tales como el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y TGF- β en la periodontitis (28).

“El periodonto es un tejido complejo en el que los tejidos duros y blandos se yuxtaponen de forma única y que comprende numerosos tipos de células diferentes. El periodonto se expone a un complejo, variable, y el desafío bacteriana crónica, en el que un proceso inflamatorio crónico a menudo se establece. Por lo tanto, no es sorprendente que el perfil de los mediadores moleculares es igualmente compleja, dinámica y variable. Además, en los últimos años se ha hecho evidente que, aunque tenemos mucho mejor comprensión de los procesos celulares y moleculares fundamentales relacionados con la patogénesis periodontal, estos son a menudo "instantáneas" de itinerarios individuales y nuestra comprensión de cómo se integran estas vías, iniciación y progresión en la periodontitis y, críticamente, la posible resolución de este trastorno es limitada (21).”

Fase terapéutica

Actualmente el tratamiento de la Periodontitis grave, está orientada al control de la flora microbiológica subgingival, manteniendo dichas estructuras periodontales lo más aseada posible, evitando proliferación de placa y de restos alimenticios en las posiciones interdentes y controlando la flora subgingival específica de la enfermedad, tanto cuantitativamente, como cualitativamente. El tratamiento básico es el raspado y alisado de las superficies dentales, donde se acumula dicha flora microbiológica. Si bien en el desarrollo o brote de la enfermedad aguda y grave es muy importante emplear antibióticos por vía oral, intramuscular o endovenosa (31).

FISIOPATOLOGÍA DE LA DIABETES TIPO 2

La glucosa es la fuente de energía principal, obtenida de los Carbohidratos de la dieta y utilizado por el cuerpo para proporcionar energía celular. La insulina es una hormona secretada por el páncreas, fundamental para la regulación de metabolismo de carbohidratos y grasas del organismo, a nivel celular. La insulina hace que las células en el hígado, el músculo y el tejido graso, puedan asimilar la glucosa de la sangre y almacenarla como glucógeno en el hígado y el músculo.

La glucosa activa un receptor de membrana para la insulina que conduce a mecanismos celulares internos que afectan directamente a la captación de glucosa por la regulación del número y la función de moléculas de proteína en la membrana celular y la glucosa se introduce a nivel citoplasmático para desarrollar su fisiología en la célula.

El efecto inmediato de la diabetes es la hiperglucemia con el organismo tratando de eliminar la glucosa a través del riñón. Esta situación produce los síntomas clásicos de la poliuria (orinar frecuentemente.)..., y polidipsia (aumento de la sed). Las células no tienen suficiente energía y producen aumento del hambre, conocida como polifagia.

Hay tres tipos principales de diabetes.

- Diabetes tipo 1, en donde el organismo no puede producir insulina, y en la actualidad requiere la persona para inyectar insulina. La diabetes de tipo 1 también se conoce como diabetes mellitus dependiente de la insulina o diabetes juvenil.

- Diabetes tipo 2, en donde existe una resistencia a la insulina, condición por la que las células no usan la insulina adecuadamente, a veces combinada con una deficiencia al cabo

del tiempo de la formación absoluta de insulina, a nivel de las células pancreáticas . También se le llama diabetes mellitus no insulino dependiente y diabetes del adulto.

- La diabetes **gestacional** es cuando las mujeres embarazadas, los que nunca han tenido diabetes antes, tienen un alto nivel de glucosa en la sangre durante el embarazo. Puede ser un pre estado diabético y acabar desarrollando una diabetes tipo 2.

La elevación crónica del nivel de glucosa en la sangre conduce a un daño de los vasos sanguíneos (**angiopatía**). Las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos se ven sobrecargadas por las altas tasas de glucosa circulantes y acaban dañándose.

Los problemas resultantes se agrupan bajo la microangiopatía (daño a los pequeños vasos sanguíneos) y macroangiopatía (daño a las arterias). La microangiopatía causa la miocardiopatía diabética, nefropatía, neuropatía y retinopatía. Macroangiopatía provoca aterosclerosis que contribuye a la enfermedad de arteria coronaria como infarto de miocardio, mionecrosis diabética (pérdida de masa muscular), enfermedad vascular periférica y accidente cerebro-vascular.

La diabetes y la periodontitis crónica son dos enfermedades crónicas que durante mucho tiempo han sido considerados para ser biológicamente vinculados. Un gran número de informes de casos, estudios transversales, estudios longitudinales y revisiones sistemáticas informan los efectos adversos de la diabetes sobre la aparición, progresión y severidad de la periodontitis crónica (32).

La característica de resistencia a la insulina es el fracaso de la insulina para suprimir la producción de glucógeno hepático o estimular la captación de glucosa por los tejidos periféricos, y esto, a su vez, causa la hiperglucemia, la hiperinsulinemia y la dislipidemia (33).

La desregulación del metabolismo de la glucosa y los lípidos puede inducir una cohorte de trastornos sistémicos, incluyendo la obesidad, la enfermedad cardiovascular y la hipertensión, infertilidad, la neurodegeneración y la diabetes tipo 2 cuando las células beta pancreáticas fallan para secretar suficiente insulina para compensar la resistencia periférica a la insulina (34).

Hay pruebas de que las mitocondrias están involucradas en el desarrollo de la diabetes. Los estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que la transmisión hereditaria de la diabetes tipo 2 es influenciada maternalmente por herencia mitocondrial (35).

La función mitocondrial se altera durante la resistencia a la insulina que progresa a la enfermedad (36). Los músculos de los pacientes con diabetes tipo 2 contienen menos mitocondrias que las de individuos sensibles a la insulina de la misma edad (37).

Estudios de espectroscopia por resonancia magnética indican que las personas con resistencia a la insulina muestran una reducción marcada de la capacidad oxidativa mitocondrial y la actividad de fosforilación en sus tejidos musculares y el hígado (38). Estudios recientes han añadido evidencia de que especies reactivas de oxígeno generadas a partir de las mitocondrias desempeñan un papel importante en la patogénesis de complicaciones diabéticas (39).

La evidencia disponible muestra cada vez más de ligamiento genético entre las alteraciones en el ADN mitocondrial y la diabetes tipo 2 (40). Una variante común en el ADN mitocondrial en el pb 16189 (una transición T3C) se ha asociado en los caucásicos con tamaño pequeño nacimiento, la hiperglucemia y la edad adulta resistencia a la insulina (41).

Las mitocondrias producen especies reactivas de oxígeno que mejoran la sensibilidad a la insulina a través de la modificación oxidativa del receptor de insulina. Como tal, las especies de oxígeno reactiva mitocondriales y desafío Óxidativo persistente se sugieren para inducir adaptaciones sistémicas, durante el cual se mejoran tanto la acción de la insulina y la capacidad antioxidante. Sin embargo, otra evidencia muestra que la

hiperglucemia o especies de oxígeno reactivo inducidas por la obesidad activa quinasas sensibles al estrés (por ejemplo, c-Jun N-terminal quinasa y I kappa B quinasa), promueve resistencia a la insulina en modelos animales roedores y en los seres humanos. Por lo tanto, otros aspectos deben de tenerse en cuenta, en la que las especies reactivas de oxígeno cambian de potenciador a supresor de la sensibilidad a la insulina y servir para definir la estrategia en él y se debe definir en el tratamiento clínico del síndrome metabólico (42).

Uno de los principales procesos celulares controlados por la insulina es la autofagia. La autofagia, también se conoce como muerte celular programada; existe en todas las células eucariotas y se conserva en la evolución a partir de levaduras a seres humanos.

La autofagia es esencial para el mantenimiento de la homeostasis celular y se activa por inanición (para suministrar sustratos ATP productoras, por ejemplo, aminoácidos) y otras condiciones de inducción de estrés. El proceso es el responsable de la degradación de las proteínas de larga vida y de las estructuras intracelulares que están dañadas o funcionan irregularmente. Es un proceso dinámico que implica la reorganización de las membranas subcelulares (creación de autophagosoma) para secuestrar porciones del citoplasma y orgánulos para la entrega a los lisosomas, donde es degradado todo el material secuestrado (43).

La autofagia es un mecanismo celular protector; sin embargo, también puede promover la muerte celular a través de la degradación excesiva de los componentes celulares. Su papel en la diabetes o el metabolismo fisiológico está lejos de ser aclarado, pero observaciones recientes sugieren que puede constituir un factor importante en el desarrollo y la prevención de la diabetes. La autofagia puede afectar a la sensibilidad a la insulina, como la disfunción mitocondrial se ha implicado en la resistencia a la insulina y la autofagia están involucrados en el mantenimiento de estos orgánulos (44).

Mitofagia, la degradación selectiva de las mitocondrias dañadas por la autofagia, puede jugar un papel clave en retardar la acumulación de mutaciones somáticas de ADN mitocondrial. Es posible que las mitocondrias defectuosas generen localmente autofagosomas debido a la producción de mayores cantidades de especies de oxígeno

reactivas producidas por la cadena respiratoria dañado, y por lo tanto tienen una tendencia mayor a ser autofagocitadas. A niveles bajos, las especies reactivas del oxígeno sirven como moléculas de señalización indispensables para el desarrollo, supervivencia y por diferentes vías, conducen al crecimiento y la supervivencia celular (45).

La diabetes tipo 2 se caracteriza por doble fallo en la acción de la insulina (resistencia a la insulina) y disfunción pancreática que incluyen la pérdida progresiva de las funciones de las células Beta pancreática, pérdida de la secreción de insulina y pérdida de la masa de células Beta. En modelos animales (ratas Goto-Kakizaki o ratones MKR) de diabetes tipo 2, las células B disminuyen el número de las mitocondrias, se hinchan y altera contenido de ADN mitocondrial (46).

Se ha implicado que en la diabetes, las mitocondrias, cuando se expone a altas concentraciones de glucosa y ácidos grasos, pueden consumir mayor oxígeno y un mayor potencial redox, formando de este modo especies de oxígeno más reactivos (47).

Por otra parte, las células B tienen niveles relativamente bajos de expresión de las enzimas que equilibran las especies reactivas de oxígeno tales como superóxido dismutasa de cobre / zinc, manganeso y la glutatión peroxidasa. Estos bajos niveles de expresión de genes de enzimas de especies de oxígeno reactivas del organismo pueden proporcionar una explicación para la mayor sensibilidad de las B-células pancreáticas hacia los daños causados por las especies reactivas del oxígeno (48).

Las complicaciones de la hiperglucemia se han correlacionado con productos finales de glicosilación avanzada. La hiperglucemia provoca aumento de la formación de productos finales de glicosilación avanzada no enzimáticos. La acumulación de producto de fin de glicosilación avanzada es una medida de la metabólica acumulativa y el estrés Óxidativo y la glicosilación avanzada productos finales son predictores de complicaciones a largo plazo de la diabetes (49).

Los productos finales de la glicación proteica generan especies reactivas del oxígeno y apoptosis en las células beta del páncreas, induciendo estrés Oxidativo (estrés glycoxidative) muy perjudiciales para las células B, que conduce a la despolarización mitocondrial, desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, hinchazón mitocondrial de gran amplitud y la muerte celular. Productos finales de glicosilación avanzada podrían desempeñar un papel importante en la disfunción progresiva y la pérdida de las células B mediante el aumento de mitofagia de células B y cambios en la morfología mitocondrial (50, 5, 52).

FISIOLOGÍA DEL ESTRÉS ÓXIDATIVO

La función principal del Estrés Óxidativo está puesta en marcha y regulada en la cadena respiratoria a nivel Mitocondrial. En ella a nivel de la membrana interna mitocondrial y en la matriz mitocondrial se establece una diferencia de voltaje y la pérdida o ganancia de electrones y protones (5).

La gestión del estado Redox en la mitocondria conlleva también una diferencia de potencial, que es gestionado por dicha cadena respiratoria. Participan éstas proteínas a nivel de la membrana interna mitocondrial y forman un Complejo multiprotéico que tiene como fundamento la obtención de ATP, siendo ésta producción de energía la más efectiva del organismo.

Y en dicha función para la obtención de dicha energía, siempre se escapan o pierden electrones, siendo éstos electrones los que originan los radicales libres y en especial el anión superóxido $O_2^{\cdot-}$. También se forma en menor grado hidróperóxido OH.

REGULACIÓN POR GENES Y PROTEÍNAS

La posibilidad de control de genes de enzimas antioxidantes en el ambiente, ha dado resultados interesantes. La exposición de las bacterias a las bajas concentraciones de H_2O_2 dan como resultado la inducción de unas 30 proteínas y la resistencia a ser destruidas por dosis más altas de H_2O_2 , (53). El regulador positivo OxyR controla la expresión de nueve de las proteínas inducibles, incluyendo catalasas terminal GSH-rojo.

Por otro lado, las cepas con deleciones del gen oxyR son hipersensibles a H_2O_2 y muestran niveles de mutagénesis espontáneas, especialmente durante el crecimiento aeróbico. Ahora es bien conocido que el gen anti-oxidante-inducible se expresa en la mayoría de células y tejidos de todos los mamíferos.

La expresión de otras proteínas como factores de transcripción de **proteínas feritin ribosomal**, se ha demostrado que aumenta después de la administración de anti-oxidantes, (54), determinando, los EFECTOS ANTIOXIDANTES, factores de transcripción (por ejemplo, NF-KB), así como en la expresión de genes (por ejemplo, en relación con la producción de citoquinas pro-inflamatorias).

DEFINICIÓN ESTRÉS ÓXIDATIVO

El estrés Óxidativo se define como un **desequilibrio persistente** entre la producción de especies moleculares altamente reactivas, como ROS y especies reactivas de nitrógeno (RNS) y las defensas antioxidantes.

Otra definición de Estrés Óxidativo en términos químicos

El estrés Óxidativo es un gran aumento (cada vez más negativo) en la reducción del potencial celular o una gran disminución en la capacidad reductora de los pares redox celulares como el glutatión.

Última definición:

Significance: Oxidative stress, an excess of reactive oxygen species (ROS) production versus consumption, may be involved in the pathogenesis of different diseases (55).

Definición: El estrés Óxidativo, como un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS) en relación con el consumo de las mismas especies reactivas, y pueden estar implicados en la patogénesis de diferentes enfermedades (55).

ETIOLOGÍA Y FACTORES DESESTABILIZADORES EN EL E.O.

Entre los agentes causantes de E.O. se encuentran:

Agentes químicos derivados del benceno, tóxicos, insecticidas

Radiaciones ionizantes

Alteraciones del metabolismo como productos de glicación de proteínas (AGEs)

Agentes que provoquen metilación de proteínas, con daño a histonas de origen nuclear

Productos que dañen al núcleo celular y sus cromosomas

Traumatismos que posteriormente ocasionan daño inflamatorio y autofagia a nivel del páncreas

Estados de falta de oxígeno, bien por disminución en la atmósfera o bien por intoxicación de monóxido de carbono.

Intolerancia a fármacos con daño renal por citotoxicidad

Privación de sueño

Agentes lipemiantes y aumento de lípidos en sangre

Enfermedades autoinmunes

Intoxicaciones alimenticias

FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS DE FR/ROS DEL ESTRÉS ÓXIDATIVO CELULAR

FR/ROS, oxidan aminoácidos, vitaminas, carbohidratos, lípidos o macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos), o bien alteran y condicionan la estructura de la membrana celular y las lipoproteínas circulantes.

En especial radicales Hidróxilo OH^* alteran las bases de Purina y Pirimidina, siendo éstas las encargadas de alguna enzima (56).

En los últimos años, ha habido una tremenda expansión en la investigación médica y dental respecto al estudio de los radicales libres, especies reactivas de oxígeno, y mecanismos de defensa producidos por el "Huésped". En éste estudio ponemos el objetivo de proporcionar un resumen crítico de puesta al día en dicho campo biológico.

ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO

Oxidante	Descripción
•O ₂ ⁻ , Anión superóxido	Estado de reducción de un electrón de O ₂ , formado en muchas reacciones de autooxidación y por la cadena de transporte de electrones . Es poco reactivo, pero puede liberar Fe ²⁺ de proteínas ferrosulfuradas y de la ferritina . Sufre dismutación para formar H ₂ O ₂ espontáneamente o por catálisis enzimática y es un precursor para la formación de •OH catalizado por metales.
H ₂ O ₂ , peróxido de hidrógeno	Estado de reducción de dos electrones, formado por la dismutación de •O ₂ ⁻ o por reducción directa de O ₂ . Soluble en lípidos y por ende capaz de difundir por membranas.
•OH, radical hidroxilo	Estado de reducción de tres electrones, formado por la reacción de Fenton y la descomposición de peroxinitrito . Extremadamente reactivo, ataca la mayoría de los componentes celulares.
ROOH, hidroperóxido orgánico	Formado por reacciones de radicales con componentes celulares como lípidos y nucleobases .
RO•, alcoxi- y ROO•, peroxi-	Radicales orgánicos centrados en oxígeno. Formas lipídicas participan en reacciones de peroxidación de lípidos . Producido en presencia de oxígeno por adición de radicales a dobles enlaces o eliminación de hidrógeno.
HOCl, ácido hipocloroso	Formado a partir de H ₂ O ₂ por la mieloperoxidasa. Soluble en lípidos y altamente reactivo. Rápidamente oxida constituyentes de proteínas, incluyendo grupos tiol , grupos amino y metionina .
OONO ⁻ , peroxinitrito	Formado en una rápida reacción entre •O ₂ ⁻ y NO•. Liposoluble y similar en reactividad al ácido hipocloroso. Protonación forma ácido peroxinitroso, que puede someterse a escisión homolítica para formar radicales de hidroxilo y de dióxido de nitrógeno.

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo está justificado desde dos puntos de vista principalmente, el primero se fundamenta en el interés que está tomando el auge del equilibrio entre oxidantes y antioxidantes.

El segundo punto, en la Prevalencia de ambas enfermedades estudiadas. Por las tasas epidemiológicas a nivel mundial, y sobre todo el incremento incorporado en la última década. Dependiendo del territorio mundial que se estudie, puede oscilar entre un 30-70% de prevalencia para la Enfermedad Periodontal, y un 40-60% para la Diabetes tipo2. Y en muchos casos coincidiendo ambas patologías (1).

Estos dos puntos de vista hacen el trabajo interesante por asociarse en algunos pacientes ambas enfermedades, tomando un pronóstico que en los casos de descompensación, les hace tener un pronóstico grave y difícil de manejar.

Por todo lo anterior, consideramos queda suficientemente justificada la pertinencia de realizar éste trabajo en cuanto a que los resultados podrían demostrar una mejoría de la estrategia terapéutica o en la seguridad de los pacientes con dichas patologías asociadas (Periodontitis-diabetes).

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Resumen crítico y puesta al día sobre el estrés Óxidativo en la Inter-relación Periodontitis-diabetes y viceversa.

EL principal objetivo es encontrar los parámetros en común de ambas enfermedades, Diabetes - Periodontitis y viceversa, Periodontitis - Diabetes.

MATERIAL Y MÉTODO

He realizado una búsqueda avanzada en “Pubmed central de la NCBI.

Las palabras han sido oxidative, stress, diabetics, periodontitis

Los Booleanos, and, or

Imágenes de Wiki pedía

Textos consultados:

Bioquímica médica básica de Marks & Lieberman 2013, 437-456

Salud bucal en la mujer de Lailla & Bullón 2013.cap-4:33-35.

Anatomía de los tejidos periodontales .Periodoncia clínica e implantología odontológica .5ed.Madrid ed. Panamericana;2009,pag 3-49.

Seguimiento directrices Normas de la Facultad Odontología Sevilla para el desarrollo de Trabajo Fin de Máster. www.us.es/por/studies/masters/master_M058/assignatura_50580001.

Seventh European Workshop on Periodontology . 2011.

Kinane DF, Preshaw PM, Loos BG (2011) Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions—Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. J Clin Periodontol 38(suppl 11):44–48, 2011.

PALABRAS CLAVE: Periodontitis , Estrés Óxidativo , Especies Reactivas del Oxígeno , AGEs, Diabetes 2 .

RESULTADOS-DISCUSIÓN

Cierto es que existe un fenómeno inflamatorio en los seres vivos para defenderse de los procesos agresivos, como puede ser una colonización por determinados gérmenes, en especial, si existe una susceptibilidad en el huésped, que pueda ser determinada por inmunidad innata o adquirida. Y también es cierto que ésta inflamación puede tomar un carácter más o menos agresivo, que en definitiva resuelva o incremente dicha respuesta defensiva en los diferentes tejidos celulares.

El E.O., es necesario para la defensa del huésped, poniendo en marcha el mecanismo inflamatorio, que puede volverse en contra del mismo, y parece ser ésta la puesta en marcha en la etiopatogenia de la Periodontitis crónica y diabetes tipo 2, y en el desarrollo y mantenimiento de ambas enfermedades interviniendo bien en la respuesta local, bien la respuesta humoral (**homeostasis** con liberación de **citoquinas** y productos que perpetúan y retroalimentan el E. O. con ROS).

La respuesta local, en la que intervienen las estructuras del Periodonto y las células relacionadas con el mismo, junto a los PMN, que intervienen en la respuesta de agresión frente a ciertas bacterias, con su mecanismo de endocitosis, los que engloban y luchan contra las bacterias periodontopatógenas mediante la liberación de ROS, eliminando a dichos patógenos, y es en caso de perpetuación de la lucha, la que se vuelve en contra del huésped y acaba ocasionando pérdida de hueso alveolar.

También en la respuesta defensiva y a través del torrente circulatorio, los MONOCITOS y MACRÓFAGOS, sensibilizados por el contacto del huésped con ciertos LIPOSACARIDOS bacterianos, pueden desequilibrar el balance o equilibrio entre **oxidantes/antioxidantes**, con llevando un estado inflamatorio y perpetuando un estado alterado en la oxidación-reducción celular.

En el vínculo de unión entre una respuesta normal y una respuesta descompensada puede estar el equilibrio del estado Óxidativo intracelular (Potencial Redox), en todas las células que integran el tejido periodontal y los PMN del torrente circulatorio. Ésta situación al persistir, ocasiona liberación de citoquinas circulantes y perpetuación del factor inflamatorio. Y en éste vínculo se encuentra el potencial de regulación y administración mitocondrial, donde se observa en casos de Periodontitis crónica agresivas, disminución de crestas mitocondriales, hinchazón mitocondrial y aumento de metabolitos que determinan incremento de Oxidación del ADN celular y mitocondrial, y también en el fluido crevicular se ha podido determinar junto a la disminución de la Capacidad total antioxidante de la saliva.

También se comprueba una implicación a nivel del endotelio vascular periodontal, por la actuación de las Oxidasas de la NADP, con modificaciones en el interior de la célula endotelial y a nivel de las uniones ínter celulares, con liberación y daño en sus membranas celulares, siendo ésta situación, motivo y puerta de asociación del E.O. con otras patologías sistémicas y enfermedades cerebro-vasculares.

Y si bien, ésta implicación de las oxidasas anima a incorporar la administración de inhibidores de las mismas, ya que se conocen varias isoenzimas, el manejo con ratones, administrándoles dichos inhibidores no han mostrado ninguna mejoría sobre el E.O. desarrollado. Al igual que tampoco se muestra mejoría cuando se administra un tratamiento con antioxidantes. Es por ello que existe un intrincado mecanismo de regulación, control y desequilibrio en la interconexión intracelular (mitocondrial, citosol, núcleo) y extra celular representada por la homeostasis y los múltiples receptores de membrana celular (receptores, agonistas, anti agonistas, poros de membrana).

Y como por su puesto el factor susceptibilidad tiene que estar presente en la Periodontitis crónica, determinados biotipos genéticos deben estar presente, bien en la predisposición a defenderse, bien en determinados biotipos microbiológicos ante gérmenes periodontopatógenos (caso de Porfiromonas gingivales), donde en estudios de fibroblastos gingivales se observan mitocondrias anormales, aumento de ROS y mutaciones en ADN mitocondrial.

SISTEMA SUPER ÓXIDO DISMUTASA (SOD)

Irwin Fridovich bioquímico estadounidense que junto con su estudiante graduado Joe M. McCord, descubrió la actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) (57), (58) para proteger a los organismos de los efectos tóxicos del anión superóxido Superóxido O_2^{--} . Posteriormente, en el 1970 se descubre la que contiene Manganese (59) la que contiene hierro (60) SOD de E coli y la mitocondrial MnSOD (SOD2), (61)

Ahora se sabe que forman parte en todas las proteínas esenciales de los mamíferos. (62). Fridovich es actualmente Profesor Emérito de Bioquímica de la Universidad de Duke.

Posteriormente a los estudios de Fridovich, se sabe que son tres isoenzimas humanas, y diferentes, la SOD1, se encuentra en el citoplasma de las células humanas, la SOD 2, en las mitocondrias, y la SOD 3, presente en el líquido extra celular (63).

SOD es una enzima que cataliza la dismutación del anión Superóxido a H_2O_2 y O_2 . Aunque cinco estudios mostraron niveles más bajos de SOD en el grupo periodontitis que en el grupo de salud periodontal y el otro mostraron una diferencia significativa contrario, todos estos estudios sugirieron la misma conclusión que la periodontitis podría alterar los niveles de SOD sistémicos. Cuando se encontraron niveles de SOD menores en los pacientes con periodontitis, puede ser explicado como un mayor consumo por la inflamación periodontal.

Por otro lado, cuando se encontraron niveles de SOD mayor en los pacientes con periodontitis, puede ser explicado como que se expresó más SOD para proporcionar protección biológica contra el aumento de la generación de superóxido durante la inflamación periodontal.

Sin embargo, en seis estudios de éste meta análisis (64), se observa que los niveles de SOD no tienen ninguna diferencia significativa entre el grupo de la periodontitis y sujetos sanos.

PAPEL Primordial de PMN

PMN son los leucocitos predominantes en la sangre y constituye el factor de resistencia del huésped en la inmunidad celular primaria contra la infección. En la cavidad oral después de la acumulación de placa y el desarrollo de la inflamación crónica, hay un aumento en un PMN gingival en el surco gingival.

Un papel protector de PMN en la fisiopatología de EP se sugiere por el hallazgo de EP grave en pacientes con reducida función alterada en los PMN.

Los individuos con la aparición temprana o **enfermedad Periodontal rápidamente progresiva** exhiben defectos relativamente sutiles en los neutrófilos. Sin embargo, la mayoría de los estudios no han podido demostrar defectos PMN en pacientes con diversos grados de EP crónica (52,54).

PMN poseen al menos 2 vías principales de control microorganismos (es decir, Óxidativo y **NO** Óxidativo) que, o bien a eliminar las bacterias, influyen en el crecimiento bacteriano, o modificar la colonización bacteriana en el periodonto. La **quimiotaxis y la fagocitosis** de evaluación son los métodos tradicionalmente utilizados para medir la funcionalidad de PMN. Otra función es el "estallido respiratorio", que se puede medir por métodos diferentes (53).

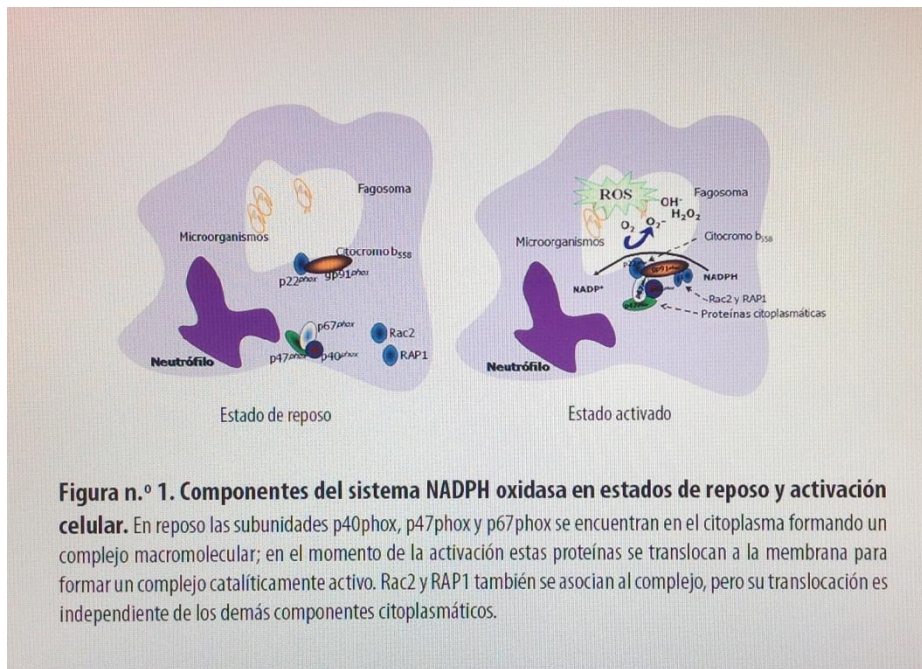
La generación de especies reactivas **ROS** se consigue bien espontáneamente, o bien tras la estimulación de los receptores Fc gamma en la superficie de los neutrófilos por sus respectivos ligandos (53,54).

MEDICIÓN DEL ESTALLIDO RESPIRATORIO:

- .- Nitroazulde testarazolium (NBT)
- .- Quimiluscencia (CL)
- .- Citometría de flujo
- .- O2.- Medición en PMN por espectrofotometría con absorbancia a 550nm .

SISTEMA NADPH, NAD⁺ Y PMN

El sistema NADPH oxidasa es un complejo multiproteico encargado de producir especies reactivas del oxígeno (ROS), en diferentes células y tejidos. Es de gran importancia en las células fagocíticas (principalmente neutrófilos y macrófagos) porque participa en la destrucción de microorganismos patógenos, mediante la fagocitosis y la formación de las trampas extracelulares de neutrófilos (NET, por neutrophils extracellular traps), así como en la activación de procesos inflamatorios (55).



(56).

SISTEMA NADPH (Nicotina-adenin-fósfo-deshidrogenasa enzima)

Éste sistema energético, se genera y regula a nivel mitocondrial y es junto al citosol celular donde comienza un desbalance celular Óxidativo.

Estudio observacionales, documentales y experimentales en ratones en la última década por varios autores (65) relacionan la Periodontitis con el Estrés ÓXIDATIVO y las oxidadas de la NADPH.

Éste sistema es regulado por diferentes estados moleculares y es equilibrado en parte a su vez por múltiples mecanismos biomoleculares, uno de ellos son las proteínas SIRTUÍNAS 1-7, (66,67).

Otro apartado donde se expresan las oxidasas mitocondriales es en las células del endotelio vascular, posiblemente implicadas también en los microcapilares en ambas patologías Periodontitis-diabetes, donde generan especies reactivas del oxígeno de oxígeno.

Además de las oxidasas, se incluyen en el endotelio vascular, la NOS, enzimas de la cadena respiratoria, mono oxigenadas del citocromo P450 y la Xantina oxidasa; contribuyendo todas éstas enzimas a generar ROS .

Mientras que todos estos sistemas son importantes en diversos estados de enfermedad, NADPH oxidasas parecen jugar el papel central en la orquestación de la activación y la disfunción de otras enzimas. NADPH oxidasas se expresan diferencialmente en la pared vascular, incluyendo las células endoteliales, células de músculo liso (SMCs), fibroblastos y células inmunes infiltrantes.

El perfil de expresión de NADPH oxidasas varía no sólo entre diferentes estados de enfermedad, en relación con su estadio inflamatorio y su cronicidad. En general, se acepta que en condiciones fisiológicas normales, las NADPH oxidasas vasculares tienen un nivel

relativamente bajo de actividad. Sin embargo, la actividad enzimática se puede aumentar tanto aguda como crónicamente en respuesta a estímulos tales como citoquinas, factores de crecimiento, hiperlipidemia, y tasas elevadas de glucosa (68,69), que altera la homeostasis vascular y los resultados en la patología.

OXIDASAS DE LA NADPH Y CÉLULAS DEL ENDOTELIO VASCULAR

DIVERSOS MECANISMOS DE ACTIVACIÓN Y REGULACIÓN VASCULAR POR LAS OXIDASAS DE LA NADPH

A pesar de las similitudes en estructuras, las isoformas de las Oxidasas de la NADPH vasculares tienen diferentes mecanismos de activación, así como, las consecuencias pueden ser diferentes en las CMLV (células músculo liso vascular), en otras células del endotelio, tales como los fibroblastos de la capa adventicia o en los adipocitos perivasculares, donde la Nox1 y 2 requieren asociación con componentes citosólicos (p47phox, p67phox o NOXO1 y NOXA1), Nox4 es constitutivamente activo, y NOX5 se activa por una elevación en el Ca²⁺ intracelular.

El mecanismo de activación de Nox2 está más claramente definido y similar a la descrita en los fagocitos. En la activación, p47phox se fosforila y se transloca a la membrana, a través de la formación de un complejo con p67phox y p40phox. La fosforilación de p47phox induce un cambio conformacional en un tándem homología Src 3 (SH3) de dominio que permite la unión a una región rica en prolina en el C-terminal citosólica de la p22phox subunidad transmembrana. De forma independiente, la proteína de unión a GTP de Rac también se mueve a la membrana y la activación se produce (70). En contraste con Nox2, la oxidasa basado en Nox4 parece ser constitutivamente activo y no requiere p47phox, p67phox, o Rac.

La activación sostenida de NADPH oxidasas vasculares se produce en respuesta a numerosos agonistas, como los derivado de plaquetas [PDGF], factor de crecimiento epidérmico [EGF], y TGF- β , Citoquinas (por ejemplo, factor de necrosis, factor de [IL-1], y la agregación plaquetaria interleucina-1), fuerzas mecánicas (estiramiento, laminar, y la tensión de cizallamiento oscilatorio cíclico), factores metabólicos (hiperglucemia, hiperinsulinemia, ácidos grasos libres, y los productos finales de glicación Avanzadas), y G

agonistas de los receptores acoplados a la proteína (serotonina, trombina, bradiquinina, endotelina y la angiotensina II [Ang II]) (71).

Además, los c-Src, p21ras, la proteína quinasa C (PKC), la fosfolipasa D y fosfolipasa A2 (PLA2) se ha demostrado que desempeñan un papel clave en la señalización implicadas en la activación de la NADPH oxidasa vascular de los neutrófilos .

También AngII es uno de los agonistas clave estimulantes Nox1 y Nox2 oxidasa expresión de la subunidad así como en la activación oxidasa en las células vasculares y neutrófilos. Sin embargo, sus efectos sobre Nox4 y NOX5 son mucho menos pronunciado y tal vez indirecto (72).

La producción inducida por Ang II de ROS por CMLV es inicialmente PKC-dependiente (fase temprana), mientras que la fase prolongada (> 30 min) es dependiente de Rac, Src y fosfatidilinositol 3-quinasa (72).

La Ang II, aumenta los niveles de mRNA no sólo de proteínas Nox sino también de p22phox y p67phox (no). Activación Ang II-dependiente o inducida por H₂O₂ -de Nox4 en las células mesangiales o fibroblastos cardíacos se ha informado a ser dependiente de PLA2 y liberación de ácido araquidónico.

La regulación redox de la activación de la NADPH oxidasa vascular proporciona retroalimentación negativa y los mecanismos de regulación de alimentación directa. Por ejemplo, la rotación de la proteína Rac1 es fuertemente dependiente del estado redox de la célula, la creación de un mecanismo de retroalimentación negativa. Al mismo tiempo, existe un mecanismo de alimentación positiva, por el cual la exposición exógena de SMC o los fibroblastos activados, por la NADPH oxidasa, estimula la producción de O₂ endógeno, amplificando así el proceso de lesión vascular. El mecanismo de autolimitación podría predominar durante las condiciones fisiológicas, y estar involucrado en el mantenimiento bajo de salida de la oxidasa NADPH monofagocitas, mientras que el

mecanismo de alimentación hacia adelante puede tener un papel en la NADPH oxidasa en el estrés Óxidativo dependiente en una variedad de enfermedades inflamatorias crónicas.

Diabetes tipo 2

La diabetes está asociada con una variedad de anormalidades metabólicas, tales como resistencia a la insulina y la hiperglucemia. Sin embargo, las complicaciones cardiovasculares son la causa principal de mortalidad en pacientes diabéticos. ROS generado durante la hiperglucemia están implicados en el desarrollo de la disfunción endotelial y la progresión de las complicaciones vasculares diabéticas. La disfunción endotelial se caracteriza por aumento de generación de ROS por las oxidasas dependiente de NADPH y está demostrado en modelos animales con diabetes y en pacientes con diabetes (72).

La hiperglucemia aumenta la expresión de la NADPH oxidasa, los niveles de marcadores de estrés Óxidativo, y la apoptosis (73), de las células endoteliales humanas en relación con el aumento de expresión de la subunidad NADPH oxidasa (por ejemplo, p22phox y p47phox) .

Ang II es también involucrados en la activación de NADPH oxidasas vasculares en la diabetes. La activación de la NADPH oxidasa mediada por el receptor AT1 parece contribuir a la resistencia a la insulina vascular, disfunción endotelial, apoptosis, y la inflamación en ratas (74).

En consecuencia, NADPH oxidasas vasculares han surgido como dianas potencialmente importantes que contribuyen a la patogénesis de complicaciones cardiovasculares a largo plazo de la diabetes. De las numerosas patologías y enfermedades vasculares, la vasculopatía diabética, relacionada con dicha oxidasa.

NADPH oxidasas en la regulación de la inflamación vascular

Durante los últimos años, se ha hecho evidente que la inflamación y la oxidación son dos procesos básicos que acompaña la patogénesis de la mayoría de los estados de enfermedad en los seres humanos. Además, ahora es evidente que estos dos mecanismos distintos están en una interacción constante, con interacciones particularmente evidente en la pared de los vasos sanguíneos. Estrés Óxidativo vascular regula el desarrollo de la inflamación vascular y renal que se ha implicado recientemente en la patogénesis de la aterosclerosis no sólo, sino también de la hipertensión y la hipercolesterolemia (75).

Posible vínculo entre periodontitis y enfermedades sistémicas vasculares

La expresión de moléculas de adhesión endoteliales, tales como la molécula de adhesión celular vascular 1 molécula de adhesión (VCAM-1), intercelular 1 (ICAM-1), y P- y E-selectinas en las grandes arterias de células endoteliales es redox sensible y dependiente de Nox1, oxidasas Nox2, y NOX5 NADPH.

Esto es en parte, debido a que contienen un sitio NF- κ B dentro de la región del promotor que se sabe que se regulará de manera sensible a redox, siendo éste mecanismo muy similar a la patología de inflamación Periodontal y compartiendo el mismo mecanismo de la arteriosclerosis. Es en la etapa más temprana y más crítico en el proceso inflamatorio, lo que conduce a la trans migración de leucocitos en el espacio subendotelial. Esto ocurre no sólo en grandes vasos sanguíneos produciendo la macroangiopatía diabética y también en el endotelio de los vasa vasorum, lo que lleva a la acumulación de leucocitos en la adventicia y medios de comunicación exteriores. Las citoquinas también se han demostrado para regular oxidasas NADPH vascular, que une la inflamación con el estrés Óxidativo.

En particular, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) estimula NADPH oxidasa Nox1, Nox2, y la expresión Nox4. Otros estímulos que inducen la NADPH oxidasas vasculares incluyen

el estrés la tensión de cizallamiento , o una elevación de Ca^{2+} intracelular, que podría actuar como una señal de para activar Nox durante el estrés celular (72) .

Parece que la inflamación perivascular caracterizada por macrófagos, células dendríticas, y linfocitos T y la acumulación de células B, en forma de estructuras linfoides terciarios, es una característica clave de la inflamación vascular temprana y puede ser relacionada con la Periodontitis y diabetes (72) o en la disfunción vascular hipertensiva (76).

Los estudios de las arterias coronarias de cerdos diabéticos han demostrado que los aumentos inducidos por la diabetes en la actividad de la NADPH oxidasa están acompañados de regulación de las citoquinas inflamatorias (IL-6 y TNF- α), quimiocinas (proteína 1 quimiotáctica de monocitos [MCP-1]) y moléculas adhesivas vascular celular (VCAM-1), proporcionando un mayor apoyo para el papel de la NADPH oxidasa en la inflamación vascular (78). Además, NADPH oxidasas, a través de la sobreproducción de anión superóxido O_2^- parece mediar en la expresión y liberación de quimiocinas tales como reguladas en la activación, células T normales expresadas y secretadas (RANTES), esencial para el reclutamiento de leucocitos a la pared vascular (72) .

Posible patogenia en periodontitis

ROS derivados de fibroblastos adventicios también puede servir como una señal directa quimiotáctica para los leucocitos aumentar otra molécula quimiotáctica, MCP-1 (78).

Ang II, endotelina 1 (ET-1), y mediadores inflamatorios pueden modular la NADPH oxidasa basal inducida por anión superóxido, al afectar tanto la activación de la enzima y la expresión de las subunidades de NADPH oxidasa.

Se ha demostrado que la infusión de Ang II por una semana aumentó NADPH oxidasa derivado de la producción de ROS en aortas de rata, y el aumento de la expresión de ICAM-1 y la infiltración de macrófagos adventicia posterior (79).

Mientras NADPH oxidasas vasculares son importantes en la regulación de las respuestas inflamatorias, NADPH oxidasas también se expresan en las células inmunes. Hipertensión inducida por Ang II se asocia con un aumento de la producción de superóxido Nox2 mediada y expresión Nox2 en las células T y monocitos en sangre periférica. Esto se ha relacionado con la activación de estas células y puede ser importante en la patogénesis de la hipertensión mediada por Ang II. Además, Nox4 es crítico en el cebado de la quimiotaxis de monocitos y la captación de la pared del vaso (80).

"La comprensión de las complejas interacciones entre el estrés Óxidativo vascular y la inflamación vascular ha convertido en posesión posible, gracias al desarrollo de nuevas estrategias para la evaluación cuantitativa de la inflamación vascular en relación con la actividad y la expresión de Nox. Sin embargo, una comprensión adicional de papeles pro y anti-inflamatorios para oxidasas vasculares es ahora necesario (81)."

Al mismo tiempo el sistema NAD⁺, funciona como sensores metabólicos de los combustibles que deberán ser administrados en la mitocondria, cómo, ácidos grasos, aminoácidos y productos derivados de la Glucosa **-vía piruvato-** . Por ejemplo, la actividad de las sirtuinas (proteínas reguladoras de varias funciones relacionadas con el E. O., éstas proteínas Sirtuinas descubiertas a primeros de los años 2000, pueden aumentar cuando los niveles de NAD⁺ son abundantes, como en las horas de privación de nutrientes (67).

PAPEL DE AGEs en diferentes sistemas celulares

Los AGEs, son compuestos que circulan por el torrente sanguíneo y contribuyen a la homeostasis en el organismo. Estos productos finales de determinados compuestos químicos son proteínas que intervienen en todas las reacciones enzimáticas, bien en respuesta defensiva ante gérmenes, bien en respuesta a alteraciones metabólicas.

Se denomina **Glicación de los productos finales**, a los compuestos químicos circulantes (que se conoce como la unión de un grupo **Aldehído de un azúcar, con un grupo amino**, habitualmente de una proteína, y es una **unión que no precisa de reacción Enzimática**, éstos productos toman un carácter determinante en el mantenimiento de la diabetes crónica descompensada y en algunos casos en la Periodontitis crónica asociada a diabetes.

Estos productos generalmente son administrados por varios tipos celulares, Monocitos, macrófagos, Adipocitos, células Beta del páncreas y células endoteliales que determinan una estrategia importante en el desarrollo de dichas enfermedades y que también tienen la posibilidad de recuperar el equilibrio perdido y normalizar el desequilibrio.

Éstas células poseen receptores de membranas para AGEs y AntiAGEs.

Receptores de membrana RAGE Y AGER

RAGE : Receptor para AGEs .

AGER1 : Eliminador de compuestos finales de Glicación proteica, también conocido como Antireceptor de AGEs, antioxidante, protector de Estrés Óxidativo y antiguamente se conocía como DDOST.

MONOCITOS Y MACRÓFAGOS

Son éstas células plasmáticas, importantísimas en el papel de equilibrio de ambas enfermedades, tanto por desequilibrar el balance Óxidativo, como para alterar la respuesta defensiva del huésped.

Poseen en la membrana receptores tanto para AGEs como para lipopolisacáridos de bacterias Gram – (TLR4 , implicado en la agresión de determinadas Periodontitis por G - , (82) , (83) .

Los receptores para AGEs son de dos tipos, por un lado está el AGER1, conocido como anti receptor, o eliminador de AGEs, protector de E.O., Antioxidante y antiinflamatorio, y antiguamente se conocía como DDOST. Los niveles de AGER1 están tomados en conjunto y se relacionan con los niveles intracelulares de otros sistemas Anti-oxidants (SIRT1, NamPT, SOD2, GSH) y negativamente relacionados con los sistemas Pro-oxidantes (RAGE, NADPH oxidasa, p66shc) (84).

Por otro lado está el receptor RAGE, que recoge todos los compuestos AGEs y se conoce como receptor que genera E.O., inflamación, aumento de TLR4, aumento de FOXO (fosforilación Óxidativo), supresión de NADPH y depleción de Sirtuinas.

La defensa inmunológica celular, puede usar, bien la vía de la Endocitosis, bien la vía de los receptores anti-AGEs para defenderse del E.O..

El daño Óxidativo se produce por diferentes rutas:

.- Por activación ROS, que suprimen la NAD⁺, que a su vez disminuyen SIRT1

.-Por disminución de SIRT1 se induce NFKBp65, hiperacetilacion y daño en la transcripción nuclear de ciertas proteínas.

.- Formación de TNF α , que reactiva retro feedback ROS y AGEs

NOTA: Pero éste balance entre AGER1 y AGEs, se puede Autoregular mediante la normalización extra celular de los niveles y producción de AGEs, niveles de azúcares en sangre y el control intramitocondrial de ROS .

ADIPOCITO /CÉLULA SENSITIVA A INSULINA

Son los adipocitos del tejido adiposo desarrollados en la infancia, junto a otras células sensibles a la Insulina, quienes pueden administrar los productos finales de la Glicación de los Azúcares, controlados por los receptores de membranas AGER1, y por las enzimas que suprimen o disminuyen ROS (SOD2, Superóxido-dismutasa), y por los receptores dependientes para la función-regulación de la Insulina (SIRT1).

CÉLULAS BETA PANCREÁTICA

AGEs perjudican por diferentes vías patogénicas la producción de Insulina:

.- Por inducción de iNOS (inducción de la enzima óxido nítrico sintasa), a través de la enzima óxido-sintasa del óxido nítrico, y generando ROS a nivel intramitocondrial

.- Alterando la cadena de transporte de electrones y disminuyendo ATP, por la enzima Citocromo-oxidasa.

.- Por disminución génica de la Insulina y el receptor para SIRTUIN 1, que a su vez bloquea a UCP2 (falta de acoplamiento a proteína de la membrana mitocondrial) .

.- Por daño a nivel de la membrana celular, por bloqueo de iones Ca²⁺ y K⁺, con entrada de Calcio intracelular y salida de Potasio al exterior.

.- El daño en la membrana celular tiene un reconocimiento anormal por células Linfocitos T y Macrófagos, que determinan una Citotóxicidad celular con Apóptosis y muerte; o bien sin Apóptosis, inflamación y muerte celular.

Pero al igual que en las células (Monocitos y Macrófagos), los receptores AGER 1, pueden neutralizar a los AGEs, mejorar el balance ROS, aumentar la expresión de **SIRTUINAS 1**, y regular la secreción de Insulina. Es únicamente una situación mantenida (ej: Diabetes Crónica Descompensada / Periodontitis Crónica), la que agota los niveles de AGER1 y conlleva destrucción de células beta del páncreas (82).

Ésta situación ha sido comprobada en células pancreáticas en ratones (HOFMANN 2002) donde se comprueba la capacidad de auto regulación celular, siempre que el daño Oxidativo no se mantenga durante un espacio de tiempo largo (84).

Como conclusión los productos AGEs, no solo alteran la producción de Insulina, sino que también alteran la sensibilidad de la misma. Y es el estado de oxidación-reducción celular el que modifica la expresión final de dicha proteína f.

FUNCIÓN MITOCONDRIAL

El concepto de que la función mitocondrial se encuentra disminuida en los pacientes con Estrés ÓXIDATIVO de ambas enfermedades, y también disminuyendo con la evolución del ciclo vital con el paso de los años, es una realidad . Y es precisamente en la cadena de transporte de electrones.

Estudios recientes han proporcionado evidencia para apoyar la hipótesis de que la regulación de las respuestas al estrés mitocondrial contribuyen a una mayor control en el equilibrio de dichas funciones mitocondriales (85),(86),(87) . Siendo éstas **respuestas al estrés:**

- .- Aumento de volumen mitocondrial

- .- Alteración y regulación del número mitocondrial

- .- despliegamiento de la proteína mitocondrial (UDP mt)

- .- Señalización retrógrada anormal

Comprometiendo todo lo anterior la función mitocondrial ante un **Estrés Óxidativo mantenido** y acumulando proteínas dañadas, con la reducción de la Fosforilación Óxidativa, aumento de ROS e inducción a la Apoptosis y muerte celular programada

Como resultado, el mantenimiento de las respuestas de estrés mitocondriales ha ganado reconocimiento como un potencial mecanismo pro-longevidad en el campo de envejecimiento. El mecanismo de entendimiento de las rutas moleculares al estrés ÓXIDATIVO puede conducir a conocer la clave para prevenir las enfermedades asociadas a la Periodontitis crónica y diabetes, al mismo indicar pueden coexistir con otras patologías crónicas como arteriosclerosis y enfermedades neurodegenerativas.

La mitocondria es un orgánulo de probable origen endosimbiótico que se ha adaptado a su nicho intracelular para aumentar su tasa de replicación y asegurar la transmisión a las células hijas después de cada división mitótica. El genoma de las mitocondrias de mamíferos se ha ido reduciendo de tamaño hasta alcanzar las 16.569 kb en el caso del genoma mitocondrial humano. Las mitocondrias son las verdaderas centrales térmicas de nuestro organismo ya que en ellas tiene lugar la fosforilación Óxidativa (OXPHOS), es decir, la respiración celular acoplada a la producción de energía en forma de ATP. El funcionamiento del sistema OXPHOS tiene, además, importancia médica por la generación de especies reactivas de O₂ (Reactive Oxygen Species, ROS) y por la regulación de la muerte celular programada o apoptosis. Las proteínas incluidas en el OXPHOS se localizan dentro de la membrana mitocondrial interna, e **incluyen**:

- * Componentes de la cadena transportadora de electrones (Cadena respiratoria mitocondrial, CRM).

- * ATPasa de membrana.

- * Translocador de nucleótidos de Adenina (ANT).

El ADNmt humano es una molécula circular de 16.569 pares de bases. El número de moléculas de ADNmt por célula varía entre unos pocos cientos en los espermatozoides a unas 200.000 copias en el oocito, pero en la mayor parte de los tejidos el rango está comprendido entre unas 1.000 y 10.000 copias por célula, con 2 - 10 moléculas de ADN por mitocondria. Este genoma contiene información para 37 genes:

Genes que codifican las 2 subunidades 12S y 16S del ARNr (ARN ribosomal) de la matriz mitocondrial.

Los genes para los 22 ARNt (ARN transferente), requeridos para la síntesis de proteínas mitocondriales en la misma matriz mitocondrial.

Genes que codifican 13 polipéptidos que forman parte de los complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS. En concreto, en el genoma mitocondrial se codifican 7 subunidades

del Complejo I, 1 subunidad del Complejo III, 3 subunidades del Complejo IV, y 2 subunidades de la ATPasa (Complejo V).

La mitocondria se conoce como el orgánulo celular encargado de administrar, controlar y crear la fuente de energía en la célula. En el interior celular se metabolizan los ácidos grasos del tejido adiposo, hidratos de carbono y otras biomoléculas (piruvato, productos derivados del metabolismo de la glucosa, aminoácidos).

Por otra parte existen unos metabolitos que actúan como sensores mitocondriales y controlan la capacidad Redox celular en determinados momentos de la homeostasis. De entre éstos sensores, los más representativos están: NAD⁺, NADH, ATP, Ca²⁺, Cuerpos cetónicos y Acetil-Co A.

Al mismo tiempo, es el espacio ínter membrana mitocondrial y en la membrana interna donde se realiza la respiración celular, a través del Complejo Mitocondrial, el transporte de electrones y protones, con el principal objetivo de crear ATP (BULLÓN (27), desarrollando el proceso OXPHOS (Fosforilación Óxidativa). Y es aquí, en éste complejo donde se mantiene el estado Redox (oxidación – reducción) celular.

Periodontitis crónica

Cierto es que existe un fenómeno inflamatorio en los seres vivos para defenderse de los procesos agresivos, como puede ser una colonización por determinados gérmenes, en especial, si existe una susceptibilidad en el huésped, que pueda ser determinada por inmunidad innata o adquirida. Y también es cierto que ésta inflamación puede tomar un carácter más o menos agresivo, que en definitiva resuelva o incremente dicha respuesta defensiva en los diferentes tejidos celulares.

El E.O. necesario para la defensa del huésped, poniendo en marcha el mecanismo inflamatorio, puede volverse en contra del mismo, y parece ser ésta la puesta en marcha en

la Periodontitis crónica. En el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad Periodontal intervienen bien la respuesta local, bien la respuesta humoral (homeostasis con liberación de citoquinas y productos que perpetúan y retroalimentan el E. O. con ROS).

La respuesta local, en la que intervienen las estructuras del Periodonto y las células relacionadas con el mismo, junto a los PMN, que intervienen en la respuesta de agresión frente a ciertas bacterias, con su mecanismo de endocitosis, los que engloban y luchan contra las bacterias periodontopatógenas mediante la liberación de ROS, eliminando a dichos patógenos, y es en caso de perpetuación de la lucha, la que se vuelve en contra del huésped y acaba ocasionando pérdida de hueso alveolar (88).

También en la respuesta defensiva y a través del torrente circulatorio, los **MONOCITOS** y **MACRÓFAGOS**, sensibilizados por el contacto del huésped con ciertos **LIPOSACARIDOS** bacterianos, pueden desequilibrar el balance o equilibrio entre oxidantes/antioxidantes, con llevando un estado inflamatorio y perpetuando un estado alterado en la oxidación-reducción celular .

En el vínculo de unión entre una respuesta normal y una respuesta descompensada puede estar en el equilibrio del estado Óxidativo intracelular (Potencial Redox), en todas las células que integran el tejido periodontal y los PMN del torrente circulatorio . Ésta situación al persistir, ocasiona liberación de citoquinas circulantes y perpetuación del factor inflamatorio. Y en éste vínculo se encuentra el potencial de regulación y administración mitocondrial, donde se observa en casos de Periodontitis crónica agresivas, disminución de crestas mitocondriales, hinchazón mitocondrial y aumento de metabolitos que determinan incremento de Oxidación del ADN celular y mitocondrial, y también en el fluido crevicular se ha podido determinar junto a la disminución de la Capacidad total antioxidante de la saliva (89).

También se comprueba una implicación a nivel del endotelio vascular periodontal, por la actuación de las Oxidasas de la NADP, con modificaciones en el interior de la célula endotelial y a nivel de las uniones íter celulares, con liberación y daño en sus membranas

celulares, siendo ésta situación, motivo y puerta de asociación del E.O. con otras patologías como arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y diabetes.

Y si bien ésta implicación de las oxidasas anima a incorporar la administración de inhibidores de las mismas, ya que se conocen varias isoenzimas, el manejo con ratones, administrándoles dichos inhibidores no han mostrado ninguna mejoría sobre el E.O. desarrollado. Al igual que tampoco se muestra mejoría cuando se administra un tratamiento con antioxidantes. Es por ello que existe un intrincado mecanismo de regulación, control y desequilibrio en la interconexión intracelular (mitocondrial, del citosol, o del núcleo) y extra celular representada por la homeostasis y los múltiples receptores de membrana celular (receptores, agonistas, anti agonistas, poros) .Aunque ya está demostrado que en la respuesta positiva al tratamiento Periodontal con raspado y alisado, sobre todo cuando existe un gran compromiso del endotelio vascular, en los casos favorables, el endotelio vascular a los 6 meses está rehabilitado (90) .

Y como por su puesto el factor susceptibilidad tiene que estar presente en la Periodontitis crónica, determinados biotipos genéticos deben estar presente, bien en la predisposición a defenderse, bien en determinados biotipo microbiológico ante gérmenes periodontopatógenos (caso de Porfiromonas gingivales), donde en estudios de fibroblastos gingivales se observan mitocondrial anormales, aumento de ROS y mutaciones en ADN mitocondrial (91) .

Otro parámetro indicativo de E.O. en éste caso en ratas, se comprueba el exceso de 8-hidroxi-guanosina, marcador oxidante que indica daño celular, sobre todo en tejido Periodontal de ratas sometidas a dietas ricas en grasas para originarle ROS, y comprobando también una tasa de antioxidante GLUTATIÓN bajo (92) .

También la inflamación puesta en marcha por la señalización de fibroblastos adyacentes a la adventicia de los vasos endoteliales sufren ROS por la señalización de los PMN, que acuden en la respuesta intrusiva de los periodontopatógenos y pueden Servir como una

señal directa quimiotáctica para los leucocitos aumentando otra molécula quimiotáctica, la MCP-1 (78).

Diabetes tipo 2

La principal manifestación en la diabetes es el aumento circulante de tasas alta de Glucosa y una resistencia a la Insulina que en algunos casos ya mantenidos acaba determinando también, disminución en la producción de Insulina.

El Estrés Óxidativo en ésta enfermedad está incrementado y son los productos AGEs los más involucrados, como en otras enfermedades crónicas inflamatorias quienes determinan junto a la susceptibilidad del huésped un deterioro a nivel mitocondrial, con fenómenos de autofagia y mitofagia mitocondrial en el páncreas. Y éste proceso afecta a la sensibilidad de la Insulina.

Éstos AGEs, interfieren retroalimentando por la formación de ROS, la resistencia a la insulina, no pudiendo a veces saber si es la causa o el desencadenante del E. O. en la diabetes (84).

Y al igual que otros procesos inflamatorios, un determinado E.O. que genere ROS a nivel celular es imprescindible para un correcto mantenimiento en toda la homeostasis y como señalización y comunicación intracelular para creación de energía en forma de ATP y biosíntesis. Pero son los casos de excesiva formación de ROS y radicales libres los que disminuyen la capacidad antioxidante en los tejidos y la descompensación de la diabetes.

Los estudios de las arterias coronarias de cerdos diabéticos han demostrado que los aumentos inducidos por la diabetes en la actividad de la NADPH oxidasa están acompañados de regulación de las citoquinas inflamatorias (IL-6 y TNF-a), quimiocinas (proteína 1 quimiotáctica de monocitos [MCP-1]) y moléculas adhesivas vascular celular (VCAM-1), proporcionando un mayor apoyo para el papel de la NADPH oxidasa en la

inflamación vascular (95). Además, NADPH oxidasas, a través de la sobreproducción de anión superóxido O_2^- parece mediar en la expresión y liberación de quimiocinas en ratones y en la activación de células T normales expresadas y secretada (RANTES), esencial para el reclutamiento de leucocitos a la pared vascular (94).

La diabetes está asociada con una variedad de anormalidades metabólicas, tales como resistencia a la insulina y la hiperglucemia. Sin embargo, las complicaciones cardiovasculares son la causa principal de mortalidad en pacientes diabéticos. ROS generado durante la hiperglucemia están implicados en el desarrollo de la disfunción endotelial y la progresión de las complicaciones vasculares diabéticas. La disfunción endotelial se caracteriza por aumento de generación de ROS por las oxidasas dependiente de NADPH y está demostrado en modelos animales con diabetes y en pacientes con diabetes (73).

La hiperglucemia aumenta la expresión de la NADPH oxidasa, los niveles de marcadores de estrés Óxidativo, y la apoptosis (73), de las células endoteliales humanas en relación con el aumento de expresión de la subunidad NADPH oxidasa (por ejemplo, p22phox y p47phox) .

Ang II es también involucrados en la activación de NADPH oxidasas vasculares en la diabetes. La activación de la NADPH oxidasa mediada por el receptor AT1 parece contribuir a la resistencia a la insulina vascular, disfunción endotelial, apoptosis, y la inflamación demostradas en ratas (74).

En consecuencia, NADPH oxidasas vasculares han surgido como dianas potencialmente importantes que contribuyen a la patogénesis de complicaciones cardiovasculares a largo plazo de la diabetes.

Independientemente del Estrés Óxidativo celular, en éstas dos enfermedades crónicas, pueden coexistir, como he expresado anteriormente, un **fenómeno en el endotelio vascular**, con **lesión endotelial** e **incremento de ROS**, siendo ésta, una asociación de

máxima gravedad, con repercusión renal agresiva y en la actualidad se le está definiendo como la sexta complicación de la diabetes tipo 2.

EN LOS CASOS DE ASOCIACIÓN ENTRE PERIODONTITIS Y DIABETES TIPO2, EL E.O. AUMENTA LA PÉRDIDA DE HUESO ALVEOLAR DE FORMA MUCHO MÁS RÁPIDA (95).

PUNTOS EN COMÚN EN E.O. PERIODONTITIS-DIABETES 2

Pueden existir por sí solo, mecanismos en ambas patologías, que puedan llevar a un desequilibrio en el balance entre oxidantes-antioxidantes.

Y quizás un vínculo en común pueda encontrarse en las oxidasas del endotelio vascular. Ya en ambas enfermedades se origina un aumento de especies reactivas del oxígeno, bien por mecanismo defensivo (caso de periodontopatógenos y PMNs), bien por mecanismo metabólico (con aumento de AGEs), en procesos descompensada en diabetes2.

Y son las oxidasas expresadas en el endotelio vascular, fibroblastos, células infiltrantes y células del músculo liso (SMCs), las que tienen un comportamiento diferente, ya sea en respuesta un mecanismo agudo, o a una cronicidad ante estímulos de ciertas citoquinas (68,69,70,71,72).

CONCLUSIONES

La diabetes tipo 2 descontrolada, favorece la EP

Ambas enfermedades pueden coexistir por disminución de la capacidad total oxidante

La disminución de la SOD favorece el estrés Óxidativo

La concentración de Malondialdehído aumentada indica aumento de estrés Óxidativo

La concentración de la Capacidad Antioxidante de la saliva disminuida, favorece el estrés Óxidativo.

Ambas enfermedades pueden favorecer la aterosclerosis

Existe un aumento de afectación cerebral en los casos graves

Los casos de diabetes con Macro albuminuria intensa y Periodontitis severa, se asocian con mayor mortalidad Cardio-Renal .

Es muy importante una vez diagnóstica la diabetes, una coordinación estricta entre el médico de cabecera y el departamento dental, para la prevención de la Periodontitis.

En la Periodontitis crónica descompensada con aumento del estrés Óxidativo **No** es necesario que exista placa dental.

El E.O. celular es necesario para el mantenimiento de la homeostasis en el organismo para un correcto funcionamiento, pero cuando se genera en Exceso o se mantiene durante largo tiempo, acaba siendo perjudicial.

ABREVIATURAS

MEDIADORES INFLAMATORIOS

AGEs.	Acumulation Glycation End
PK C.	Proteín Kinasa C
IL-1beta.	Interlukina beta
TNF-alfa	Tumoral Necrosis Fachor
MMPs.	Matrix Metalloproteinase
PGE2.	Prostaglandin E2
LTB4	Leucotrien 4
LXA4.	Lipoxin A4
LPS.	Lipopolisacáridos
LOS.	Lipo-oligosacáridos
ATL-alpha.	Aspirin Triggered Lipoxin alpha
CRP.	Proteínas C reactive

ATP.	Adenosin Trifosfato
ATFS-1.	Activators Transcripción Factor
CPI.	Community Periodontal Índice
CPITN.	Community Periodontal International Treatment Need
HGF.	Hepaticyte Growth Factor
EGF.	Epithelial Growth Factor
TGF.	Transformate Growth Factor
EP.	Enfermedad Periodontal
MTS.	Mitochondrial Targetin Signal
NADH.	Nicotina Adenina Deshidrogenasa
NET.	Neutrophyl extra celular trampas

NHANES.	National Health and Nutrition Examination Survey
PMN.	Polimorpho Nuclear Neutrophyl
ROS.	Reactive Oxygen Specys
RANKL.	Receptor Activator of Nuclear Facthor KBLigand
EGFR.	Epidermal Growth Factor Receptor
MAPK p 38.	Mitogeno Activator Proteína Kinasa
INVEST.	Oral Infections and Vascular disease Epidemiology study
iNOS.	Inducción Nitrógeno Oxidative Species
PDGF.	Platelet derivates Growth Factor
PLA2.	Fosfolipasa A ₂
RANTES.	Regulares on Activation , Normal T cell expressed and Secreted
SCFAS.	Short-Chain Fatty Acids
SMCs.	Células músculo liso
UCP2.	Uncloping Proteín 2
UPRmt.	Unfolded Protein Response MITOCHONDRIAL

METABOLITOS MITOCONDRIALES

NAD⁺

NADH

ATP

Ca²⁺

ROS

Cuerpos Cetónicos

Acetil-CoA

TABLA Y ALGORITMOS

EVIDENCIA CIENTÍFICA ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y PERIODONTITIS

106

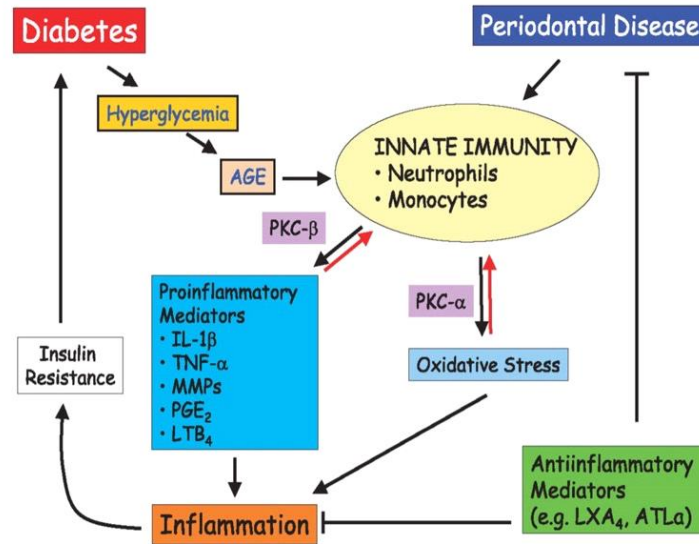
TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol.

Vol. 7, No. 2

Autor-año	Tipo de estudio	Universo de estudio	Finalidad	Variables	Técnicas	Hallazgos
Chapple, <i>et al.</i> , 1997 ¹⁴	Revisión	Humanos	Revisar la intervención de los radicales libres (RL) en el daño al tejido y los mecanismos de defensa antioxidantes en las enfermedades inflamatorias similares a la enfermedad periodontal (EP).	Especies reactivas de oxígeno (EROs) Antioxidantes EP	Investigación Documental	Se resaltan los reportes respecto a los efectos benéficos de los antioxidantes sobre las enfermedades inflamatorias crónicas.
Shapira, <i>et al.</i> , 2000 ²²	Experimental	Ratones	Evaluar la asociación del estrés psicológico sobre la producción de NO y EP.	Estrés psicol. Corticosterona NO	Técnicas bioquímicas	El estrés experimentado, modula la respuesta de los macrófagos proinflamatorios y, por lo tanto, está involucrado con el EP.
Gülçay, <i>et al.</i> , 2001 ²³	Experimental	Humanos	Evaluar la relación entre la concentración de IL-1 α crevicular y los niveles de lipopolisacáridos en pacientes con periodontitis, y el efecto de la terapia periodontal, Fase I.	Interleucina 1 β (IL-1 β) Lipoperóxidos EP	TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substance)	Hay una correlación entre los niveles IL-1 α y los lipoperóxidos, con la periodontitis.
Skaleric, <i>et al.</i> , 2000 ²⁴	Experimental	Humanos	Evaluar si algunos componentes bacteriales y citocinas inducen la liberación de superóxido y SOD en fibroblastos gingivales.	O ₂ ⁻ (ion superóxido) SOD (Enzima superóxido dismutasa) Citocinas	Técnicas bioquímicas	Los componentes de las células bacterianas y citocinas modulan la liberación de O ₂ ⁻ y SOD por los fibroblastos gingivales, de modo que aunque se produce cierta cantidad de SOD, no es suficiente para contrarrestar el efecto nocivo del radical O ₂ ⁻ , lo cual contribuye a la generación de la EP.
Battino, <i>et al.</i> , 1999 ¹⁵	Revisión	Humanos	Una revisión, en particular sobre las implicaciones de la aplicación de la terapia antioxidante en la EP. Nomenclatura, mecanismos de acción y fuentes de los RL más comunes y las EROs, así como, analizar el daño oxidativo.	EP RL Antioxidantes	Investigación documental	Hay evidencias que apoyan la propuesta del uso de antioxidantes con fines preventivos o terapéuticos para la EP.
Fredriksson, <i>et al.</i> , 1999 ²⁵	Observacional	Humanos	Comparar los efectos sistémicos de la EP y el tabaquismo, por separado y en combinación para el estudio de la hiperreactividad de los neutrófilos periféricos.	EP RL Tabaquismo PCR/ IgG	Quimioluminiscencia	Los pacientes con periodontitis tienen niveles más elevados de PCR (proteína "C" reactiva) y los sujetos fumadores niveles disminuidos de IgG. El tabaquismo disminuye la concentración de la IgG, esto altera la función de los neutrófilos y favorece la EP. El efecto de la EP sobre PCR y la IgG significa que las lesiones periodontales pueden inducir a los neutrófilos a liberar mayores cantidades de RL.

Cuadro Ib. Evidencias científicas respecto a la relación del EOx y EP.

RELACIÓN-PERIODONTITIS-DIABETES-ESTRÉS ÓXIDATIVO (96).



Ruta Patogénica de la interrelación diabetes –Periodontitis – estrés oxidativo

Tomado de : HAMDY NASSAR : Diabetic periodontitis: a model for activated innate immunity and impaired resolution of inflamación Periodontol 2000. 2007 ; 43: 233–244.

TOMADO DE PERIODONTOL 2000. 2007; 4:233-244. (97).

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Epidemiology of Periodontal Diseases, J Periodontol 2000; 76: 1406-1419.
- [2] Tonetti MS, Van Dyke TE and on behalf of working group 1 of the joint EFP/ AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. J. Clin Periodontol 2013; 40: 24–29.
- [3]. Mealey BL, Oates TW. The American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. J Periodontol 2006; 77: 1289–1303.
- [4] Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. J Dent Res 2010; 89: 1241–1246.
- [5] Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. Crit Rev Oral Biol Med 1999; 10: 458–476.
- [6] M. Karima, A. Kantarci, T Ohira, H. Hasturk, V. L. Jones, B-H. N, Malabanan P. C. Trackman J. A. Badwey and T. E. Van Dyke: Enhanced superoxide release and elevated protein kinase C activity in neutrophils from diabetic patients: association with periodontitis. J Leukoc Biol. 2005; 78: 862–870.
- [7] Bioquímica médica básica de Marks & Lieberman. Philadelphia. 2013; Cap. 24.
- [8] Bullon P., Newman & Battino M.: Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction? Periodontology 2000, 2014; 64:139–153.
- [9]. Baelum V, Chen X, Manji F, Luan W-M, Fejerskov O. Profiles of destructive periodontal disease in different populations. J Periodontol 1996; 31: 17–26.
- [10] Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. J Clin Periodontol 2009; 36: 458–467.

- [11] World Health Organization. Oral health surveys: basic methods, 4th ed. Geneva: World Health Organization, 1997.
- [12] World Health Organization Collaborating Center. Oral Health. Periodontal Country Profiles [WWW document]. World Health Organization Collaborating Center Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Japan.
- [13] Llodra Calvo JC, Encuesta de salud oral en España 2010. España 2010. Rcoe, 2012; 17: 13-41.
- [14] Consolaro A. In adults: 47.2% have periodontitis! How about in orthodontic patients? Dental Press J Orthod. 2013; 18: 3-5.
- [15] Patel R, The State of Oral Health in Europe, 2012. URL <http://www.oralHealththeplataforma.eu/sites/default/files/files/document>.
- [16] Straja M, Pregnancy and periodontal tissues. Neur Endocr Lett.. (2011); 32: 34-8.
- [17] Xie Y, Xiong X, Elkind-Hirsch KE, Pridjian G, Maney P, Delarosa RL, Buekens P. Change of periodontal disease status during and after pregnancy. J Periodontol. 2013; 84: 725-31.
- [18] Bobetsis YA1, Barros SP, Offenbacher S. Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. J Am Dent Assoc. 2006; 137 Suppl:7S-13S.
- [19] Perk J., De Backer G., Gohlke H. et al: European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur Heart J. 2012; 33: 1635-701.
- [20]. Baelum V, Chen X, Manji F, Luan W-M, Fejerskov O. Profiles of destructive periodontal disease in different populations. J Periodontol Res 1996; 31: 17-26.
- [21] Kumar S, Dagli RJ, Dhanni, Duraiswamy P. Relationship of Body Mass Index with periodontal health status of green marble mine laborers in Kesariyaji, India, Braz Oral Res. 2009; 23: 365-9

[22] Michael J. LaMonte, Kathleen M. Hovey, Robert J. Genco, Amy E. Millen, Maurizio Trevisan, Jean Wactawski-Wende. Five-Year Changes in Periodontal Disease Measures Among Postmenopausal Females: The Buffalo OsteoPerio Study. *J Periodontol* 2013; 84: 572-584.

[23]] P. D. Marsh, A. Moter, and D. A. Devine: Dental plaque bio- films: communities, conflict and control. *Periodontology* 2000, 2011; 55: 16-35.

[24] P. M. Preshaw, A. L. Alba, D. Herrera et al.:Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 2012; 55: 21–31.

[25] P. M. Preshaw and J. J. Taylor: How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2011; 38: 60–84.

[26] Seventh European Workshop on Periodontology. 2011.

KinaneDF,PreshawPM,LoosBG(2011)Host response:under standing the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2011; 38: 44–48.

[27] Bullon P, Cordero MD, Quiles JL, Morillo JM, Ramirez-Tortosa MD, Battino M. Mitochondrial dysfunction promoted by Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide as a possible link between cardiovascular disease and periodontitis. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 1336–1343.

[28] T.Nagasawa,M.Kiji,R.Yashiroetal.: Rolesofreceptoractiva- tor of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontology* 2000, 2007; 43: 65–84.

[29] A. R. Hannas, J. C. Pereira, J. M. Granjeiro, and L. Tjäderhane, Theroleofmatrixmetalloproteinasesintheoralenvironment. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2007; 65: 1–13.

[30] D. F. Kinane, I. B. Darby, S. Said et al.: Changes in gingi- val crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *Journal of Periodontal Research*, 2003; 38: 400–404.

[31] T.A.Silva,G.P.Garlet,S.Y.Fukada,J.S.Silva,andF.Q.Cunha. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *J. of Dental Research*, 2007. 86: 306–319.

[32]P. M.Bartold and A. S. Narayanan. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontology* 2000, 2006; 40: 29–49.

- [33] O. V. Horst, K. A. Tompkins, S. R. Coats, P. H. Braham, R. P. Darveau, and B. A. Dale, TGF- β 1 inhibits TLR-mediated odontoblast responses to oral bacteria. *J. of Dental Research*, 2009; 88: 333–338.
- [34] I John J. Taylor. Proteína Biomarkers of Periodontitis in Saliva. Review Article . *ISRN Inflammation* Volume 2014, Article ID 593151.
- [35] Anatomía de los tejidos periodontales .Periodoncia clínica e implantología odontológica. 5ed. Madrid ed. Panamericana; 2009;3-49.
- [36] Mealey BL, Oates TW. The American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol* 2006; 77: 1289–1303.
- [37] White MF. Insulin signaling in health and disease. *Science* 2003; 302: 1710–1711.
- [38] White MF. Regulating insulin signaling and beta-cell function through IRS proteins. *Can J Physiol Pharmacol* 2006; 84: 725–737.
- [39] Lin RS, Lee WC, Lee YT, Chou P, Fu CC. Maternal role in type 2 diabetes mellitus: indirect evidence for a mitochondrial inheritance. *Int J Epidemiol* 1994; 23: 886–890.
- [40] Lowell BB, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 2005; 307: 384–387.
- [41] Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2944–2950.
- [42] Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N. Engl J. Med.* 2004; 350: 664–671.
- [43] Rosen P, Nawroth PP, King G, Moller W, Tritschler HJ, Packer L. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabet. Metab. Res Rev* 2001; 17: 189–212.
- [44] Wang PW, Lin TK, Weng SW, Liou CW. Mitochondrial DNA variants in the pathogenesis of type 2 diabetes relevance of asian population studies. *Rev Diabet Stud* 2009; 6: 237–246.

[45] Casteels K, Ong K, Phillips D, Bendall H, Pembrey M. Mitochondrial 16189 variant, thinness at birth, and type-2 diabetes. ALSPAC study team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *Lancet* 199; 353: 1499–1500.

[46] Cheng Z, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2010; 21: 589–598.

[47] Klionsky DJ, Emr SD. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science* 2000; 290: 1717–1721.

[48] Jung HS, Lee MS. Role of autophagy in diabetes and mitochondria. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1201: 79–83.

[49] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telse J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44–84.

[50] Serradas P, Giroix MH, Saulnier C, Gangnerau MN, Borg LA, Welsh M, Portha B, Welsh N. Mitochondrial deoxyribonucleic acid content is specifically decreased in adult, but not fetal, pancreatic islets of the Goto-Kakizaki rat, a genetic model of noninsulin-dependent diabetes. *Endocrinology* 1995; 136: 5623–5631.

[51] Du Y, Miller CM, Kern TS. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 1491–1499.

[52] Lenzen S, Drinkgern J, Tiedge M. Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 463–466.

[53] Battino, P. Bullon, M. Wilson and H. Newman *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine Oxidative Injury and Inflammatory Periodontal Diseases: the Challenge of Antioxidants to Free Radicals and Reactive Oxygen Species.* 1999; 10: 458.

[54] Matthews JB, Wright HJ, Roberts A, Cooper PR, Chapple IL. Hyperactivity and reactivity of peripheral blood neutrophils in chronic periodontitis. *Clin Exp Immunol.* 2007; 147: 255–64.

[55] Sebastian Altenhöfer, Kim A. Radermacher, Pamela W.M. Kleikers, Kirstin Wingler, and Harald H.H.W. Schmidt. Significance: Oxidative stress, an excess of reactive oxygen species (ROS) production versus consumption, may be involved in the pathogenesis of different diseases. *Antioxid Redox Signal.* 2015; 23: 406-427.

- [56] David A Scott, Ph.D.1,2 and Jennifer L. Krauss, Ph.D.1 Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol.* 2012; 15:56–83. [57] Lim M, Park L, Shin G, Hong H, Shin G, Park Y. Induction of apoptosis of Beta cells of the pancreas by advanced gly- cation end-products, important mediators of chronic complications of diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1150: 311–315.
- [58] Fridovich I. The trail to superoxide dismutase. *Protein Science* 1998; 7: 2688-2690.
- [59] BB Keele Jr, JM McCord, I Fridovich (1970). Superoxide Dismutase from *Escherichia coli* B: A new manganese-containing enzyme. *J. of Biol Chem.*245.
- [60] FJ Yost Jr, I Fridovich (1973).An iron-containing superoxide dismutase from *Escherichia coli*. *J. of Biol Chem.* 248: 4905-4908.
- [61] Weisiger RA, Fridovich I (1973). "Superoxide Dismutase: Organelle specificity". *Journal of Biological Chemistry* 1973; 248: 3582–3592.
- [62] McCord JM, Fridovich I (1988). Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Radcals in Biology and Medicine.*1988; 5: 363–9.
- [63] J. M. McCord and M. A. Edeas. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biom. and Pharmacoth.* 2005; 59: 139–142.
- [64] Zhiqiang Liu, Yan Liu, Yiqing Song, Xi Zhang, Songlin Wang, Zuomin Wang. Review article: Systemic Oxidative Stress Biomarkers in Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis .2014, Article ID 931083.
- [65] David A Scott, Ph.D.1,2 and Jennifer L. Krauss, Ph.D.1 Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol.* 2012; 15: 56–83.
- [66] Munehiro Kitada, Daisuke Koya SIRT1 in Type 2 Diabetes: Mechanisms and Therapeutic Potential,review.*Diabetes Metab J.* 2013; 37: 315-325
- [67] Eric Verdin¹, Matthew D. Hirschey^{1,2}, Lydia W.S. Finley³, and Marcia C. Haigis³ . Sirtuin Regulation of Mitochondria - Energy Production, Apoptosis, and Signaling .*Trends Biochem Sci.* 2010; 35: 669–675.
- [68]. Schramm A, Matusik P, Osmenda G, Guzik TJ. Targeting NADPH oxidases in vascular pharmacology.*Vascul Pharmacol.* 2012; 56: 216-31.

[69] Jansen F, Yang X, Franklin BS, Hoelscher M, Schmitz T, Bedorf J, Nickenig G, Werner N. High glucose condition increases NADPH oxidase activity in endothelial microparticles that promote vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2013; 98: 94-106.

[70] Bedard K and Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2007; 87: 245–313.

[71] Pendyala S, Usatyuk PV, Gorshkova IA, Garcia JG, and Natarajan V. Regulation of NADPH oxidase in vascular endothelium: the role of phospholipases, protein kinases, and cytoskeletal proteins. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11: 841–860.

[72] Anna Konior,¹ Agata Schramm,¹ Marta Czesnikiewicz-Guzik,^{1,2} and Tomasz J. Guzik^{1,2}. NADPH Oxidases in Vascular Pathology. *Antiox. & Redox Signal.* 2014; 20.

[73] Quagliario L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, Zuodar G, and Ceriello A. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production. *Atherosclerosis.* 2005; 183: 259–267.

[74] Wei Y, Whaley-Connell AT, Chen K, Habibi J, Uptergrove GM, Clark SE, Stump CS, Ferrario CM, and Sowers JR. NADPH oxidase contributes to vascular inflammation, insulin resistance, and remodeling in the transgenic (mRen2) rat. *Hypertension.* 2007; 50: 384–391.

[75] Harrison DG, Guzik TJ, Lob HE, Madhur MS, Marvar PJ, Thabet SR, Vinh A, and Weyand CM. Inflammation, immunity, and hypertension. *Hypertension.* 2011; 57: 132–140.

[76] Vinh A, Chen W, Blinder Y, Weiss D, Taylor WR, Goronzy JJ, Weyand CM, Harrison DG, and Guzik TJ. Inhibition and genetic ablation of the B7/CD28 T-cell costimulation axis prevents experimental hypertension. *Circulation.* 2010; 122: 2529–2537.

[77] Zimmerman MC, Lazartigues E, Lang JA, Sinnayah P, Ahmad IM, Spitz DR, and Davisson RL. Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system. *Circ Res.* 2002; 91: 1038–1045.

[78] Wung BS, Cheng JJ, Hsieh HJ, Shyy YJ, and Wang DL. Cyclic strain-induced monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in endothelial cells involves reactive oxygen species activation of activator protein 1. *Circ Res.* 1997; 81: 1–7.

[79] Liu J, Yang F, Yang XP, Jankowski M, and Pagano PJ. NAD(P)H oxidase mediates angiotensin II-induced vascular macrophage infiltration and medial hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 776–782.

- [80] Ullevig S, Zhao Q, Lee CF, Seok Kim H, Zamora D, and Asmis R. NADPH oxidase 4 mediates monocyte priming and accelerated chemotaxis induced by metabolic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* .2012; 32: 415–426.
- [81] Takac I, Schroder K, and Brandes RP. The nox family of NADPH oxidases: friend or foe of the vascular system? *Curr Hypertens Rep*. 2012; 14: 70–78.
- [82] Helen Vlassara, MD^{1,2} and Jaime Uribarri, MD². Advanced Glycation End Products (AGE) and Diabetes: Cause, Effect, or Both?. *Curr Diab Rep*. 2014; 14:453. doi:10.1007/s11892-013-0453-1.
- [83] Cai W, Torreggiani M, Zhu L, Chen X, He JC, Striker GE, Vlassara H. AGER1 regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC-delta: implications for vascular disease. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010; 298: C624–32.
- [84] Hofmann SM, Dong HJ, Li Z, Cai W, Altomonte J, Thung SN, Zeng F, Fisher EA, Vlassara H. Improved insulin sensitivity is associated with restricted intake of dietary glycoxidation products in the db/db mouse. *Diabetes*. 2002; 51: 2082–2089.
- [85] J. Durieux, S. Wolff, A. Dillin, The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity, *Cell*. 2011:79–91.
- [86] D.A. Pulliam, S.S. Deepa, Y. Liu, S. Hill, A.L. Lin, A. Bhattacharya, Y. Shi, L. Sloane, C. Viscomi, M. Zeviani, Complex IV deficient *Surf1* / mice initiate mitochondrial stress responses, *Biochemical Journal* (2014).
- [87] P.A. Kirchman, S. Kim, C.Y. Lai, S.M. Jazwinski, Interorganelle signaling is a determinant of longevity in *Saccharomyces cerevisiae*, *Genetics* 1999; 152: 179–190.
- [88] M. Karima*, A. Kantarci*, T. Ohira*,†, H. Hasturk*, V. L. Jones*, B-H. Nam‡, A. Malabanan§, P. C. Trackman*,¶, J. A. Badwey†,1, and T. E. Van Dyke*,2. Enhanced superoxide release and elevated protein kinase C activity in neutrophils from diabetic patients: association with periodontitis. *J. Leukoc Biol*. 2005 ; 78: 862–870.
- [89] Canakci CF, Tatar A, Canakci V, Cicek Y, Oztas S, Orbak R. New evidence of permutaré oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingival tissue of patients with periodontitis. *J Periodontol* 2006; 77: 1894–1900.
- [90] Tonetti MS, D'Áiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J med* 2007; 356: 911–920.

[91] Govindaraj P, Khan NA, Gopalakrishna P, Chandra RV, Vanniarajan A, Reddy AA, Singh S, Kumaresan R, Srinivas G, Singh L, Thangaraj K. Mitochondrial dysfunction and genetic heterogeneity in chronic periodontitis. *Mitochondrion* 2011; 11: 504–512.

[92] Tomofuji T, Yamamoto T, Tamaki N, Ekuni D, Azuma T, Sanbe T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Murakami J, Koikeguchi S, Morita M. Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. *J Periodontol* 2009; 80: 1324–1329.

[93] Zhang L, Zalewski A, Liu Y, Mazurek T, Cowan S, Martin JL, Hofmann SM, Vlassara H, and Shi Y. Diabetes-induced oxidative stress and low-grade inflammation in porcine coronary arteries. *Circulation* 2003; 108: 472–478.

[94] Chan CT, Moore JP, Budzyn K, Guida E, Diep H, Vinh A, Jones ES, Widdop RE, Armitage JA, Sakkal S, Ricardo SD, Sobey CG, and Drummond GR. Reversal of vascular macrophage accumulation and hypertension by a CCR2 antagonist in deoxycorticosterone/salt-treated mice. *Hypertension* 2012; 60: 1207–1212.

[95] Ohnishi T, Bandow K, Kakimoto K, Machigashira M, Matsuyama T, Matsuguchi T. Oxidative stress causes alveolar bone loss in metabolic syndrome model mice with type 2 diabetes. *J Periodontal Res* 2009; 44: 43–51.

[96] Araceli Grizel Valdez Penagos, Víctor Manuel Mendoza Núñez. Estrés oxidativo, diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Una revisión sistemática. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 2004; 7: 103-108, Universidad Nacional Autónoma de México

[97] HAMDY NASSAR:Diabético PERIODONTITIS: A model flor activated innata immunity and impaired resolution of inflamación.*Periodontol* 2000.2007; 43: 233-244.