



UNIVERSIDAD DE CARABOBO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIRECCIÓN DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS

PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA

**FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACIÓN
DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR.**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Autor: Od. Elena V. Cangemi P.

C.I. 17093379

Bárbula, Abril 2019



UNIVERSIDAD DE CARABOBO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIRECCIÓN DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS

PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA

**FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACIÓN
DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR.**

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Trabajo de investigación presentado por Od. Elena V. Cangemi P. CI. 17.093.379, como credencial de mérito para optar al título de especialista en endodoncia del programa de Especialización en Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo.

Tutor de contenido
Prof. José F. Gómez
Od. Esp. en endodoncia
Doctor en Odontología

Autor
Cangemi P. Elena
CI. V-17.093.379

Bárbula, Abril 2019



UNIVERSIDAD DE CARABOBO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIRECCIÓN DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS

PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA

CONSTANCIA DE CULMINACIÓN DEL TUTOR DE CONTENIDO

En mi carácter de tutor de contenido del trabajo especial de grado titulado **FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACIÓN DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**, presentado por la Od. Elena V. Cangemi Perla, portadora de la Cedula de Identidad V-17.093.379, como requerimiento para optar al título de Especialista en Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, considero que dicho trabajo fue realizado bajo rigor metodológico, y reúne los requisitos y méritos suficiente para ser introducido ante la Comisión Coordinadora del programa para que le sea asignado el jurado respectivo a fin de llevar a cabo su respectiva evaluación y aprobación.

En Valencia, a los 17 días del mes de Marzo del 2019.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. F. ...', is written over a horizontal line.

Dr. José F. Gómez
C.I: V- 12.834.530
Especialista en Endodoncia, Doctor en Odontología
Tutor de contenido.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS
PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA

VEREDICTO

Quienes suscribimos, miembros del Jurado designado para la evaluación del Trabajo de Grado titulado: **FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACIÓN DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**, presentado por: Elena V. Cangemi P, titular de la Cédula de Identidad N°: 17.093.379, para optar al título de Especialista en Endodoncia, estimamos que el mismo reúne los requisitos para ser considerado como: Mérito de Grado en el programa de Endodoncia.

Nombre Apellido	C.I.	Firma
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

En Valencia a los _____ días del mes de _____ del año dos mil diecinueve.

DEDICATORIA

A TI ABUELA.....

Gracias por estar siempre a mi lado.....

AGRADECIMIENTOS

Agradezco enormemente a papá Dios por darme la oportunidad de ser parte del postgrado de endodoncia ENDOUC, tan anhelado sueño.

A mi abuela, Filomena Perla, y mi mamá, Florisa Cangemi, por estar siempre conmigo apoyándome en mis sueños.

A mi hermana Yesika y mis niñas Laura y Luz.

A mi tía Gina, siempre apoyándome.

A mi esposo, Luis Ramírez, regalo de DIOS después de haber culminado esta meta.

A ti Kare, gracias por tu amistad sincera e incondicional. Siempre juntas en la misma visión.

A todos mis compañeros del postgrado, de quienes recibí mucho apoyo y cariño en los momentos buenos y difíciles, fueron mi familia en ese momento en especial a mi Valen, amiga y hermana.

A la familia Bello, en especial a Nohe.

A mis compañeras de la residencia Ilusión.

A la Sra Emi por hacerme sentir en casa.

A mi amiga Yury, por todo su apoyo incondicional.

A mi amiga Vilmar, por toda su comprensión.

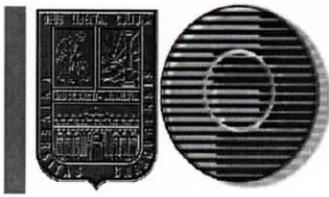
Al Dr. José Francisco Gómez por su invaluable apoyo durante la realización de este trabajo.

A la Coordinadora Dra. Liliana Jiménez por su dedicación y entrega durante todo el postgrado.

A todos los profesores que compartieron su conocimiento durante toda mi formación.

A todas esas personas que de alguna u otra manera ayudaron a que todo esto fuera posible.

¡DIOS LOS BENDIGA!



ACTA DE DISCUSION TRABAJO DE ESPECIALIZACION

En atención a lo dispuesto en los Artículos 127,128,137,138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado Designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Odontología, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo de Especialización titulado:

"FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACION DE LA ANGIOGENESIS EN EL TEJIDO PULPAR (Revisión Bibliográfica)"

Presentado para optar al grado de **ESPECIALISTA en ENDODONCIA** por el (la) aspirante:

CANGEMI P., ELENA V.
C.I. V.- 17.093.379

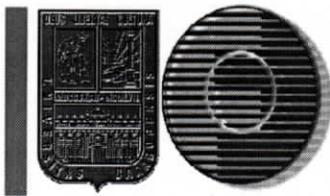
Habiendo examinado el Trabajo presentado, decidimos que el mismo está **APROBADO**.

En Valencia, a los veinticinco días del mes de Noviembre del año dos mil diecinueve.

Prof. **DORTA, DIANA**
C.I. 12606219
Fecha: 25.11.19

Prof. **FARIAS, FRANCISCO**
C.I.: 363786
Fecha: 25.11.19

Prof. **JOSE F., GOMEZ**
C.I.: 12836530
Fecha: 25/11/19



ACTA DE CONSTITUCION DE JURADO Y APROBACION DEL TRABAJO

Quienes suscriben esta Acta, Jurados del Trabajo de Grado / Especialización titulado:

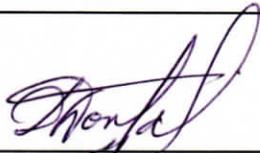
“FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACION DE LA ANGIOGENESIS EN EL TEJIDO PULPAR (Revisión Bibliográfica)”

Presentado por el (la) ciudadano (a): _____ CANGEMI P., ELENA V. _____

Titular de la cédula de identidad No. _____ 17.093.379 _____

Nos damos por **constituido** durante el día de hoy 25-11-19

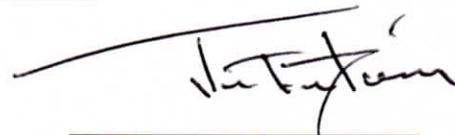
Y convenimos en **citar al alumno para la discusión de su Trabajo** el día: 25-11-19



Presidente del Jurado
DORTA DIANA
C.I. 12606219



Miembro
FARIAS FRANCISCO
C.I. 3633864



Miembro
GOMEZ, JOSE F.
C.I. 12831530

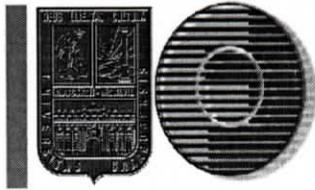
RESOLUCION

APROBADO: Fecha: 25-11-19 Observaciones _____

REPROBADO: _____ Fecha: _____

(En caso de que el Trabajo sea reprobado, se debe anexar un informe explicativo, firmado por los tres miembros del Jurado)

Nota: Esta Acta debe ser consignada en la oficina de Control de Estudios de la Facultad inmediatamente después de la constitución del Jurado y/o de tener un veredicto definitivo, debidamente firmada por los tres miembros, de manera tal, agilizar los trámites correspondientes a la elaboración del Acta de Aprobación del Trabajo.



MENCION HONORIFICA

El día de hoy, **Veinticinco (25) del mes de Noviembre del año dos mil diecinueve** a las _____ reunidos en _____, se reunió el Jurado integrado por **DORTA DIANA** titular de cedula de identidad numero 12.606.219 (en calidad de Presidente del jurado), **FARIAS FRANCISCO** titular de cedula de identidad numero 3.637.804 y **JOSE F., GOMEZ**; titular de cedula de identidad numero 12.834.530 (en calidad de miembros del Jurado) para evaluar el Trabajo Especial de Grado Titulado "**FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACION DE LA ANGIOGENESIS EN EL TEJIDO PULPAR (REVISION BIBLIOGRAFICA)**" presentado por el (la) Odontólogo **CANGEMI P., ELENA V.**, titular de la cédula de identidad No. **17.093.379**, como requisito para optar al grado de **ESPECIALISTA EN ENDODONCIA**.

Realizada como fue el caso la presentación del Trabajo Especial de Grado titulado "**FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1 (HIF-1) EN LA REGULACION DE LA ANGIOGENESIS EN EL TEJIDO PULPAR (REVISION BIBLIOGRAFICA)**" de acuerdo con el reglamento de Postgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, se da fe que el Trabajo presentado reúne los requisitos para ser **APROBADA** con **MENCION HONORIFICA**.

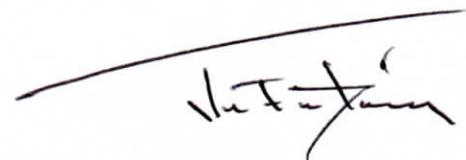
Los integrantes de este Jurado, hacemos constar que dicho Trabajo Especial de Grado, reúne plenamente, a nuestro juicio, las condiciones señaladas en los Artículos 4 y 5 de dichas normas, por cuanto satisface los criterios en ellos señalados, y en consecuencia se determina:

- 1.- La consistencia argumental del trabajo cumple las exigencias del nivel de Especialización en el cual se discute.
- 2.- Se evidencia en toda la estructura del Trabajo, el dominio de los métodos empleados que sirven de soporte al Trabajo Especial de Grado y la consolidan como una investigación de proyección científica relevante.
- 3.- El trabajo, producto de un estudio individual y con una temática original, constituye un aporte al conocimiento inédito y novedoso, lo cual amplía y satisface la Academia en la Magna Universidad de Carabobo.
- 4.- La amplitud bibliográfica y su profundidad son un autentico soporte para el discurso desarrollado y transitado por el investigador.

En Bárbula, firmamos conforme.


Prof. **DORTA, DIANA**
C.I. 12606219


Prof. **FARIAS FRANCISCO**
C.I. 3637804


Prof. **GOMEZ, JOSE F.**
C.I. 12834530



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCION DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS
PROGRAMA ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA**

**“FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1(HIF-1) EN LA REGULACIÓN
DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR”**

(Revisión Bibliográfica)

Unidad de Adscripción: UNIMPA **Línea de Investigación:** Biología Humana
Temática: Genética **Subtemática:** Biología Molecular

Fecha: Abril 2019

Autor: Elena Cangemi

Tutor: José F. Gómez

RESUMEN

La angiogénesis proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de una vasculatura preexistente, responsable de suministrar oxígeno y nutrientes a los tejidos afectados. Se ha demostrado que la falta de perfusión colateral en la pulpa dental la convierte en un tejido más susceptible a las injurias lo que puede fácilmente incrementar la presión interna y desencadenar la hipoxia. Una reacción a la hipoxia en las células pulpares, conduce a la inducción transcripcional de una serie de genes que participan en la angiogénesis. El elemento principal que desencadena esta respuesta es el factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1), una molécula de señalización sensible al oxígeno que activa una serie de genes que codifican factores de crecimiento proangiogénicos, los cuales facilitan la adaptación y supervivencia de las células pulpares cuando estas pasan de los estados de normoxia a condiciones de hipoxia. La presente investigación es de tipo documental y diseño bibliográfico, presentada bajo la modalidad de monografía, basada en la búsqueda de información a través de portales tipo PUBmed, ISIweb of science, Scopus entre otros, donde se utilizó artículos de revistas científicas indexadas y de alto impacto, con el fin de encontrar evidencia científica que muestre la importancia de HIF-1 en la angiogénesis en el tejido pulpar. **Conclusión:** HIF-1, juega un papel protagónico en el proceso angiogénico y estos nuevos vasos estarán en control de llenar las necesidades metabólicas y de oxigenación del tejido pulpar para su posterior reparación.

Palabras Clave: angiogénesis, HIF, HIF-alfa, FIH, Ang2, Tie2, VEGF, dental.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIRECCION DE ESTUDIOS PARA GRADUADOS
PROGRAMA ESPECIALIZACIÓN EN ENDODONCIA**

**“FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA-1(HIF-1) EN LA REGULACIÓN
DE LA ANGIOGÉNESIS EN EL TEJIDO PULPAR”**

(Revisión Bibliográfica)

Unidad de Adscripción: UNIMPA **Línea de Investigación:** Biología Humana

Temática: Genética **Subtemática:** Biología Molecular

Fecha: Junio 2018

Autor: Elena Cangemi

Tutor: José F. Gómez

Abstract

The angiogenesis is the process of forming new blood vessels from a preexisting vasculature, responsible for supplying oxygen and nutrients to the affected tissues. It has been demonstrated that the lack of collateral perfusion in the dental pulp makes it a tissue more susceptible to insults which can easily increase the internal pressure and trigger the hypoxia. A reaction to hypoxia in pulp cells leads to the transcriptional induction of a series of genes involved in angiogenesis. The main element that triggers this response is the inducible factor by hypoxia-1 (HIF-1), an oxygen sensitive signaling molecule that activates a series of genes that encode proangiogenic growth factors, which facilitate the adaptation and survival of pulpal cells when they pass from the states of normoxia to hypoxia conditions. The present investigation is a documentary type and bibliographic design, presented under the modality of monograph, based on the search of information through portals like PUBmed, ISIweb of science, Scopus among others, were used articles from scientific journals with a high impact factor, in order to find scientific evidence showing the importance of HIF-1 in angiogenesis of pulp tissue. Conclusion: HIF-1, plays a leading role in the angiogenic process and these new vessels will be in control of filling the metabolic and oxygenation needs of the pulp tissue for subsequent repair.

Key words: angiogenesis, HIF, HIF-alpha, FIH, Ang2, Tie2, VEGF, hypoxia, dental pulp.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Constancia de Culminación del Tutor de Contenido.....4	
Veredicto.....5	5
Dedicatoria.....6	6
Agradecimientos.....7	7
Resumen.....8	8
Abstract.....9	9
INTRODUCCIÓN13	13
Revisión Bibliográfica.....16	16
Pulpa dental.....19	19
<i>Zonas histológicas</i>19	19
<i>Componentes</i> <i>estructurales</i>20	20
<i>Células</i>20	20
<i>Fibras</i>26	26
<i>Circulación sanguínea y linfática</i>26	26
Inervación.....27	27
<i>Células madre de la pulpa dental (DPSC)</i>29	29
Respiración celular.....30	30
Etapas de la respiración celular aeróbica.....30	30
Glucólisis aeróbica.....	
31	
Fases de la glucólisis..... 32	32
<i>Enzimas glucolíticas</i>	
33	
Oxidación del piruvato.....	
37	
Ciclo del ácido cítrico.....38	38
Fosforilación oxidativa.....42	42
Importancia de la generación de energía en la pulpa dental.....45	45
Importancia del oxígeno.....46	46
Concentración de oxígeno en los tejidos.....46	46

Transporte de oxígeno a nivel sanguíneo.....	48
<i>Circulación pulpar</i>	49
Hipoxia.....	51
Respuesta de las células pulpares dentales (DPCs) ante la hipoxia.....	52
Angiogénesis.....	52
Etapas de la angiogénesis.....	53
Factores de crecimiento que modulan la angiogénesis.....	55
<i>Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)</i>	56
<i>Angiogenina (ANG) y Angiopoyetina 2 (ANG-2)</i>	56
Factor inducible por hipoxia (HIF-1).....	57
Estructura molecular de HIF-1.....	57
Isoformas de HIF-1 α	59
<i>Regulación de HIF-1α por hidroxilación de proteínas</i>	60
HIF-1 y la angiogénesis en el tejido pulpar.....	63
HIF-1 y el desarrollo radicular.....	64
Importancia de HIF-1 en la regulación de la angiogénesis en pulpa.....	65
<i>HIF-1 y caries dental</i>	65
<i>HIF-1 y el trauma oclusal</i>	67
<i>HIF-1 y el movimiento dental por ortodoncia</i>	69
Discusión.....	73
Conclusiones.....	77
Recomendaciones.....	78
Referencias bibliográficas.....	79

TABLA DE IMÁGENES

Figura 1. Glucólisis.

Figura 2. Oxidación del piruvato

Figura 3. Ciclo del ácido cítrico

Figura 4. Cadena respiratoria y fosforilación oxidativa

Figura 5. Valores normales de pO_2

Figura 6. Fases de la angiogénesis

Figura 7. Estructura de HIF-1

Figura 8. Dominios funcionales (bHLH, PAS, TAD)

Figura 9. Regulación de HIF-1 α

Figura 10. Regulación negativa de HIF-1 por oxígeno

Figura 11. HIF-1 y caries dental

Figura 12. Respuesta pulpar al trauma oclusal

INTRODUCCIÓN

La pulpa dental es un tejido conjuntivo laxo que se encuentra rodeado por paredes dentinarias inextensibles; el aporte de oxígeno (O_2) llega a las células pulpares (DPCs) a través de la vasculatura que atraviesa los conductos radiculares y llegan al espacio periapical.

Se ha demostrado que la tensión de O_2 en el tejido pulpar es menor en comparación con la de otros tejidos; y según Lida K y cols, en 2010, refiere que en la pulpa es de aproximadamente de 23,2mmHg (equivalente a 3% de O_2). Esto explica la vulnerabilidad del tejido pulpar ante un proceso inflamatorio, lo que conlleva rápidamente a desencadenar la hipoxia. Así mismo, algunas de las causas que pueden propiciar las condiciones de hipoxia en pulpa son: procedimientos restauradores, anestésicos locales con vasoconstrictor, trauma oclusal, restauraciones “altas” o sobreextendidas, movimientos ortodóncicos, bruxismo y caries.

La hipoxia, induce en las DPCs, respuestas adaptativas homeostáticas, donde éstas desencadenan una variedad de reacciones biológicas, las cuales incluyen la activación de vías de señalización que regulan la proliferación, angiogénesis y apoptosis. Consecuentemente, las bajas tensiones de O_2 comprometen la vitalidad pulpar y a medida que disminuye la perfusión, el tejido pulpar debe reabastecerse con fluidos esenciales que

permitan los procesos reparativos de manera óptima, por lo tanto la angiogénesis es el mecanismo responsable de la neoformación de vasos sanguíneos durante condiciones patológicas de la pulpa.

La angiogénesis es esencial en el mantenimiento de la adecuada afluencia de O₂ y nutrientes para las necesidades metabólicas de las DPCs. La angiogénesis es coordinada por la producción de numerosas moléculas quimio-biológicas, estimuladoras e inhibidoras, tales como: factores de crecimiento, citocinas, matriz de metaloproteinasas (MMPs), inhibidores angiogénicos endógenos, moléculas de adhesión, componentes de la matriz extracelular (ECM) y factores de transcripción como el Factor Inducible por Hipoxia-1 (HIF- 1) que es una proteína de señalización que regula la homeostasis del O₂ e induce el proceso angiogénico en el tejido pulpar, así como en otros tejidos del organismo y desempeña un papel fundamental en la reparación de la pulpa dental.¹⁻³⁴

Actualmente, existe evidencia científica donde se demuestra que HIF-1 desempeña un papel protagónico en la angiogénesis, al activar la transcripción de genes que codifican factores de crecimiento proangiogénicos tales como: la angiopoyetina 2 (Ang2) y factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), los cuales facilitan la adaptación y supervivencia de las células y organismos así como de las DPCs.^{11-13, 20-24}

En este sentido, autores como Fong G., en 2008, refiere que la angiogénesis depende de la acumulación de HIF-1 en los tejidos y más recientemente Kiriakidis S. et al., en 2015, apoya la teoría de que HIF-1 puede interactuar con Notch2, sustrato que suprime la survivina (un inhibidor clave de la apoptosis), y reprime su actividad, desempeñando así un papel crítico en el control de la supervivencia de las células endoteliales vasculares.^{15, 16}

Por lo tanto para un mejor entendimiento de los cambios que se generan en el tejido pulpar ante situaciones de hipoxia, es necesario una comprensión de los mecanismos del sistema HIF-1 en la regulación de la angiogénesis en el tejido pulpar cuando este se encuentra bajo condiciones hipóxicas, que anteceden a la respuesta de las DPCs .^{11-13, 20-24}

Por su parte, Gong Q. et al., en 2010, realizó un estudio *in vitro* donde observaron que el nivel del mRNA de HIF1- α aumentó en el período de cultivo de 24 horas, lo que indica que la hipoxia promovió la expresión de HIF1- α en las DPCs. Estos resultados sugieren que la inflamación y la hipoxia pueden jugar un papel importante en la regulación del eje SDF-1 α - CXCR4, que reclutan más DPSCs en la dentinogénesis para la posterior reparación.²⁶

Igualmente Arhana F. et al., en 2010, realizó un estudio *in vitro* el cual observó que la hipoxia aumentó la expresión de HIF-1 α y VEGF en DPSCs y fibroblastos de pulpa dental humana (HDPF), y, el ambiente hipóxico en las HDPF aumentó la proliferación de células endoteliales.⁵

Por otra parte, Li L. et al., en 2011, realizó un estudio *in vitro* cuyo propósito fue evaluar la influencia de la hipoxia en la mineralización de las células de la pulpa dental humana (hDPCs) con el fin de comprender mejor el proceso de regeneración y formación de dentina reparativa. El estudio demostró que la hipoxia promueve la mineralización de hDPCs, como lo evidencia el aumento de los marcadores de mineralización y la formación de nódulos calcificados. Los autores refieren que es posible que HIF-1 α se activó en las hDPCs bajo las condiciones de hipoxia, induciendo a la señalización celular que estimuló la formación de la matriz y su posterior mineralización.¹

Römer P. et al., en 2014, realizó una investigación *in vivo*, tuvo como objetivo analizar el efecto del tratamiento ortodóncico sobre la inducción y la regulación celular de la hipoxia intrapulpar. Entre sus resultados, observaron, que se produjo un aumento significativo de Hif-1 α como resultado de las alteraciones circulatorias en la fase inicial del movimiento dental ortodóncico *in vivo* y además proporcionaron información sobre los efectos reguladores de la hipoxia a corto plazo en fibroblastos de pulpa dental humana *in vitro*. Sus hallazgos confirman que el movimiento dental ortodóncico induce reacciones tisulares periodontales e intrapulpulares en los dientes tratados, además, la expresión de Hif-1 α en el tejido de la pulpa dental de los dientes tratados ortodóncicamente *in vivo* muestran como consecuencia una respuesta adaptativa del tejido pulpar, lo que asegura la vitalidad del mismo. Concluyó, que los movimientos ortodóncicos afectan la circulación de la pulpa dental por la hipoxia, lo que conduce a una respuesta inflamatoria dentro de los dientes tratados y se puede esperar que el tejido pulpar se someta a un proceso de remodelación después del movimiento dental.²⁷

Recientemente, Janjic et al., en 2018, Planteó la hipótesis de que L-mimosina (L-MIM) y la hipoxia estimulan la producción de angiopoyetina 4, un factor de señalización que modula la angiogénesis en la pulpa dental. Realizó un estudio *in vitro*, donde se usaron cultivos monocapa de células derivadas de pulpa dental (DPC) para evaluar la producción de Ang 4 en los niveles de ARNm y proteína en respuesta a L-MIM e hipoxia. Además se realizaron cultivos de cortes dentales. Los resultados sugieren que la hipoxia conduce a un aumento en la producción de Ang 4 en las DPC a través de la vía de HIF-1.³²

Las evidencias científicas presentadas demuestran que todos los autores coinciden en que el Factor Inducible por Hipoxia-1 (HIF-1) es el elemento principal que induce a la respuesta angiogénica en el tejido pulpar y también

regula la homeostasis del O₂ favoreciendo la supervivencia, multiplicación y diferenciación de las DPCs. Por lo tanto, estos estudios, sustentan las bases de esta investigación, al proporcionar información detallada, confiable y actualizada.

En este sentido, la presente investigación tuvo como propósito analizar la importancia de HIF-1 en la regulación de la angiogénesis en el tejido pulpar bajo condiciones de hipoxia; y como objetivos específicos, describir HIF-1 desde el punto de vista molecular y biológico, destacar el mecanismo de acción HIF-1 en la regulación de la angiogénesis como una respuesta del tejido pulpar ante condiciones de hipoxia y resaltar el proceso angiogénico en el tejido pulpar.

Para tal fin se realizó una revisión bibliográfica, de tipo documental, bajo la modalidad monográfica, donde se realizó una revisión de diversas fuentes bibliográficas tales como artículos de revistas científicas indexadas y de alto impacto a través de los portales de tipo PUBmed, ISIweb of science, Scopus, google académico, estableciendo búsqueda con las siguientes palabras claves: Dental pulp, Angiogénesis, HIF, FIH, Ang2, Tie2, VEGF, Hypoxia.

Con el desarrollo de esta investigación se brinda un aporte a la comunidad científica, estudiantes de pregrado y postgrado de la facultad de odontología de la universidad de Carabobo (FOUC), odontólogos y especialistas, al ofrecer información relevante y actualizada acerca de HIF y su importancia en la angiogénesis en el tejido pulpar ampliando los conocimientos en biología pulpar, al mismo tiempo que tendrá implicaciones en la práctica clínica ya que una mejor comprensión de la angiogénesis le permitirá al clínico entender un poco más las respuestas reparativas que ocurren en el tejido pulpar ante estímulos que desencadenan hipoxia, lo que podría conducir a mejores alternativas terapéuticas, siendo de beneficio para los

pacientes atendidos en el área de Postgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo. También será un aporte científico ya que a partir del presente estudio se podrían abrir nuevas líneas de investigación dentro de la unidad de adscripción y al mismo tiempo investigaciones de orden experimental.

El presente trabajo se encuentra adscrito a la Unidad de Investigaciones Morfopatológicas (UNIMPA), dentro de las líneas de investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo (FOUC), de biología humana, temática genética y subtemática biología molecular (endodoncia). La correspondencia con las líneas y temáticas de investigación de la FOUC garantiza que los conocimientos generados en la presente investigación tendrán pertinencia, sensibilidad y aproximación al entorno social.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para comprender la importancia del factor inducible por hipoxia (HIF) en el desarrollo de la angiogénesis en el tejido pulpar se debe realizar un análisis de algunos aspectos generales de la pulpa dental.

Pulpa Dental

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo y especializado de origen ectomesenquimatoso. Es altamente vascularizado, rico en células, matriz extracelular (ECM), neuropéptidos, fibras colágenas y nerviosas. La pulpa madura tiene un gran parecido con el tejido conectivo embrionario del cual deriva, al tener una capa de células altamente especializadas como los odontoblastos los cuales se disponen periféricamente en relación con la matriz dentinaria y forman el complejo dentino-pulpar, considerado una unidad funcional y estructural que actúa como un sistema sensorial capaz de responder a diferentes estímulos. La pulpa reside entre paredes rígidas formada por tejido dentinario, que crea un ambiente de alta presión y bajas tensiones de oxígeno lo que predispone al tejido pulpar ante una inflamación a desarrollar rápidamente hipoxia. Otra particularidad del tejido pulpar es que contiene fibras sensoriales. Estas fibras junto con la microcirculación hacen de la pulpa un órgano único para el estudio de interacciones neurovasculares durante varios estados de inflamación.^{4, 35,36}

La pulpa dental presenta diversas funciones, siendo las principales: la formadora de dentina, nutritiva, de defensa y la inductora.³⁵⁻³⁸

Zonas histológicas

Zona odontoblástica o periférica: es la capa más superficial de la pulpa, la cual se localiza debajo de la predentina. Conformada por los odontoblastos dispuestos en empalizada. Contiene capilares, fibras nerviosas, células dendríticas.³⁵⁻³⁷

- **Zona de Weil (acelular):** plexo de Raschkow (rica red de fibras nerviosas mayormente no mielinizadas), capilares y las finas prolongaciones citoplasmáticas de los fibroblastos.³⁵⁻³⁷
- **Zona rica en células o zona central:** alta densidad de fibroblastos, células mesenquimatosas indiferenciadas, se puede encontrar células de la pulpa propiamente dicha. Esta capa es mucho más predominante en la pulpa coronal que la radicular.³⁵⁻³⁷
- **Pulpa propiamente dicha:** vasos sanguíneos, fibras nerviosas, fibroblastos, células mesenquimatosas indiferenciadas, células inmunocompetentes (células dendríticas, macrófagos, linfocitos) fibras colágenas y matriz extracelular.³⁵⁻³⁷

Componentes estructurales del tejido pulpar

Los elementos pulpares se clasifican en celulares, extracelulares, elementos de sostén y nerviosos.³⁵

Células

Odontoblastos

Los odontoblastos son las células más predominantes del complejo dentino-pulpar y los principales formadores de dentina. Son células de origen

ectomesenquimático. Estas células se alinean en la periferia de la pulpa y consisten en un cuerpo celular y un proceso citoplásmico / odontoblástico (prolongaciones odontoblásticas). Las células son altas y de forma columnar de aproximadamente 50 a 60 μm de largo en la porción oclusal coronal mientras que son cuboidales en el piso de la cámara pulpar y la superficie interna de la pulpa, en la región del periápice tienden a ser fusiformes, parecidos a los osteocitos, ya que se diferencian de estos solo al observarse la prolongación. Su morfología varía en función de su estado funcional. En un estado de reposo, se pueden observar más aplanados, ya que la fase secretora se encuentra distendida con el citoplasma basófilo y gran cantidad de orgánulos secretores. Las prolongaciones inician en el cuello celular, disminuyendo progresivamente de diámetro en la medida que atraviesa la predentina hasta llegar a la dentina mineralizada. La capa de odontoblastos se separa de la dentina mineralizada mediante una capa de matriz desmineralizada de 10 a 40 μm de espesor, la predentina. El número de túbulos dentinarios se corresponde con la cantidad de odontoblastos allí presentes. Por consiguiente, existe mayor número de los mismos en la dentina coronaria que en la radicular. Muchos complejos de unión se producen con los osteoblastos cercanos, mediante uniones en grietas, rígidas y desmosomas. Estas unidades o complejos son denominados zona Adherens, zona Ocludens o uniones comunicantes, sugiriendo la posibilidad de comunicación entre las células. La formación y permanencia de estos complejos depende de las necesidades funcionales. Los odontoblastos una vez ya formados totalmente no se diferencian, y con respecto a su vida media, parece corresponder con el tiempo de viabilidad de la pulpa.³⁵⁻³⁷

Yu C. et al., refiere que aunque existe abundante información sobre los aspectos estructurales de los odontoblastos, se sabe muy poco sobre el aspecto dinámico de estas células, especialmente en la pulpa madura. La

formación y el mantenimiento de la dentina implican el transporte activo de iones de calcio, precursores de colágeno o componentes de la matriz extracelular de una actividad que presumiblemente requiere energía y, por lo tanto, oxígeno. Un estudio respiratorio *in vitro* utilizando el método directo de Warburg ha demostrado una captación de oxígeno significativamente mayor en las regiones periféricas de pulpas de molares bovinas, lo que indica que los odontoblastos pueden tener un alto metabolismo oxidativo.³⁸

Según Yumoto H. et al., los odontoblastos ubicados en la capa más externa de la pulpa dental forman una barrera natural entre los tejidos mineralizados, la dentina y los tejidos blandos, la pulpa dental, y, en primer lugar, reconocen los patógenos relacionados con la caries y detectan las irritaciones externas. Por lo tanto, los odontoblastos poseen un sistema inmune innato especializado para combatir los patógenos orales que invaden la dentina.³⁹

Células mesenquimatosas indiferenciadas

Estas células derivan del ectodermo de la cresta neural. Constituyen las células de reserva de la pulpa por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos o fibroblastos, según el estímulo que actúe. Se encuentran en gran cantidad en la zona rica en células. Se caracterizan morfológicamente por una forma estrellada y con el cuerpo citoplasmático poco visible. Poseen una alta capacidad de diferenciación, lo que les permite dar origen a otros tipos celulares.^{35, 37}

La población de células mesenquimáticas disminuye con la edad, esto conlleva a una reducción en la capacidad defensiva de la pulpa dental.³⁵

Normalmente sustituyen a los fibroblastos. Ante la presencia de una agresión al tejido pulpar, pueden atravesar la zona de Weil, diferenciándose en células secretoras de matriz dentinaria, lo que se conoce como odontoblastos muchas veces atípicos.³⁵

Fibroblastos

Después de los odontoblastos los fibroblastos representan la población más abundante dentro de la pulpa dental. Tienen papeles principales en la regulación de los procesos biológicos del tejido pulpar y su función en condiciones normales y patológicas.^{35-37,40}

El fibroblasto a menudo se define como una célula de forma irregular implicada en la síntesis de la matriz extracelular (ECM) que proporciona soporte a todos los tejidos animales. De hecho, los fibroblastos son células mesenquimatosas que forman fibras del tejido conjuntivo y contribuyen a su integridad estructural. Se originan a partir de una célula madre mesenquimal multipotente (MSC) que también da lugar a adipoblastos, condroblastos, osteoblastos y mioblastos. Los fibroblastos son células fusiformes o estrelladas con largos procesos citoplásmicos.^{35, 40}

Se encuentran en gran cantidad en la zona rica en células. Su principal función en la pulpa dental es formar y mantener la ECM la cual se encuentra conformada por colágeno (principalmente tipo I y III, siendo más abundantes en la porción apical pulpar) elastina, laminina, fibronectina, glicosaminoglicanos como hialuronano, glicoproteína y la sustancia intercelular amorfa, también muchas metaloproteinasas. La matriz extracelular da sostén a las células, además de actuar como medio de transporte de nutrientes y catabolitos.^{35, 40}

Los fibroblastos de la pulpa controlan la vascularización e inervación de la pulpa en condiciones fisiológicas y también sintetizan factores de crecimiento que mejoran la regeneración, la vascularización y la inervación del complejo dentino-pulpar. También representan una población celular única porque son el único tipo de célula no hepática y no inmunitaria capaz de sintetizar todas las proteínas del complemento. Complejos de ataque que juegan un papel fundamental en la respuesta inmune y a regeneración de la pulpa.⁴⁰

Un aspecto interesante en la participación de los fibroblastos en la fisiología y función de la pulpa se ha ilustrado a través de un sistema de cocultivo entre fibroblastos pulpares y células endoteliales. Esto permitió la demostración de la influencia directa de los fibroblastos en la neoangiogénesis *in vitro*.⁴⁰

En la pulpa joven, el número de estas células es mucho mayor que en la pulpa envejecida y se presentan con gran actividad formadora de ECM, a esto se suma el hecho de que existe una cantidad menor de fibras colágenas lo que permite una mejor difusión de células y electrolitos, para la sustancia fundamental amorfa.³⁵

Células de Rouget

La función de las células de Rouget es bastante controversial, pero se cree que actúan como pericitos, siendo células contraídas en la pared de los vasos, actuando en la disminución de la luz de estos.³⁵

Células de defensa

Macrófagos

Pertenecen al sistema fagocítico mononuclear por su capacidad de fagocitosis y por participar en los mecanismos defensivos. Tienen su origen en los monocitos. Los macrófagos tisulares recién llegados de la sangre son células con gran capacidad de diferenciación, pues deben pasar por distintos estados de activación, para alcanzar su capacidad funcional. En las primeras etapas se asemeja morfológica e histoquímicamente al monocito y reciben la denominación de macrófago residentes. Al surgir un estímulo inflamatorio los macrófagos residentes proliferan y se expanden.³⁷

Desempeñan funciones activas de endocitosis y fagocitosis, por su capacidad quimiotáctica y actividad fagocítica, estos elementos celulares son capaces de actuar como reservorios, que eliminan hematíes extravasados,

células muertas y sustancias extrañas por la acción de enzimas lisosomales. Además de su actividad fagocítica, están en relación con la función inmunológica (al fagocitar partículas extrañas y presentarlas a los linfocitos).^{35,37}

Linfocitos

Son las células responsables de la respuesta inmunológica específica. Se ha demostrado que en el tejido pulpar sano solamente posee linfocitos de tipo T, los linfocitos B normalmente están ausentes. Los linfocitos T participan en la respuesta inmunológica inicial; esta células se activan mediante mecanismos inmunológicos ante la presencia de antígenos provenientes de la caries, los cuales liberan linfoquinas que provocan vasodilatación pulpar, La interacción entre ambos tipos de linfocitos facilitaría la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas, las cuales son la que elaboran anticuerpos específicos contra los antígenos que han propiciado la respuesta inflamatoria.^{35,37}

Mastocitos

Son los encargados de almacenar mediadores químicos, siendo los principales los del tipo metacromático, que contienen heparina, histamina, ECF-A y leucotrienos. Son las células responsables de la reacción de sensibilidad inmediata.³⁷

Células dendríticas

Son elementos accesorios del sistema inmune. Se considera que las células dendríticas presentadoras de antígeno que expresan la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de Clase II participan en la vigilancia inmunológica. Estas células tienen extensiones citoplásmicas distintivas, tienen una gran área de superficie para capturar antígenos, carecen de lisosomas intracelulares y vacuolas fagocíticas, por lo que tienen

una capacidad fagocítica propia. Las células dendríticas se localizan predominantemente en el área paraodontoblástica. También están presentes en la porción central de la pulpa. En otras partes del cuerpo como la epidermis se encuentran células similares llamadas células de Langerhans.^{36, 37}

Las células dendríticas de la pulpa se disponen, en general, a lo largo de los vasos con su eje mayor paralelo a las células endoteliales.³⁷

La función de las células dendríticas de la pulpa consiste en participar en el proceso de iniciación de la respuesta inmunológica primaria.³⁷

Fibras

Se encuentran fibras colágenas, reticulares y elásticas.³⁷

El colágeno es el principal componente orgánico en la pulpa dental. La morfología de las fibras de colágeno, un constituyente principal en la pulpa, se ha descrito a nivel de microscopía óptica y electrónica. El colágeno se sintetiza y secreta tanto por los odontoblastos como por los fibroblastos. Sin embargo, el tipo de colágeno secretado por los odontoblastos, para posteriormente mineralizarse, difiere del colágeno producido por los fibroblastos pulpares que normalmente no se calcifica. Tampoco difieren en la estructura básica, sino en el grado de entrecruzamiento y una ligera variación en el contenido de hidroxilisina.³⁷

Las principales fibras son las de colágeno del tipo I y III. La presencia de ambas parece ser constante durante toda la vida; por esta razón, en la pulpa joven es posible observar fibrillas colágenas aisladas entre las células de la pulpa, ya que, con el transcurrir de la edad, estas fibras tienden a depositarse en forma organizada formando haces. La mayor concentración de estas fibras parece encontrarse en la región periapical.^{35, 37}

Circulación sanguínea y linfática

El suministro arterial de la pulpa tiene su origen en las arterias alveolares superiores posteriores y la rama alveolar infraorbital e inferior de las arterias maxilares internas. Los vasos sanguíneos pulpares son llamados arteriolas (diámetro en el rango de 100 μm) y vénulas correspondientes (diámetro en el rango de 200 a 300 μm). Las arteriolas principales entran, y las vénulas principales y los linfáticos salen de la pulpa dental a través del foramen apical o las foraminas. Los vasos también entran y salen de la pulpa a través de conductos laterales y accesorios que pueden ubicarse en cualquier parte de la raíz, pero más comúnmente en la región apical. La pulpa carece de un suministro de sangre colateral alternativo que hace que la región apical sea un punto crítico.³⁷

Las arteriolas pasan a través de la pulpa radicular para suministrar oxígeno y nutrientes a la pulpa coronal. Como las arteriolas viajan directamente a la zona coronal, se desarrollan patrones de ramificación. Estos vasos de ramificación tienen una capa muy delgada de músculo liso y pierden el recubrimiento cuando alcanzan la dentina, formando una red capilar. Cerca de la dentina, alrededor del área odontoblástica, forman una densa red capilar terminal en la región subodontoblástica.³⁷

Las vénulas constituyen una porción eferente de la circulación pulpar y su diámetro es ligeramente mayor que el de las arteriolas. Las vénulas aumentan su tamaño en la medida que avanzan en dirección apical y al salir del foramen, se unen y drenan en la vena facial y maxilar. El flujo sanguíneo pulpar es más rápido que en otras partes del cuerpo, observándose que la presión pulpar es una de las más altas del organismo.³⁵

Los vasos linfáticos entran por el foramen y se concentran en la porción coronal de la pulpa. Durante los procesos inflamatorios, favorecen removiendo exudados inflamatorios y también agentes irritantes, como residuos celulares. Al dejar la pulpa a través del foramen apical, confluyen

con los linfáticos periodontales y se dirigen hacia los nódulos linfático regionales, venas subclavia y yugular interna.³⁵

Por otra parte, antes de que las arteriolas se rompan en lechos capilares, a menudo surgen anastomosis arteriovenosas (AVA) para conectar la arteriola directamente a una vénula. Las AVA son vasos relativamente pequeños, que tienen un diámetro de aproximadamente 10 μm . Su presencia es más frecuente en el área radicular de la pulpa.³⁷

Inervación

La pulpa dental tiene un suministro abundante de nervios tanto sensoriales como autónomos. La mayoría de estos nervios son sensoriales. El ganglio trigeminal suministra inervación sensorial a la pulpa a través de las ramas nerviosas maxilar y mandibular. Los nervios simpáticos son menos numerosos con su origen en el ganglio cervical superior. Estas ramas nerviosas atraviesan el foramen apical junto a los vasos sanguíneos aferentes, en la medida que se dirigen en dirección oclusal, se ramifican periféricamente junto a con la vascularización. Se sabe que las fibras y terminaciones nerviosas tienden a presentarse en una cantidad mayor en el cuerpo pulpar más que en otras regiones periféricas.^{35, 37}

Caviedes B. et al., refiere que el tejido pulpar está inervado por fibras de los sistemas simpático, parasimpático y somatosensorial. El sistema nervioso simpático reduce el flujo sanguíneo de la pulpa (vasoconstricción) debido a la liberación de neurotransmisores como el neuropéptido Y (NPY). Las fibras parasimpáticas estimulan la vasodilatación debido a la liberación del péptido intestinal vasoactivo (VIP).⁴

Los haces nerviosos pulpares son principalmente fibras nerviosas sensitivas, pertenecientes al nervio trigémino y también fibras autónomas pertenecientes a las ramas simpáticas y parasimpáticas. Los estudios anatómicos y

electrofisiológicos han clasificado los nervios de acuerdo con su diámetro y velocidad de conducción. La pulpa contiene dos tipos de fibras nerviosas sensoriales: fibras que son mielinizadas y fibras C que no están mielinizadas. Los axones mielinizados se clasifican de acuerdo con el diámetro y la velocidad de conducción. La mayoría de estos se componen de fibra A-delta (diámetro de 1 a 6 μ m), conductores relativamente más rápidos. Una minoría es de fibras A-beta (diámetro de 6 a 12 μ m) conductores relativamente rápidos. Las fibras amielínicas son denominadas fibras C (diámetro de 0,4 a 1,2 μ m). En la medida que las fibras ascienden en dirección coronal, progresivamente pierden la vaina de mielina, presentando un aumento de la cantidad de fibras amielínicas en la porción coronaria de la pulpa.^{35, 37}

Células madre de la pulpa dental (Dental Pulp Stem Cells, DPSC)

Las células madre de la pulpa dental (DPSC), también denominadas mesenquimáticas indiferenciadas, son células madre ecto-mesenquimales derivadas de la cresta neural. Constituyen la población de reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos productores de dentina o en fibroblastos productores de matriz pulpar, según el estímulo que actúe sobre ellas. Son células multipotentes que proliferan extensivamente. Residen en la zona central del tejido pulpar, tienen alto potencial de proliferación, diferenciación, multiplicación y autorrenovación. Poseen propiedades inmunosupresoras y expresan marcadores como CD13, CD29, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105, CD146 y STRO -1, pero no expresan CD14, CD24, CD34, CD45, CD19 y HLA-DR. La plasticidad de las DPSC se ha verificado a través de estudios *in vitro* e *in vivo*. Estas células tienen la capacidad de diferenciarse en células odontoblásticas, osteoblastos, adipocitos, células neuronales, cardiomiocitos, miocitos y condrocitos *in vitro*. Las DPSC pueden formar nódulos mineralizados con una estructura similar a

la dentina en condiciones osteoinductoras *in vitro* y tejido reparador similar a la dentina en la superficie de la dentina humana *in vivo*.^{37, 41-45}

El oxígeno y la producción de energía en la pulpa dental son esenciales para todos los eventos biológicos, moleculares y celulares de este tejido. Los procesos metabólicos y el mantenimiento de la homeostasis de las células de la pulpa dental (DPCs) dependen de cómo se obtiene energía y del oxígeno presente en el tejido pulpar. La energía está disponible en forma de molécula transportadora de trifosfato de adenosina (ATP), la mayor parte se genera a través de la respiración celular aeróbica. Una fuente importante de energía en las DPCs es la glucosa que se metaboliza a través de la glucólisis en piruvato, que puede oxidarse en dióxido de carbono (CO₂) en el ciclo del ácido tricarbóxico (TCA) para generar grandes cantidades de ATP a través de la fosforilación oxidativa.^{46, 47}

Respiración Celular

Según Nazaret C y cols, las células requieren de metabolitos y enzimas trabajando en conjunto en función de su supervivencia y crecimiento. El metabolismo debe ser constante y responder rápidamente a los cambios que se dan en el entorno celular. Estas respuestas metabólicas ocurren en segundos o minutos, mucho más rápido de lo que la información codificada en el ADN es leída e implementada. Dado que la producción de energía es una respuesta a la demanda energética celular, el rendimiento en la producción de ATP varía según las condiciones celulares y el microambiente.⁴⁸⁻⁵¹

En condiciones normales, el metabolismo celular consume energía, de la cual el 70% es suministrada por la fosforilación oxidativa (OXPHOS), única ruta metabólica que tiene las conexiones necesarias para todo el metabolismo celular que proporciona la mayor parte de esa energía (ATP) y

tiene un papel central en el establecimiento y mantenimiento de la homeostasis metabólica. En condiciones de hipoxia, sin embargo, la glucólisis se mejora para compensar la función debilitada de OXPHOS. Por lo tanto, la glucólisis y OXPHOS cooperan para mantener el equilibrio energético celular.⁴⁸⁻⁵¹

Etapas de la respiración celular aeróbica

La respiración celular puede ser aerobia o anaerobia (fermentación), la presente investigación se enfocara en la respiración aeróbica, principal fuente de generación de energía de las células de la pulpa dental (DPCs) y todas las demás células eucariotas.

Glucólisis aeróbica

La cadena de reacciones mediante la cual la glucosa proporcionada exógenamente o sintetizada endógenamente se degrada con obtención de energía se llama glucólisis. Es una de las rutas metabólicas originales dentro de la evolución y en casi todas las células se desarrolla de la misma manera: una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de piruvato formándose trifosfato de adenosina (ATP) y nicotinamida adenina dinucleótido (NADH). En condiciones aeróbicas se unen a la glucólisis el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa, de este modo la glucosa puede convertirse en dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), generando mayores cantidades de ATP.⁵²

Durante la respiración celular aeróbica el proceso de glucólisis produce piruvato. El piruvato se transforma luego en un grupo acetilo durante la reacción de transición. El grupo acetilo se usa en el ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico y la fase finaliza con el ATP liberado en la cadena de transporte de electrones dentro de la mitocondria. La glucólisis es ineficaz en términos de producción de trifosfato de adenosina (ATP), generando solo 2 moléculas

de ATP por molécula de glucosa, mientras que la oxidación completa de una molécula de glucosa por fosforilación oxidativa puede generar de 27 a 38 ATP desde el punto de vista teórico y desde el práctico de 28 a 30 ATP. A pesar de su baja eficiencia en el rendimiento de ATP por molécula de glucosa, la glucólisis aeróbica podría generar más ATP que la fosforilación oxidativa al producir ATP a un ritmo más rápido. Siempre que el suministro de glucosa sea abundante, se puede preferir una vía ineficiente pero más rápida para la producción de ATP, y una de las ventajas de la glucólisis aeróbica es una producción de ATP más rápida para satisfacer las elevadas demandas de las células.⁵²

Balance energético total de la glucólisis: $2\text{ATP} + 2\text{NADH}$ (4 o 6 ATP).⁵¹

Fases de la glucólisis

Fase inicial

En esta fase inicial utiliza dos moléculas de ATP para convertir la glucosa en fructosa-1,6-bisfosfato a través de reacciones secuenciales catalizadas por **hexoquinasa, fosfoglucosa isomerasa y fosfofructoquinasa**.⁵²

Fase de generación de energía

En esta segunda fase, la fructosa-1,6-bisfosfato se convierte adicionalmente paso a paso en piruvato con la producción de cuatro moléculas de ATP y dos moléculas de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH). Durante este proceso, se consumen dos ADP y dos NAD^+ . En ausencia de oxígeno, NAD^+ se regenera a partir de NADH por reducción del piruvato a ácido láctico catalizado por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH).⁵²

En condiciones aeróbicas, el piruvato se puede oxidar aún más a CO_2 y H_2O en las mitocondrias a través del ciclo del ácido tricarbóxico (TCA) y la cadena respiratoria, produciendo una gran cantidad de ATP.⁵²

Cada reacción en la ruta glucolítica es catalizada por una enzima específica o un complejo enzimático. Además de sus actividades enzimáticas bien caracterizadas, estudios recientes sugieren que algunas de las enzimas glucolíticas son proteínas multifuncionales. Por ejemplo, hexoquinasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) y enolasa se han caracterizado por desempeñar un papel en la regulación transcripcional. La hexoquinasa y GAPDH pueden regular la apoptosis y la glucosa-6-fosfato isomerasa puede afectar la motilidad celular. Además, aunque la glucólisis es la vía metabólica clásica que genera piruvato, otras reacciones metabólicas como la conversión de xilulosa-5-fosfato en gliceraldehído-3-fosfato a través de la vía de la pentosa fosfato por la transcetolasa también producen el intermedio metabólico que conduce a la segunda fase de la ruta glucolítica produciendo piruvato y ATP.⁵²

Enzimas glucolíticas

Hexoquinasa

La fosforilación de la glucosa dependiente del ATP, para formar glucosa -6-fosfato (G-6-P), es la primera reacción que limita la velocidad en la glucólisis, y es catalizada por isoenzimas específicas del tejido conocidas como hexoquinasas. La glucosa-6-fosfato sirve como punto de partida para que el azúcar ingrese en la vía glicólica o la ruta de la pentosa fosfato, o para la síntesis de glucógeno. Se han identificado cuatro isozimas de hexoquinasa de mamífero (Tipos I-IV), con la isoenzima Tipo IV a menudo denominada glucoquinasa y se encuentra en los hepatocitos. La regulación de las actividades de hexoquinasa y glucoquinasa son diferentes. Las hexoquinasas I, II y III son inhibidas alostéricamente por acumulación del producto (G-6-P), mientras que las glucoquinasas no lo son. Estas propiedades enzimáticas favorecen el almacenamiento de glucosa en el hígado durante los tiempos de exceso de glucosa y la utilización de glucosa periférica. Las hexoquinasas

son moléculas de 100 kDa que se cree que evolucionaron por duplicación y fusión de un gen que codifica una hexoquinasa ancestral de 50 kDa. Por lo tanto, estas isoenzimas muestran la repetición de secuencia interna, y las terminales N y C tienen una gran similitud de secuencia. Se estima que aproximadamente el 70% de la hexoquinasa celular se asocia con mitocondrias en condiciones metabólicas basales. Estos hallazgos sugieren que la fosforilación oxidativa puede ser acoplada eficientemente a la ruta glucolítica a través de la hexoquinasa unida a mitocondrias. Además, la hexoquinasa se une a la membrana mitocondrial externa en sitios donde se encuentra el canal de aniones dependiente de voltaje (VDAC). Esto coloca al complejo en estrecha asociación con el translocador de nucleótidos de adenina (ANT), que abarca la membrana mitocondrial interna y facilita el intercambio de ADP citoplásmico por ATP mitocondrial. Dado que estudios recientes sugieren que VDAC / ANT puede jugar un papel importante en la regulación de la transición de la permeabilidad mitocondrial y la liberación de factores apoptóticos como el citocromo c, se sospecha que la hexoquinasa también puede participar en la vía apoptótica. Parece que las hexoquinasas y su asociación con el complejo proteico mitocondrial pueden desempeñar un papel importante en los procesos homeostáticos esenciales, como el metabolismo de la glucosa y la apoptosis. La inhibición de esta enzima es probable que tenga profundos efectos sobre el metabolismo y la supervivencia de la energía celular.⁵²

Glucosa-6-fosfato isomerasa

La interconversión de G-6-P y fructosa-6-fosfato está catalizada por la fosfoglucosa isomerasa (IGP), que desempeña un papel importante tanto en la vía glucolítica como en la gluconeogénesis. Además de su actividad enzimática bien definida en la ruta glucolítica, IGP, también funciona como

una citoquina extracelular y se asocia con comportamientos malignos agresivos.⁵²

Fosfofructoquinasa

Esta enzima cataliza el límite de velocidad de la fosforilación de la fructosa-6-fosfato a fructosa -1,6-bisfosfato, utilizando ATP como fuente de energía. La fosfofructoquinasa está regulada alostéricamente por 2,3-difosfoglicerato (DPG). Se han identificado tres formas de fosfofructoquinasa, M (músculo), L (hígado) y P (plaquetas) en humanos.⁵²

Aldolasa

Cataliza la conversión reversible de fructosa-1,6-bisfosfato a gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona. La aldolasa es un tetrámero de subunidades idénticas de 40 kDa cada una. Tres isoenzimas distintas (A-C) han sido identificadas.⁵²

Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa

Es bien conocida como una enzima glucolítica clásica codificada por un "gen de limpieza" que se expresa constitutivamente en la mayoría de las células. Esta enzima cataliza una reacción redox esencial en la ruta glucolítica: conversión de gliceraldehído-3-fosfato en 1,3-bisfosfoglicerato junto con la reducción de NAD^+ a NADH. Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa es única entre las enzimas glucolíticas debido a su capacidad para unirse a NAD^+ o NADH, y también a ADN y ARN. Esta propiedad única permite que esta proteína afecte a múltiples procesos celulares que incluyen endocitosis, fusión de membranas, secreción vesicular, transporte de ARNt nuclear y replicación y reparación del ADN. Esta enzima está implicada en la apoptosis cuando se trasloca al núcleo.⁵²

Fosfoglicerato quinasa

Esta enzima cataliza la conversión de 1,3-bisfosfoglicerato a 3-fosfoglicerato junto con la generación de ATP a partir de ADP. Dos isozimas de fosfoglicerato quinasa (PGK) han sido identificadas. La fosfoglicerato quinasa (PGK) -1 se expresa de manera constitutiva en las células somáticas, mientras que la PGK-2 parece expresarse solo en los espermatozoides. Esta enzima está conformada por dos dominios, el dominio C-terminal donde se localiza el sitio de unión ADP/ATP y el dominio N-terminal donde se encuentra el sitio de unión a fosfoglicerato.⁵²

Fosfoglicerato mutasa

La enzima glucolítica fosfoglicerato mutasa cataliza la interconversión de glicerato-3-fosfato y glicerato-2-fosfato. Esta enzima requiere D-glicerato-2,3-difosfato para la activación mediante la donación de uno de sus grupos fosforilo para formar una enzima fosforilo unida covalentemente.⁵²

Enolasa

Cataliza la conversión de 2-fosfoglicerato en fosfoenolpiruvato. La enzima está altamente conservada, y las isoformas específicas del tejido se encuentran con diferencias cinéticas menores. Se han identificado tres isoformas principales de enolasa en mamíferos. La isoforma-a se expresa en células fetales y otros tipos de células adultas, la isoforma-b se expresa en el músculo estriado y la isoforma-g es específica de la neurona.⁵²

Piruvato quinasa

Cataliza la transferencia irreversible del grupo fosforilo de fosfoenolpiruvato a ADP, produciendo piruvato y ATP. El piruvato es un intermediario metabólico esencial que canaliza varias vías metabólicas. Esta enzima es un tetrámero

que es activado alostéricamente por el fosfoenolpiruvato y regulado negativamente por el ATP.⁵²

Lactato deshidrogenasa

Es un tetrámero de subunidades A y B, codificado por dos genes separados. Esta enzima cataliza la conversión de piruvato en lactato junto con una oxidación de NADH a NAD⁺, que es esencial para la ruta glucolítica. Curiosamente, el gen LDH-A está controlado por el factor inducible por hipoxia (HIF) -1 alfa, mientras que el gen LDH-B no está regulado por los bajos niveles de oxígeno. Además de su papel esencial en el metabolismo de la glucosa, la isoforma de LDH-A se ha identificado como una proteína de unión a ADN monocatenario. La unión de LDH-A al ADN monocatenario es inhibida por NADH, que induce un cambio conformacional y modula la actividad de unión a ADN de LDH. Estudios bioquímicos sugieren que LDH-A y LDH-B son componentes de un coactivador transcripcional dependiente del ciclo celular. Estas observaciones inesperadas indican que una fracción de LDH podría participar en la replicación del ADN y la transcripción del ARN.⁵²

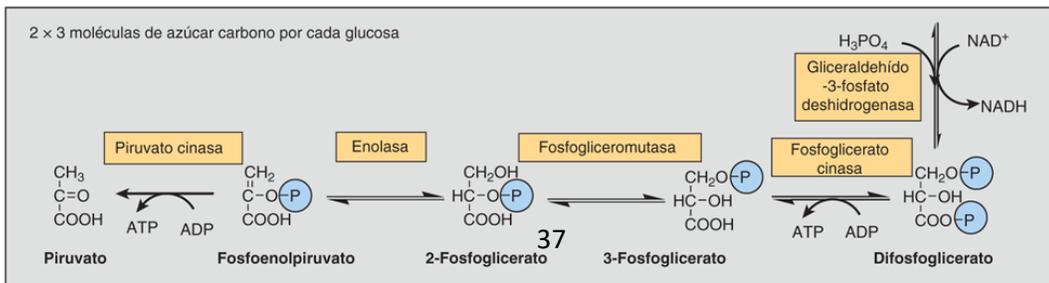
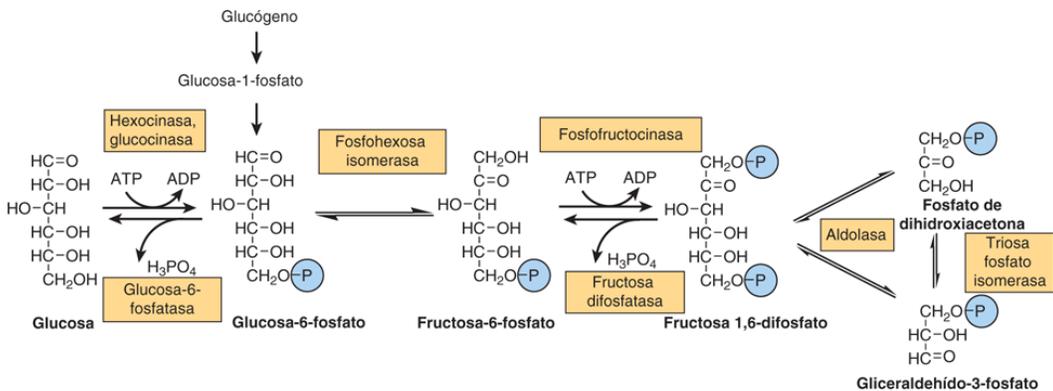


Fig.1 Glucólisis. Tomado de Rodwell, V.W. 2017⁵³

Oxidación del piruvato

El producto final de la glucólisis es el piruvato que se forma en el citosol y es transportado a la mitocondria. Dentro de la mitocondria, el piruvato se oxida en acetil-CoA a través de un complejo multienzimático asociado con la membrana mitocondrial interna. Este complejo multienzimático piruvato deshidrogenasa es análogo al complejo α -cetoglutarato deshidrogenasa del ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs. Por lo tanto el piruvato es descarboxilado por la enzima piruvato deshidrogenasa a un derivado hidroxietílico del anillo de tiazol de la enzima ligada a tiamina difosfato, que a su vez reacciona con lipoamida oxidada y el grupo de dihidrolipoil transacetilasa, para formar acetil lipoamida. El ciclo de reacción se completa cuando la lipoamida reducida se reoxida por una flavoproteína, dihidrolipoil deshidrogenasa, que contiene flavín adenín dinucleótido (FAD). Finalmente, el reducido, la flavoproteína se oxida con la nicotinamida adenina

dinucleótido (NAD⁺), que a su vez transfiere equivalentes reductores a la cadena respiratoria.^{46, 47}

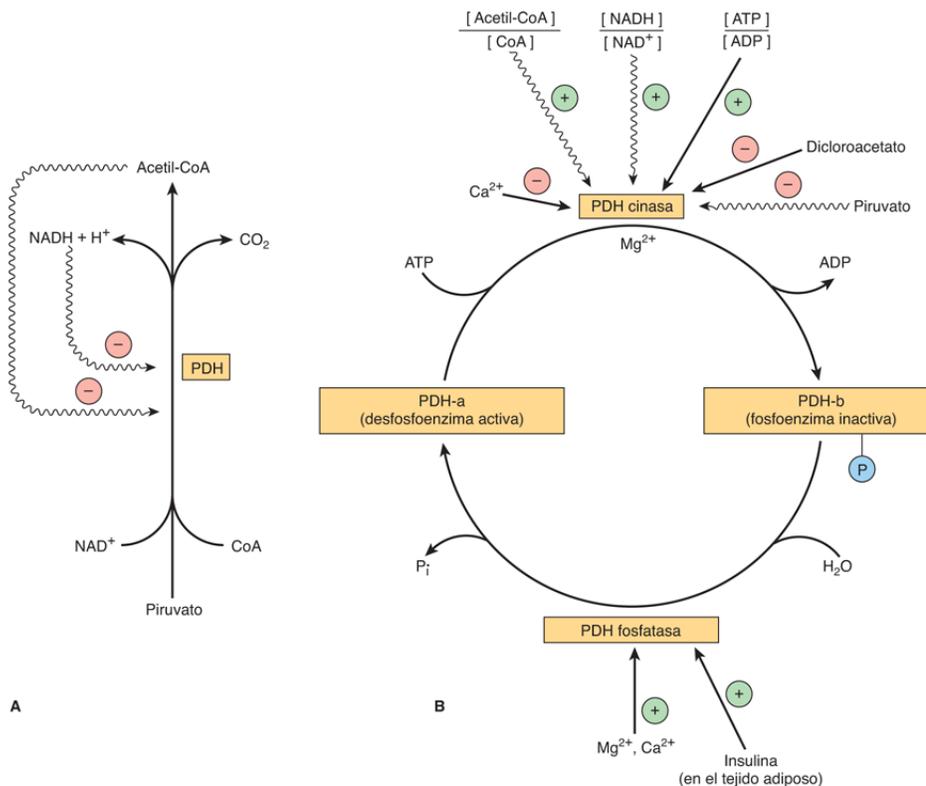


Fig.2 Oxidación del piruvato. Tomado de Rodwell, V.W. 2017⁵³

Ciclo del ácido cítrico

El ciclo del ácido cítrico, ciclo de Krebs o ciclo del ácido tricarbóxico (TAC), fue propuesto por Hans Adolf Krebs en 1937. Es la principal vía metabólica para todos los procesos aeróbicos celulares. Comprende una serie de reacciones que son importantes para las células. Este ciclo utiliza (indirectamente) aproximadamente 2/3 del oxígeno total consumido por el cuerpo y genera aproximadamente 2/3 de la energía total. Es la vía final común para la oxidación de carbohidratos, proteínas y lípidos. Juega un

papel importante en la gluconeogénesis, transaminación, desaminación y lipogénesis.⁵⁴

La oxidación de acetil-CoA representa 2/3 del consumo total de oxígeno y la producción de ATP. El Acetil-CoA se obtiene de aminoácidos como leucina, tirosina, isoleucina, lisina, fenilalanina y triptófano, triacilglicerol, carbohidratos y cuerpos cetónicos. En organismos aeróbicos, el ciclo del TCA es una vía anfibólica, que participa tanto en los procesos catabólicos como anabólicos.⁵⁴

A través de su papel en el catabolismo oxidativo de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos el ciclo de Krebs proporciona precursores para muchas rutas biosintéticas. Esto puede deberse a la importancia vital de este ciclo metabólico para la supervivencia celular.⁵⁴

Enzimas del ciclo del ácido cítrico

Las enzimas del ciclo del TCA se ubican en la matriz mitocondrial. Entre ellas se encuentran⁵⁴:

- Citrato sintasa
- Aconitasa
- Isocitrato deshidrogenasa
- Cetoglutarato deshidrogenasa
- Succinil-CoA sintasa
- Succinato deshidrogenasa
- Fumarato
- Malato deshidrogenasa

Fuentes de acetil-CoA

El acetil-CoA se obtiene de diversas fuentes, incluidos los hidratos de carbono, en los que la glucosa se descompone en ácido pirúvico y el ácido pirúvico se descarboxila en acetil-CoA. El ácido pirúvico es un compuesto de tres carbonos y el acetil-CoA es un compuesto de dos carbonos. El acetil-CoA es el punto de partida para el ciclo del TCA.⁵⁴

Etapas del ciclo de ácido cítrico

1. Condensación

El acetil-CoA (compuesto de dos carbonos) y el oxaloacetato (compuesto de cuatro carbonos) se convierten en citrato (compuesto de seis carbonos). Esta reacción es catalizada por la enzima citrato sintetasa.⁵⁴

2. Isomerización del citrato

El citrato se convierte en *cis*-aconitato, reacción catalizada por la enzima aconitasa. *Cis*-aconitato es un intermediario y se convierte adicionalmente en isocitrato. La enzima aconitasa está involucrada en las reacciones de deshidratación y luego la rehidratación.⁵⁴

3. Generación de dióxido de carbono (CO₂) por una enzima ligada a nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺)

El isocitrato se convierte en alfa-cetoglutarato por la isocitrato deshidrogenasa. El isocitrato primero se deshidrogena a oxalosuccinato que es un compuesto inestable y se descarboxila fácilmente a alfa-cetoglutarato. Además de la descarboxilación, esta etapa produce un cofactor de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH₂).⁵⁴

4. Segundo paso de descarboxilación oxidativa

Este paso lo realiza un complejo multienzimático, el complejo de deshidrogenación de alfa-cetoglutarato. En esta reacción, alfa-cetoglutarato se convierte en succinil-CoA por la enzima alfa-cetoglutarato deshidrogenasa.⁵⁴

5. Fosforilación a nivel de sustrato

En esta etapa succinil-CoA se convierte en succinato por la enzima succinato tiocinasa. En esta reacción, el guanosín difosfato (GDP) se convierte en guanosín trifosfato (GTP).⁵⁴

6. Deshidrogenación dependiente de Flavín

El succinato se convierte en ácido fumárico por la enzima succinato deshidrogenasa. En esta reacción el flavín adenín dinucleótido en su forma oxidada (FAD) se convierte en su forma reducida FADH₂.⁵⁴

7. Hidratación del enlace doble carbono-carbono

Se produce la hidratación del doble enlace C = C catalizada por la enzima Fumarato Hidratasa (también conocida como Fumarasa) y se forma malato.⁵⁴

8. Reacción de deshidrogenación que regenera oxaloacetato

El malato es deshidrogenado para producir oxaloacetato por la enzima Malato deshidrogenasa. En esta reacción, NAD se convierte en NADH₂. El oxaloacetato formado en esta reacción reacciona con acetil-CoA para formar citrato con el fin de comenzar otra ronda del ciclo del ácido cítrico.⁵⁴

Papel metabólico del ciclo del ácido cítrico⁵⁴

- Oxidación de acetil-CoA
- Integración con el metabolismo de aminoácidos
- Integración con el metabolismo de los lípidos

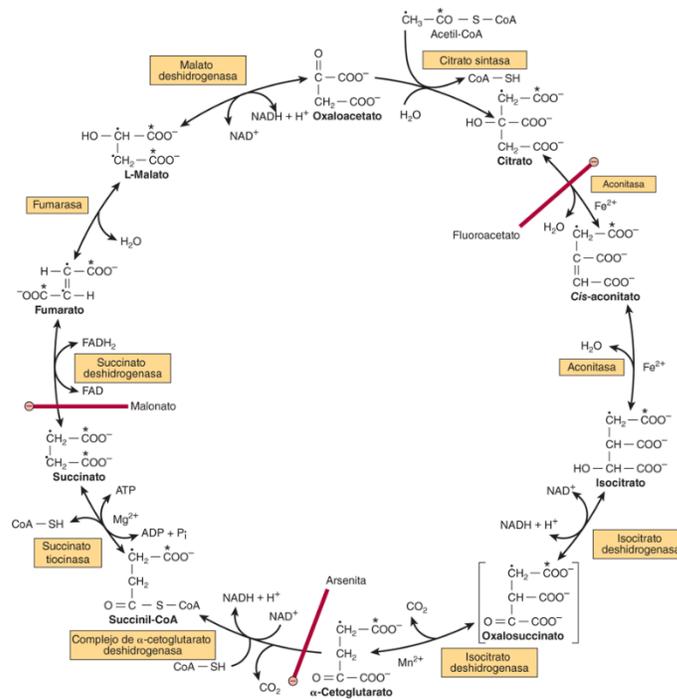


Fig.3 Ciclo del ácido cítrico. Tomado de Rodwell, V.W.2017^{b3}

Fosforilación oxidativa

Las mitocondrias producen la mayor parte de energía en las células de los mamíferos mediante la fosforilación oxidativa, proceso metabólico donde los electrones se trasladan a lo largo de una serie de moléculas portadoras que forman la cadena de transporte de electrones. Estos electrones se generan a partir de NADH (dinucleótido de adenina de nicotinamida reducido), coenzima requerida para mantener la relación energía-estado celular que se produce por la oxidación de nutrientes como la glucosa. La cadena de transporte de electrones consiste en cuatro complejos de enzimas respiratorias dispuestas en una orientación específica en la membrana interna mitocondrial. El paso de los electrones entre estos complejos libera energía que se almacena en forma de un gradiente de protones a través de la membrana y luego es utilizada por Adenosina 5` trifosfato sintasa (ATP sintasa) para producir ATP a partir del ADP. La fosforilación oxidativa actúa

como la unidad de control del metabolismo celular y el estado de energía es el determinante de la homeostasis metabólica. También tiene un papel importante en la mayoría de las vías biosintéticas (anabólicas), incluidas las de la síntesis de ácidos grasos, glucosa, glucógeno, aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos. El control en tiempo real opera, en parte, a través de la acción de moléculas pequeñas, que incluyen, entre otras, nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+), nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH), Adenosin trifosfato (ATP), adenosín difosfato (ADP), adenosín monofosfato cíclico (AMP) y fosfato inorgánico (Pi). Estas pequeñas moléculas también pueden actuar en una escala de tiempo más larga a través de sus efectos sobre la expresión génica. En los mamíferos, la fosforilación oxidativa es responsable del 95% del consumo de oxígeno del cuerpo. Bajo condiciones donde se mantiene el suministro de oxígeno, esta reacción tiene una capacidad muy alta para la producción de ATP . Por lo tanto, las mediciones *in vivo* e *in vitro* muestran que la fosforilación oxidativa mitocondrial en los tejidos en reposo funciona a un 1% de la capacidad máxima implicando varias reacciones que actúan en secuencia, y la velocidad máxima a través de cada reacción intermedia debe ser al menos lo suficientemente alta como para tener en cuenta la tasa máxima de consumo de oxígeno y la síntesis de ATP .^{48, 50, 55, 56}

La fosforilación oxidativa aporta aproximadamente 30 moléculas de ATP por molécula de glucosa.⁵⁰

Complejos de la cadena respiratoria

Las membranas internas fuertemente plegadas de las mitocondrias llamadas crestas alojan de manera organizada los componentes de la cadena respiratoria, o complejos OXPHOS (I-IV) y Junto con ATP sintasa (complejo V) forman la maquinaria para la producción de ATP . Los complejos I-IV son enzimas multisubunidad que trabajan en

conjunto para crear un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana interna mitocondrial que es utilizado por la f_1f_0 ATP sintasa (complejo V) para producir ATP a través de la fosforilación oxidativa, aunque el complejo II no puede bombear directamente protones. NADH o succinato, generado durante la glucólisis, la oxidación de ácidos grasos y en el ciclo del ácido cítrico, forman el combustible para la cadena respiratoria. Durante la catálisis, hay transferencia de electrones entre los complejos mediada por dos componentes pequeños: ubiquinona soluble en lípidos y citocromo *c* soluble en agua. Se difunden entre los complejos respiratorios I y III, y III y IV, respectivamente, y el último los lleva a formar agua a partir del oxígeno molecular.⁵⁶

Complejo I o NADH deshidrogenasa

Es la enzima más grande de la cadena de transporte de electrones (ETC) y tiene una forma L característica con una parte extensa que se incrusta en la bicapa lipídica y un hombro más pequeño que sobresale en la matriz mitocondrial. El complejo I une el sustrato de NADH al extremo distal del brazo hidrofílico y transfiere dos electrones, uno a la vez, a través del flavin mononucleótido (FMN) a la ubiquinona unida en la interfaz entre dos brazos. La reducción de la ubiquinona induce cambios conformacionales en el brazo de la membrana que produce la translocación de cuatro protones a través de la membrana interna mitocondrial produciendo un gradiente de protones.⁵⁶

Complejo II o succinato deshidrogenasa

Es el segundo punto de entrada independiente de electrones a la cadena respiratoria. Oxida succinato y transfiere electrones a través de tres grupos de sulfuro de hierro a ubiquinona. El complejo II no es una bomba de

protones y no contribuye directamente a la formación del gradiente de protones.⁵⁶

Complejo III o citocromo c oxidoreductasa

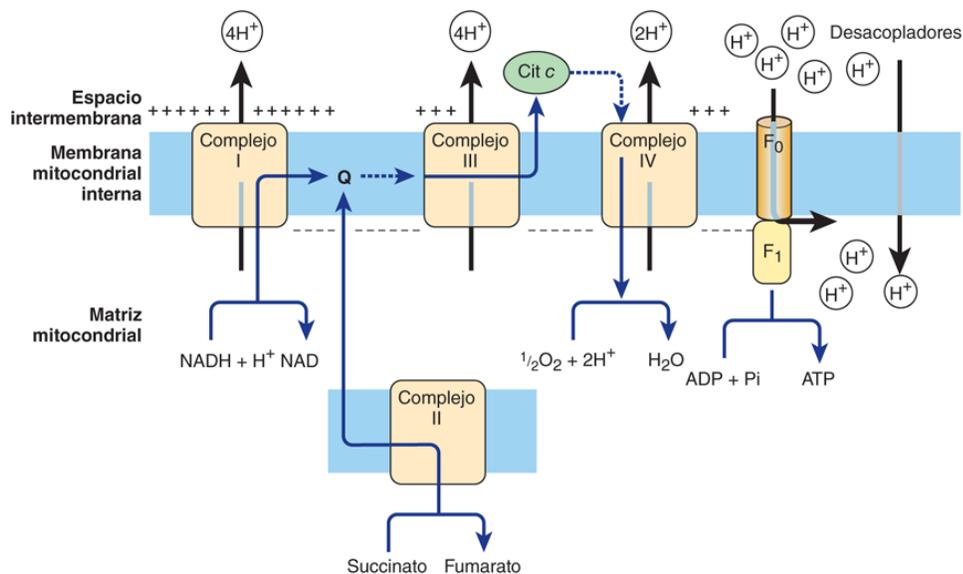
Existe en la membrana como un dímero, oxida ubiquinona a ubiquinol y como resultado puede bombear dos protones al espacio intermembranal. Los electrones del ubiquinol se pasan al transportador citocromo *c* a través de los citocromos *b* y *c*₁ del complejo III.⁵⁶

Complejo IV o citocromo c oxidasa

Acepta electrones del citocromo *c* y los entrega a una molécula de oxígeno para convertirla en dos moléculas de agua. Cuatro protones se bombean al espacio intermembranal durante este proceso.⁵⁶

ATP sintasa o complejo V

Usa la energía almacenada en un gradiente de protones para convertir el ADP en ATP. Es un complejo formado por 15-18 subunidades con una masa



total de 600 kDa.⁵⁶

Fig.4 Cadena respiratoria y Fosforilación oxidativa. Tomado de Rodwell, V.W.2017⁵³

Importancia de la generación de energía en la pulpa dental

Las células de la pulpa dental (DPCs) liberan trifosfato de adenosina (ATP) en respuesta a la presión intrapulpar y la hipoxia. La cantidad liberada depende de la magnitud del daño celular. La adenosina 50-trifosfato (ATP) está presente en el citoplasma de las células de la pulpa dental (DPCs) y se libera por exocitosis, transportadores y lisosomas a través de los canales de la membrana celular.⁵⁷⁻⁵⁹

El ATP es la principal fuente de energía para la mayoría de las funciones celulares del tejido pulpar. Sin embargo, también funciona como una importante molécula de señalización extracelular que regula la migración, proliferación y diferenciación de las células madre de la pulpa dental (DPCS) en odontoblastos, la comunicación intercelular y la angiogénesis.⁵⁷⁻⁵⁹

Importancia del oxígeno

Uno de los procesos celulares más importantes en el que participa el oxígeno (O₂) es la fosforilación oxidativa en las mitocondrias. Esto da como resultado la producción de trifosfato de adenosina (ATP). La homeostasis del oxígeno es necesaria para producir y mantener los niveles de ATP en las células de la pulpa dental (DPCs), proporcionando energía esencial para la función celular y la síntesis de proteínas.^{60,61}

Situaciones de baja tensión de oxígeno (hipoxia) o niveles más altos de lo normal (hiperoxia) aumentan la producción de especies de oxígeno reactivo (ROS), que no puede ocurrir en un sistema sin oxígeno. Se piensa que las ROS a bajas concentraciones actúan como mensajeros celulares para estimular procesos como la angiogénesis.⁶⁰

En el tejido pulpar el oxígeno es esencial para mantener la vitalidad y satisfacer sus demandas metabólicas. Un suministro adecuado de oxígeno es proporcionado por la rica vasculatura del tejido pulpar y el flujo sanguíneo relativamente alto.³

Concentración de oxígeno en los tejidos

Mientras que el aire ambiente a nivel del mar tiene una presión de oxígeno parcial (pO_2) de 149 mmHg (* 21% de la presión atmosférica o atm), el contenido de oxígeno arterial es significativamente menor, oscila entre 75 y 100 mmHg (* 10-14% atm). Dado que el oxígeno tisular depende de la difusión de los capilares y se consume constantemente por la fosforilación oxidativa, la pO_2 en los tejidos adultos normales suele ser más baja que en la sangre arterial. Por ejemplo, en los músculos esqueléticos en reposo y en el miocardio ventricular, la pO_2 oscila entre 30 y 50 mmHg (4-6,5% atm). Por lo tanto, en circunstancias normales, las células están adaptadas para realizar sus funciones fisiológicas bajo niveles de oxígeno relativamente bajos, que a menudo se conocen como hipoxia fisiológica.⁶²

El oxígeno es vital para las células vivas y juega un papel fundamental en su metabolismo. Sin embargo, la simple difusión molecular de los gases en los tejidos, así como los nutrientes, no son suficientes para suplir las necesidades metabólicas de los organismos multicelulares grandes, complejos y activos. La presión parcial de oxígeno (pO_2), que es un componente clave del estado fisiológico de un órgano, resulta del equilibrio entre la entrega de oxígeno y su consumo. En las células eucariotas el oxígeno es transportado por los glóbulos rojos que circulan en una vasculatura bien organizada. La administración de oxígeno depende de los requisitos metabólicos y el estado funcional de cada órgano. En consecuencia, en una condición fisiológica, el órgano y los tejidos se

caracterizan por su propio estado único de niveles normales de oxígeno tisular o "normoxia". La oxigenación tisular puede ser severamente alterada durante condiciones patológicas que están asociadas con la disminución de la pO₂, es decir, "hipoxia". Se usan varias unidades para definir pO₂. En el sistema internacional, la unidad de presión es Pascal (Pa). Otras unidades incluyen: barra (1 bar = 100 kPa), atmósfera (1 atm = 101.325 kPa), Torr (1 torr = 133.322 Pa) y dos unidades más utilizadas en medicina: milímetro de mercurio (1 mmHg = 133.322 Pa) y el porcentaje de oxígeno (1% = 1.013 kPa).⁶²

La pulpa dental tiene un flujo sanguíneo fisiológico de aproximadamente 0,4 a 0,5 ml / min / g, una velocidad de flujo similar a la del flujo sanguíneo cerebral pero inferior a la del flujo sanguíneo del corazón o del riñón.⁶³

La tensión de oxígeno en los tejidos de la pulpa dental es menor en comparación con la del aire y Según Lida K, es de aproximadamente 23.2 mm

Hg (equivalente a 3% de O₂) en la pulpa incisiva de la rata.^{3, 64}

	MmHg	% pO ₂
Aire	160	12.1
Aire inspirado(en traquea)	150	19.7
Aire en los alvéolos	110	14.5
Sangre arterial	100	13.2
Sangre venosa	40	5.3
Células	9.9-19	1.3-2.5
Mitocondria	<9.9	<1.3
Cerebro	33.8 +- 2.6	4.4 +- 0.3
Pulmón	42.8	5.6
Piel (plexo subpapilar)	35.2 +- 8	4.6 +- 1.1
Piel (papilas dérmicas)	24 +- 6.4	3.2 +- 0.8
Piel (región superficial)	8 +- 3.2	1.1 +- 0.4
Tejido intestinal	57.6 +- 2.3	7.6 +- 0.3
Hígado	40.6 +- 5.4	5.4 +- 0.7
Riñón	72 +- 20	9.5 +- 2.6
Músculo	29.2 +- 1.8	3.8 +- 0.2
Médula ósea	48.9 +- 4.5	6.4 +- 0.6

Fig.5 Valores normales de pO₂ en diversos tejidos humanos, expresados en mmHg y en porcentaje de oxígeno en el microambiente. Tomado de Carreau A. 2011⁶²

Transporte de oxígeno a nivel sanguíneo

Para suplir los requerimientos energéticos de todas las células eucariotas incluidas las células de la pulpa dental (DPCs), el oxígeno se transporta de los pulmones a las células individuales a través del sistema circulatorio.^{4, 62, 65}

Dado que la fosforilación oxidativa mitocondrial es la vía principal a través de la cual se genera adenosina 5'-trifosfato (ATP), es importante que se suministre una cantidad adecuada y continúa de oxígeno a estos orgánulos generadores de energía. El sistema cardio-respiratorio juega un papel clave para satisfacer esta necesidad, especialmente a través de la microcirculación. Cada célula parenquimatosa está muy cerca de al menos un capilar, de modo que la difusión pasiva asegura un suministro eficiente de oxígeno. Los capilares no son la única fuente de oxígeno; debido a la alta permeabilidad de la pared arteriolar, las arteriolas también representan una fuente importante de O₂, especialmente en tejidos con bajo flujo sanguíneo y poco consumo de oxígeno (p. ej., músculo esquelético en reposo). En los tejidos periféricos, el O₂ se lleva principalmente en forma de oxihemoglobina, es decir, unido a las moléculas de hemoglobina (Hb) dentro de los glóbulos rojos (RBC), donde la oxigenación se inicia con la liberación del O₂ de la oxihemoglobina en los glóbulos rojos seguido por su paso a través de la pared capilar al intersticio luego a la célula y finalmente a la mitocondria donde es consumido por su reacción con citocromo c oxidasa.^{66,}

⁶⁷

Circulación pulpar

Las principales funciones de la microcirculación en la pulpa dental son la entrega de oxígeno y nutrientes al tejido, eliminación de dióxido de carbono y productos de desecho. La vitalidad del tejido pulpar depende en gran medida de una microcirculación adecuada, y las alteraciones en la función microcirculatoria pueden causar procesos patológicos y dar como resultado una disfunción tisular.⁶⁵

Estudios histológicos de la circulación pulpar confirman que la arquitectura vascular tiene sus propias características estructurales. Contiene un sistema microcirculatorio caracterizado por la presencia de arteriolas, capilares y vénulas cuyas funciones principales son la regulación del medio intersticial local del tejido pulpar, oxigenación y la eliminación de productos de desecho. Se observan anastomosis arteriovenosas, anastomosis venovenosas y asas en forma de U, que proporcionan una comunicación directa entre las arteriolas y las vénulas. Los diámetros de los vasos sanguíneos son menores de 100 μm , y varían según el diente y la ubicación dentro del mismo diente. Estudios han confirmado que la pulpa es uno de los tejidos del cuerpo más altamente vascularizados, y se estima que el flujo sanguíneo pulpar es relativamente alto en comparación con otros tejidos y más rápido que en otras partes del cuerpo, se estima en 40-50 ml / min / 100 g de tejido de pulpa, observándose que la presión pulpar es una de las más altas del organismo.^{4, 65,68}

Una característica singular de la microvasculatura de la pulpa es la presencia de anastomosis arteriovenosas (AVA), que participan en el control regional del flujo sanguíneo debido a su dilatación o contracción en presencia de irritación térmica, química o mecánica, en el que tiene lugar una alteración en la vasculatura, lo que aumenta la permeabilidad vascular y el estasis vascular disminuyendo la resistencia de los vasos y provocando edema. Todos estos cambios son causados no solo por los mecanismos de control local de los

vasos sanguíneos (presencia de esfínteres pre y postcapilares) sino también por el control principal que realiza el sistema nervioso en la regulación del flujo sanguíneo de la pulpa debido a la liberación de neurotransmisores por las fibras simpáticas, parasimpáticas y somatosensoriales.⁴

Alteraciones en la circulación pulpar, como la disminución del flujo sanguíneo conlleva a condiciones de hipoxia que promueve cambios en la proliferación y diferenciación celular. A continuación se resalta la importancia de la hipoxia y su efecto en las células de la pulpa dental (DPCs).

Hipoxia

La hipoxia es un estado de presión de oxígeno reducido por debajo de un umbral crítico, que restringe la función de órganos, tejidos o células. Puede ser causada por una reducción en el suministro de oxígeno, por ejemplo a mayor altitud o por isquemia localizada causada por la interrupción del flujo sanguíneo a un área determinada. Sin embargo, la hipoxia juega un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis dentro del cuerpo desde el comienzo del desarrollo embrionario, también tiene un papel importante y beneficioso en la fisiología de los mamíferos; de hecho, su presencia es crucial para una embriogénesis adecuada. A nivel celular, la respuesta a la hipoxia incluye un cambio del metabolismo aeróbico a la glucólisis anaeróbica y la expresión de una variedad de proteínas de estrés que regulan la muerte o supervivencia celular. Otras adaptaciones que se producen a nivel tisular para aumentar el suministro de oxígeno incluyen la inducción de eritropoyesis y angiogénesis.^{69, 70}

La hipoxia puede regular positivamente las moléculas proangiogénicas por varios mecanismos. Estos incluyen activación transcripcional directa por el factor inducible por hipoxia (HIF), regulación en el alza indirecta por

moléculas inducidas por HIF o cambios en la fisiología celular y activación transcripcional por factores de transcripción que no son HIF.^{15, 70,71}

El factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1) se reconoce como el regulador principal de la respuesta hipóxica, activando la transcripción de > 100 genes cruciales para la adaptación a la hipoxia. HIF-1 también contribuye al crecimiento tumoral. La participación de HIF-1 en afecciones fisiopatológicas como la isquemia, cáncer y su valor como objetivo terapéutico, ha puesto considerable interés en la comprensión de la regulación HIF-1.⁶⁹

Respuestas de las células pulpares (DPCs) ante la hipoxia

Las células pulpares dentales (DPCs) responden a la hipoxia tanto fisiológica como patológicamente para proteger la pulpa de lesiones. Se ha informado que la hipoxia a corto plazo tiene efectos sobre el crecimiento de DPCs para inducir el paro del ciclo celular y la apoptosis. Sin embargo, una condición de hipoxia a largo plazo promueve la proliferación de células madre de la pulpa dental (DPCS). También recientes estudios realizados en DPCs mostraron que la hipoxia incrementó la población de estas células, el potencial angiogénico y la expresión de eritropoyetina inducidos por HIF-1 α . Se sabe que las DPCs tienen potencial de mineralización, la formación de dentina reparadora requiere mineralización dirigida por DPCs. De hecho, muchos informes han mostrado que las células madre de la pulpa dental (DPSCs) generaron nódulos calcificados *in vitro*, Incluso en *in vivo*, las DPSCs y fibroblastos de pulpa dental humana (HDPF) inducidas por HIF-1 α regeneraron el complejo de dentinopulpar.^{1, 4, 5, 17, 20, 21, 30,31, 72, 73}

Como resultado de la falta de oxígeno en el tejido pulpar se inicia la angiogénesis, a continuación se describe el proceso angiogénico.

Angiogénesis

La angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de una vasculatura preexistente. La regulación de este proceso por la hipoxia es un mecanismo importante para el mantenimiento de la afluencia adecuada de oxígeno y nutrientes necesarios para suplir las necesidades metabólicas de tejidos y órganos. Se ha demostrado que el factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1) desencadena y regula este evento a través de la inducción de genes proangiogénicos por diversas vías de señalización.^{4, 5, 75}

Este evento se inicia como resultado de un suministro insuficiente de oxígeno y nutrientes. Está regulada por una producción muy equilibrada de numerosas moléculas estimuladoras e inhibitorias tales como: factores de crecimiento, citocinas, matriz de metaloproteinasas (MMP), inhibidores endógenos de angiogénesis, factores de transcripción HIF, moléculas de adhesión y también componentes de la matriz extracelular (ECM).^{4,12}

Este tipo de desarrollo de vasos sanguíneos es indispensable para procesos fisiológicos como la cicatrización y la reparación de heridas.⁴

En la pulpa dental la angiogénesis es esencial para el desarrollo del diente y un requisito previo para la reparación exitosa del tejido después de una lesión e inflamación al establecer el suministro de sangre, aporte de oxígeno, nutrientes y células madre prevasculares. Se han identificado factores de crecimiento angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF-2) y el factor de crecimiento transformante (TGF- β) en la pulpa dental humana y la matriz de dentina.^{2,12}

Etapas de la angiogénesis

La angiogénesis es un proceso complejo y dinámico que implica las siguientes etapas:

1. Ruptura de la membrana vascular que consiste en la fragmentación de la capa basal y la matriz extracelular de los vasos sanguíneos debido a la acción proteolítica de algunas enzimas, como las metaloproteinasas (MMP) y activadores del plasminógeno que son segregantes bloqueados por las células endoteliales y los macrófagos después de la estimulación.⁴
2. Posterior a la ruptura de la vasculatura, la migración celular comienza debido a señales quimiotácticas y multiplicación (por mitosis) de las células endoteliales en el espacio perivascular.⁴
3. Luego, se agranda el brote del futuro vaso sanguíneo que se ubicará cerca de los vasos sanguíneos preexistentes. Los capilares sanguíneos comienzan a brotar y doblarse para formar el lumen del vaso y luego se unen entre sí en las puntas de sus tetillas hasta formar ramificaciones en forma de asa.⁴
4. El flujo sanguíneo comienza a circular después de la formación de tales ramificaciones que también producirán nuevos brotes hasta la formación de un nuevo plexo capilar.⁴
5. Finalmente, la aposición de los pericitos y las células musculares lisas tiene lugar para dar soporte a la nueva síntesis de vasos.⁴

La matriz extracelular que rodea los vasos constituye un andamio para el nuevo endotelio vascular, ya que favorece la proliferación, migración y adhesión de las células endoteliales en tres dimensiones. Además, como consecuencia de la generación de fuerzas contráctiles mecánicas en la matriz extracelular, las células endoteliales establecen alguna forma de orientación basada en la tensión. Este proceso permite la formación de redes de vasos sanguíneos interconectados justo donde se localiza la lesión, donde el colágeno tipo 1 interviene en el cambio de forma de las células endoteliales. El principal factor angiogénico es el factor de crecimiento

endotelial vascular (VEGF), que induce la angiogénesis y también favorece la expresión de integrinas en las células endoteliales microvasculares.^{4, 76}

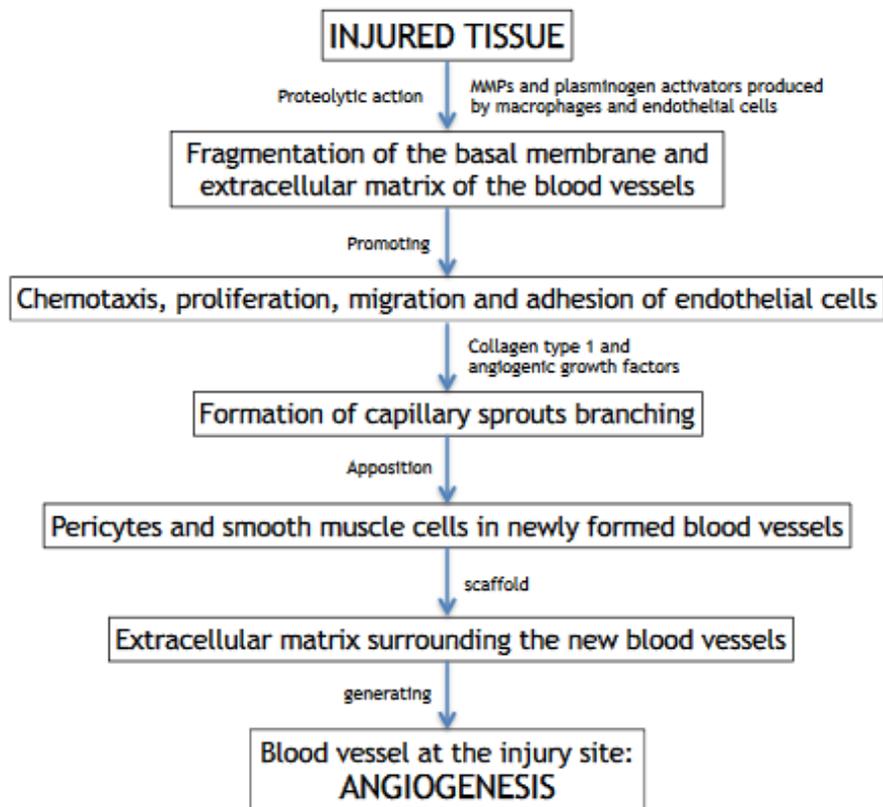


Fig. 6 Fases de la angiogénesis: la ruptura de la membrana vascular a través de la acción proteolítica de enzimas como las metaloproteinasas y los activadores del plasminógeno secretados por las células endoteliales y los macrófagos después de la estimulación. Los macrófagos, granulocitos y fibroblastos producen factores de crecimiento con potencial angiogénico, como VEGF, PDGF y bFGF. En consecuencia, la migración y la multiplicación de las células endoteliales comienzan en el espacio perivascular, y se produce la ampliación del brote del futuro vaso sanguíneo. Finalmente, se produce la aposición de pericitos y células musculares lisas que funcionarán como soporte de los vasos recientemente sintetizados. Tomado de Caviedes-Bucheli 2016⁴

Factores de crecimiento que modulan la angiogénesis

Para que los vasos funcionen correctamente, deben estar maduros y estar cubiertos por factores de crecimiento.⁷⁵

Entre los principales factores de crecimiento se encuentran:

Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

Dada la complejidad del proceso angiogénico, es notable que un solo factor de crecimiento, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) regule este proceso de manera predominante. VEGF es una proteína de unión a heparina con afinidad específica por las células endoteliales y desempeña un papel clave en la angiogénesis. Existen varios VEGF ya que es una proteína que se divide por splicing alternativo de acuerdo a las necesidades del medio. Esta familia de glicoproteínas incluye seis miembros, VEGF-A, B, C, D y E que tienen efectos autocrinos y paracrinos en la pulpa dental. Los factores VEGF-A y VEGF-B están estrechamente relacionados con el fenómeno angiogénico, ya que estimulan la proliferación celular endotelial y aumentan la permeabilidad. El VEGF también parece inducir la diferenciación de células de pulpa dental humana en células endoteliales, y sus ligandos se expresan en células de la pulpa dental (DPSCs) y fibroblastos de la pulpa (HDPF) en condiciones hipóxicas. También se sabe que los vasos sanguíneos y las células inmunes están equipados con receptores VEGFR-2 y VEGFR-3. Las neuropilinas tales como, neuropilina 1 (NRP1) son co-receptores de VEGF, que potencian la actividad de VEGFR-2, pero también señalizan de forma independiente. Similar a la deficiencia de VEGFR-2, la pérdida de VEGF aborta el desarrollo vascular.^{4, 77}

Angiogenina (ang) y angiopoyetina 2 (ANG-2)

La angiogenina y angiopoyetina tienen funciones relacionadas con la proliferación de células endoteliales. En presencia de VEGF, ANG-2 causa proliferación y migración de células endoteliales y estimula la formación de

nuevos vasos, mientras que la angiogenina coordina la formación neovascular junto con el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) y VEGF.⁴

Factor inducible por hipoxia (HIF-1)

HIF-1 es un $\alpha\beta$ -heterodímero que fue reconocido por primera vez como un factor de unión al ADN que solo mediaba la actividad inducible por hipoxia de la eritropoyetina (EPO), descubierto mediante la identificación de un elemento de respuesta a la hipoxia (HRE, 5'-RCGTG-3') en el potenciador 3' del gen para EPO.^{14, 75}

Los factores de transcripción HIF median las respuestas adaptativas a los cambios en la oxigenación tisular, también activan la transcripción de múltiples genes que codifican proteínas que están involucradas en la angiogénesis y tono vascular, metabolismo de la glucosa, adaptación metabólica, eritropoyesis, crecimiento y diferenciación celular, supervivencia y apoptosis, por lo tanto son factores críticos en el desarrollo, la fisiología y la enfermedad.⁷⁸⁻⁸⁶

Estructura molecular de HIF-1

Las moléculas HIF-1 son proteínas heterodiméricas estructuradas por una subunidad α lábil al oxígeno (O_2) y una subunidad β estable [también conocida como subunidad del translocador nuclear de hidrocarburo de arilo (ARNT)]. La mitad amino terminal de cada subunidad contiene dominios básicos hélice-bucle-hélice (bHLH) y dominios de proteínas PER-ARNT-SIM (PAS) que actúan como sensores.⁷⁸⁻⁸⁶

El dominio bHLH define una superfamilia de factores de transcripción eucarióticos diméricos en los que el dominio HLH media la dimerización y el dominio básico se ponen en contacto con el ADN.⁷⁸⁻⁸⁶

Las proteínas bHLH-PAS representan una familia relativamente pequeña de proteínas bHLH que solo se encuentran en especies de metazoos multicelulares. Estas proteínas utilizan los dominios HLH y PAS para la dimerización. Esta familia consta de dos clases de proteínas (clase I y clase II) que se heterodimerizan.⁷⁸⁻⁸⁶

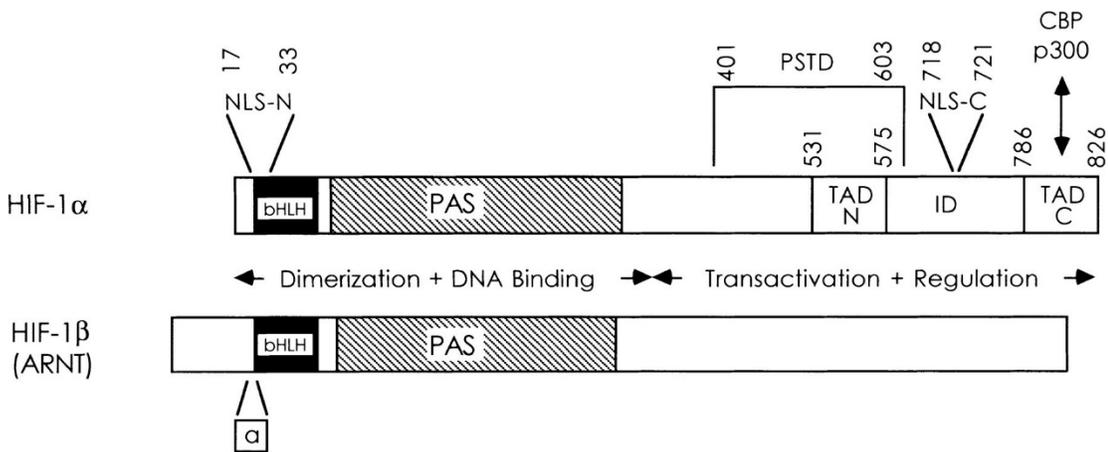


Fig. 7 Estructura del factor inducible por hipoxia (HIF-1). HIF-1 α es un polipéptido de 826 aminoácidos, mientras que HIF-1 β se expresa como un polipéptido 774 o 789 aminoácidos. Los dominios bHLH, translocador nuclear de arilo hidrocarburo (ARNT) y el dominio PAS son necesarios para la heterodimerización, que a su vez es esencial para la unión al ADN. Los dominios reguladores adicionales de HIF-1 α incluyen señales de localización nuclear amino-terminal y carboxi-terminal (NLS-N y NLS-C, respectivamente), el dominio de estabilización de proteína rica en prolina-serina-treonina (PSTD), dominios de transactivación (TAD-N y TAD-C, respectivamente) y el dominio inhibidor transcripcional (ID). Coactivadores transcripcionales CBP y p300 interactúan con TAD-C. Tomado de Semenza, G. L. 2000.⁸⁶

La subunidad HIF-1 α tiene dos dominios de transactivación (TAD): NH₂-terminal o amino terminal (N-TAD) y carboxilo terminal o COOH-terminal (C-TAD). Estos dos dominios son responsables de la actividad transcripcional de HIF-1 α . C-TAD interactúa con coactivadores tales como la proteína de unión CREB (CBP / p300) para modular la transcripción génica de HIF-1 α bajo hipoxia. N-TAD es responsable de estabilizar HIF-1 α frente a la degradación. Además, todas las subunidades HIF- α son distintas de HIF-1 β porque todas

tienen un dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODDD) que se solapa con N-TAD en sus estructuras. Este dominio ODDD es importante para mediar en la estabilidad de regulación de O₂.⁷⁸⁻⁸⁶

HIF-1 α , es la subunidad que induce y media las respuestas celulares ante situaciones de hipoxia, se acumula y dimeriza con HIF-1 β para la regulación de más de 100 genes dianas, a continuación se describe la biología de HIF-1 α .⁷⁸⁻⁸⁶

Isoformas de HIF α

De acuerdo con la complejidad de la respuesta hipóxica, existen tres isoformas principales de HIF- α (HIF-1 α , HIF-2 α y HIF-3 α). Todos están codificados por distintos grupos génicos y se genera una mayor diversidad mediante el uso de promotores alternativos y patrones de empalme. HIF1 α e HIF2 α (También conocidos como EPAS1) son los más similares estructuralmente y mejor caracterizadas. HIF3 α (IPAS) existe como múltiples variantes algunos de los cuales inhiben la actividad de HIF1 α e HIF2 α .^{79, 80, 82,84}

HIF1 α se ubica usualmente en todas las células mientras que HIF2 α e HIF3 α se expresan selectivamente en ciertos tejidos, incluyendo células endoteliales vasculares (CE), neumocitos tipo II, células intersticiales renales, células parenquimatosas hepáticas y células de la línea lineal mieloide. Como es frecuente en el caso de los mediadores claves en varias vías de señalización.^{79, 80, 82,84}

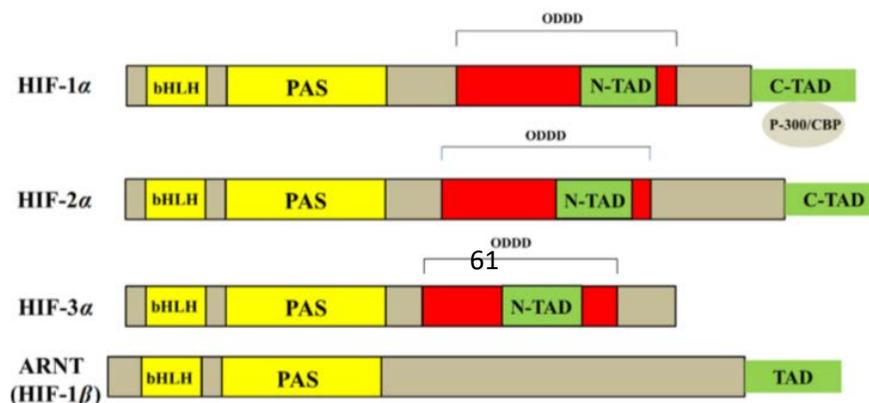


Fig.8 Dominios funcionales (bHLH, PAS, TAD) para proteínas relacionadas con la familia bHLH-PAS. HIF-1 α y HIF-2 α comparten un alto grado de similitud de secuencia de aminoácidos y ambos tienen dos TAD distintos (C-TAD y N-TAD). Por el contrario, HIF-3 α solo tiene N-TAD. Tomado de Georgina N. Masoud, Wei Li 2015.⁸⁴

Regulación de HIF-1 α por hidroxilación de proteínas

En condiciones normóxicas, las subunidades HIF- α tienen una vida media muy corta. Las células sintetizan y degradan continuamente la proteína HIF- α . Sin embargo, bajo concentraciones decrecientes de oxígeno, la degradación de HIF- α se retarda. La interfaz entre el oxígeno y la subunidad HIF- α es proporcionada por distintas reacciones enzimáticas: la hidroxilación de dos residuos de prolilo (Pro402 y Pro564 en HIF-1 humano) en el dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODDD) de las subunidades α .⁸²

Como para cualquier proteína, el nivel de expresión de HIF-1 α está determinado por las tasas de síntesis y degradación de proteínas donde se regula principalmente. Por lo tanto, las células constitutivamente transcriben HIF-1 α . Sin embargo, HIF-1 α a nivel celular es casi indetectable. La degradación de la proteína HIF-1 α está regulada por la prolil hidroxilasas enzimas dependientes del O₂. La señalización se da a través de las ligasas que contienen la proteína supresora de tumores von Hippel-Lindau (VHL), que se une específicamente a HIF-1 α hidroxilado. HIF-1 α se degrada rápidamente por el proteosoma. La falta de oxígeno conduce al bloqueo del HIF-1 α , dando como resultado una rápida acumulación de estas proteínas y la activación de la respuesta transcripcional HIF^{79, 80, 82-84}.

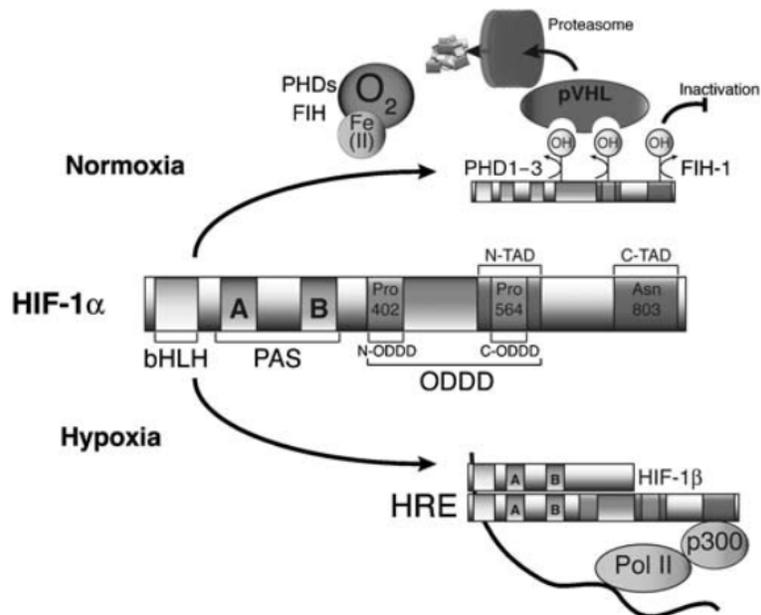


Fig.9 Regulación de la proteína HIF-1 α por proil hidroxilación y degradación proteosomal. Hay tres sitios de hidroxilación en la subunidad HIF-1 α : dos restos prolilo en el dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODDD) y un residuo de asparaginilo en el dominio de transactivación C-terminal (C-TAD). En presencia de oxígeno, la proil hidroxilación es catalizada por las PHD dependientes de Fe (II), oxígeno y 2-oxoglutarato. Los residuos de prolilo hidroxilados permiten la captura de HIF-1 α por la proteína de von Hippel-Lindau (pVHL), lo que conduce a la ubiquitinación y a la posterior degradación proteosómica. La hidroxilación de asparaginilo es catalizada por una enzima denominada inhibidora de HIF (FIH) en un solo sitio en el C-TAD. Esta hidroxilación previene el reclutamiento de cofactores. En ausencia de hidroxilación debido a hipoxia o inhibición de PHD, HIF-1 α se transloca al núcleo, se heterodimeriza con HIF-1 β y se une a elementos de respuesta de hipoxia (HRE) en las regiones reguladoras de genes diana. Tomado de Weidemann A. 2008⁸²

Al menos cuatro proil-hidroxilasas (PHD1 - PHD3 y P4H - TM) y una aspargil-hidroxilasa (FIH-1), dependen críticamente de su actividad enzimática sobre la tensión de oxígeno celular: la hipoxia disminuye la actividad de las hidroxilasas, lo que reduce la degradación rápida de las subunidades HIF- α permitiendo la unión a las subunidades HIF β y a los dominios de ADN. De este modo, dependiendo de la abundancia de oxígeno celular y de la actividad de las subunidades HIF- α , la expresión génica se controla mediante la tensión del oxígeno a través de la actividad enzimática sensible a O₂.^{78, 79, 82, 84}

Dos subunidades α , HIF-1 α e HIF-2 α , se regulan muy similarmente, y ambas dimerizan con la subunidad HIF-1 β también conocida como translocador nuclear de receptor de arilhidrocarburo (ARNT), porque se descubrió antes

que HIF-1 α y se identificó como un compañero heterodimérico del receptor de hidrocarburo de arilo (AhR) facilitando su translocación al núcleo. HIF-1 β / ARNT se encuentra constitutivamente en el núcleo, mientras que las subunidades HIF- α entran en el núcleo bajo condiciones hipóxicas. Estas dos subunidades pertenecen a la familia de proteínas bHLH-PAS, porque sus estructuras están relacionadas con dos proteínas nucleares que se encuentran en *Drosophila* (Per y Sim, PAS) que tienen una estructura básica de hélice-bucle-hélice (bHLH). Las proteínas bHLH se caracterizan por tener dominios reconocibles (b, HLH, PAS y TAD) que pueden regular sus propias transcripciones y la expresión de otros miembros de la familia.^{79, 80, 83,85}

En general, las estructuras bHLH-PAS son esenciales para permitir la formación de heterodímeros entre las subunidades HIF-1 α e HIF-1 β y para la unión a la secuencia de los elementos de respuesta a la hipoxia (HRE) en los genes diana. Los dominios de base tienen propiedades de unión al ADN requeridas para unir los HRE en el gen, mientras que en el dominio hélice-bucle-hélice (HLH) es donde ocurre la dimerización con otras proteínas.^{79, 80, 85}

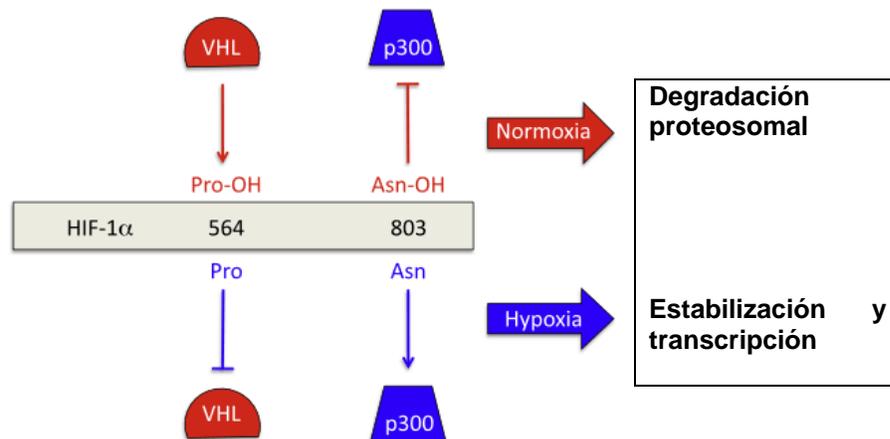


Fig.10 Regulación negativa de la actividad de HIF-1 por oxígeno. Top: En presencia de O₂: la proil hidroxilación

de HIF-1 α conduce a la unión de la proteína von Hippel-Lindau (VHL), que recluta una ubiquitina-proteína ligasa que se dirige a HIF-1 α para degradación proteasómica; la asparaginil hidroxilación de HIF-1 α bloquea la unión de la proteína coactivadora p300. Bottom: en condiciones hipóxicas, las reacciones de hidroxilación se inhiben, lo que conduce a una menor unión a VHL y estabilización de proteínas, así como a un aumento de la unión a p300 y activación transcripcional. Tomado de Semenza G. 2011⁸⁵

Los mecanismos de detección de oxígeno son muy sensibles a las fluctuaciones en las concentraciones de oxígeno intracelular y responden a un bajo nivel de oxígeno mediante la acumulación rápida de los factores inducibles por hipoxia (HIF), que son factores de transcripción heterodiméricos. El aumento de HIF activa la transcripción de un gran número de genes diana de HIF como fosfoglicerato quinasa (PGK), eritropoyetina (Epo) y factor de crecimiento endotelial vascular-A (VEGFA), como resultado, la glucólisis aumenta, lo que compensa parcialmente la reducción de la fosforilación oxidativa. Del mismo modo el aumento de Epo y VEGF-A también facilitan la adaptación a la hipoxia, debido a una mejor administración de oxígeno como resultado de una eritropoyesis y angiogénesis más activas.¹⁵

HIF-1 y la angiogénesis en el tejido pulpar

Debido a que los vasos suministran oxígeno, las células endoteliales están equipadas con sensores de oxígeno y factores inducibles por hipoxia (HIF-1), como el factor inducible por hipoxia 2 α (HIF-2 α), respectivamente, que permiten que los vasos reajusten su forma para optimizar el flujo sanguíneo. Las células endoteliales en reposo forman una monocapa de células de la falange con una superficie aerodinámica, interconectadas por moléculas de unión como las proteínas VE-cadherina y claudinas. Estas células endoteliales están protegidas por pericitos, que suprimen su proliferación y liberan señales de supervivencia celular a través del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y Angiopoyetina 1 (ANG-1). Las células endoteliales y los pericitos en reposo producen una membrana basal común. Cuando un vaso inactivo detecta una señal angiogénica, como VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular C (VEGF-C), Angiopoyetina 2 (ANG-2), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) o quimiocinas, liberadas por las células hipóxicas los pericitos primero se desprenden de la pared del vaso

(en respuesta a ANG-2) y se liberan de la membrana basal mediante degradación proteolítica, que está mediada por la matriz de metaloproteinasas (MMP). HIF-1 α , hace que las células endoteliales respondan a estas señales angiogénicas.⁷⁴

La actividad principal del factor inducible por hipoxia (HIF-1) en el tejido pulpar es básicamente la inducción de los proceso angiogénicos para la formación de nuevos vasos sanguíneos a través de los cuales se llevara el oxígeno y los nutrientes esenciales que suplirán las demandas metabólicas durante la actividad celular de las células de la pulpa dental (DPCs) específicamente la proliferación y diferenciación de los odontoblastos y células madre pulpares (DPSCs) para la formación de dentina y cemento durante el proceso de desarrollo radicular y la formación de dentina reactiva o terciaria como mecanismos defensivo de la pulpa dental ante factores irritantes.^{1-7,12,30}

HIF y el desarrollo radicular

Durante el proceso de desarrollo radicular, cuando la vaina epitelial de Hertwig (HERS) crece apicalmente, las células de la papila dental adyacentes a la capa epitelial interna de la HERS y la membrana basal epitelial son inducidas a convertirse en odontoblastos, y más tarde a formar la dentina de la raíz.

Este proceso está regulado por numerosas moléculas de señalización las cuales son inducidas por el oxígeno.⁸⁷⁻⁹⁰

Por lo tanto, el oxígeno es una potente molécula de señalización bioquímica y un importante regulador génico durante el desarrollo radicular. El oxígeno participa en el intrincado equilibrio entre la proliferación celular y el compromiso con la diferenciación. Además, la concentración de oxígeno influye significativamente en la forma en que las células remodelan su

entorno, por ejemplo, la regulación de la matriz. La respuesta a la hipoxia depende del tipo celular, pero el oxígeno afecta procesos celulares críticos como la adhesión, proliferación, metabolismo, apoptosis, expresión de factores de crecimiento, secreción de la matriz extracelular y patrones de diferenciación. Por lo tanto, el oxígeno afecta las características celulares y los procesos de remodelación tisular, y puede tener el potencial de dirigir el destino celular. El factor inducible por la hipoxia (HIF) es la vía central para detectar y responder a los cambios en la disponibilidad local de oxígeno.⁸⁷

En tal sentido Choi, H., et al., observó en su estudio que la hipoxia está acompañada por un aumento en la expresión de la proteína HIF-1 α , que, a su vez, aumenta la expresión de la proteína de cemento 1 (CEMP1) y la mineralización de las células madre pulpares humanas (DSC) promoviendo la cementogénesis *in vitro*. También proporcionamos evidencia de que la actividad de HIF-1 es necesaria para estimular la producción de CEMP1 y permitir la mineralización. Además, encontraron que el desarrollo de la raíz del diente del ratón se produce en un estado hipóxico y que la estimulación de la vía de HIF-1 mejora la expresión de la proteína CEMP1 en espacios del ligamento periodontal (PDL) de ratón *in vivo*.⁸⁷

Importancia de HIF-1 en la regulación de la angiogénesis en el tejido pulpar

Cuando la pulpa dental se inflama la perfusión disminuye, afectando la nutrición y la oxigenación del tejido. Al establecerse la hipoxia, las células de la pulpa dental (DPCs) liberan factores inducibles por hipoxia (HIF) que inducirán la angiogénesis para la posterior reparación del tejido. Entre las causas que pueden producir desde una irritación crónica que podría desencadenar una respuesta angiogénica o conllevar a una necrosis se encuentran: los procedimientos restauradores, movimiento dental ortodóncico, trauma oclusal y caries. También se ha informado que la

administración de anestésicos locales con vasoconstrictor reduce el flujo sanguíneo periférico y causan hipoxia en el tejido pulpar y ligamento periodontal.^{1, 4,17}

HIF y caries dental

La causa principal de lesión tisular del complejo dentino-pulpar es la infección bacteriana o la caries, que conducen a una reacción inflamatoria. Se ha informado la presencia de tejido hipóxico con muchos desechos en el sitio de la inflamación. Bajo estas condiciones, las células pulpares aumentan rápidamente la expresión del factor inducible por hipoxia (HIF-1) que media la transcripción elevada de diversos genes angiogénicos, tales como: factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas AB, factor de crecimiento placentario y las angiopoyetinas. También regula la expresión de quimioquinas angiogénicas, como el factor 1 derivado de las células estromales y esfingosina-1-fosfato y sus receptores. Cuando se forman nuevos vasos sanguíneos y se restablece la homeostasis de oxígeno, disminuye la expresión de HIF-1, seguida de una detención de la angiogénesis.²²

El proceso de reparación del tejido dentinario después de una infección por caries se conoce como dentinogénesis reparadora, y su característica principal es la formación de dentina terciaria, que resulta del reclutamiento y la proliferación de células madre de pulpa dental (DPSC). La hipoxia juega un papel importante en la diferenciación de estas células. Después del daño del diente, estas células progenitoras se activarán para migrar a los sitios de la lesión y diferenciarse en células de tipo odontoblasto, que sintetizan y excretan una matriz extracelular para formar la dentina reparadora. Se ha demostrado que las DPSC promueven la expresión del factor inducible por hipoxia (HIF) principal molécula de señalización de este complejo proceso.^{3,}

26,28

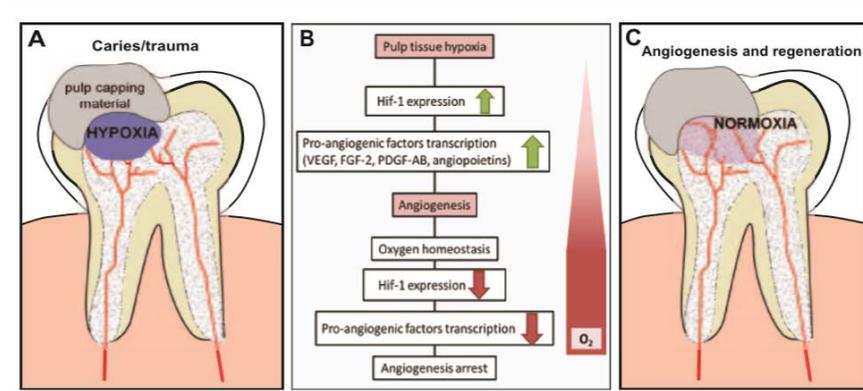


Fig.11 La hipoxia es la fuerza impulsora de la angiogénesis. (A) La hipoxia ocurre después del tratamiento de protección del tejido pulpar dañado por caries o trauma. (B) La hipoxia eleva la producción de HIF-1, que es un factor de transcripción conocido de varios genes proangiogénicos. (B, C) Esto conduce a la angiogénesis y restaura así el suministro de oxígeno al tejido hipóxico requerido para la regeneración. Una vez que se ha alcanzado una situación de normoxia, HIF-1 está regulado negativamente, seguido de la detención de la angiogénesis. FGF-2, factor de crecimiento de fibroblastos 2; PDGF-AB, factor de crecimiento derivado de plaquetas AB; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular. tomado de Rombouts C.2017²²

HIF y Trauma oclusal

Según Caviedes, 2016, el trauma oclusal es la condición en la cual la función masticatoria excede la tolerancia del ligamento y la pulpa dental, causando daños en ambos tejidos. El estrés mecánico que causa el trauma oclusal, somete a la pulpa dental a un proceso de envejecimiento donde la perfusión disminuye, afectando la nutrición y la oxigenación del tejido. Simultáneamente, en un intento de adaptarse a su nueva condición, la pulpa crea nuevos vasos sanguíneos.⁴

Estudios refieren que en presencia de traumatismo oclusal, los niveles de oxígeno en el tejido pulpar disminuyen causando daño celular, trastornos vasculares e inflamación. Sin embargo, para compensar esta situación se potencian la expresión de HIF-1 α y VEGF que inducen hipoxia en células

madre de la pulpa dental (DPSC) y fibroblastos de la pulpa dental humana (HDPF), y por lo tanto, tiene lugar la angiogénesis.^{4, 5, 20, 21}

El trauma oclusal se ha asociado con los fenómenos de calcificación de la pulpa. El mecanismo por el cual la pulpa produce dentina terciaria es precedido por la formación de nuevos vasos sanguíneos. A medida que disminuye la perfusión de la pulpa en presencia de estímulos dañinos, el tejido debe reabastecerse con fluidos esenciales para que los procesos de reparación se realicen de manera óptima. La neoformación vascular llevará a cabo la función de suministrar oxígeno y nutrientes al tejido dañado para hacer que la pulpa dental sea viable a pesar de la aposición de dentina que caracteriza los fenómenos de calcificación.⁴

Varias células inducen procesos defensivos y reparadores dentro del complejo pulpa-dentina. Entre estas células, los odontoblastos son responsables de producir la dentina terciaria reactiva según la intensidad y la duración del estímulo; en segundo lugar, las células madre de la pulpa dental (DPSC) participan en el proceso de producción de dentina terciaria; y, finalmente, los fibroblastos de pulpa dental humana (HDPF) que se pueden encontrar en mayor proporción son los responsables de la matriz de colágeno que se mineraliza justo antes de la formación reparadora de dentina terciaria.^{1-5,21}

En tal sentido Zagh et al., observó en su estudio un alza en los marcadores de los genes relacionados con mineralización y calcificación de la matriz dentinaria (fosfatasa alcalina, sialofosfoproteínas, osteocalcina y la proteína de la matriz de dentina1). También refiere que las DPSCs, exhiben un alto potencial de diferenciación, particularmente en la diferenciación odontogénica. Previos estudios han indicado que las DPSCs tienen la capacidad de diferenciarse en odontoblastos *in vitro* y formar tejido ectópico dentino-pulpar *in vivo*.²¹

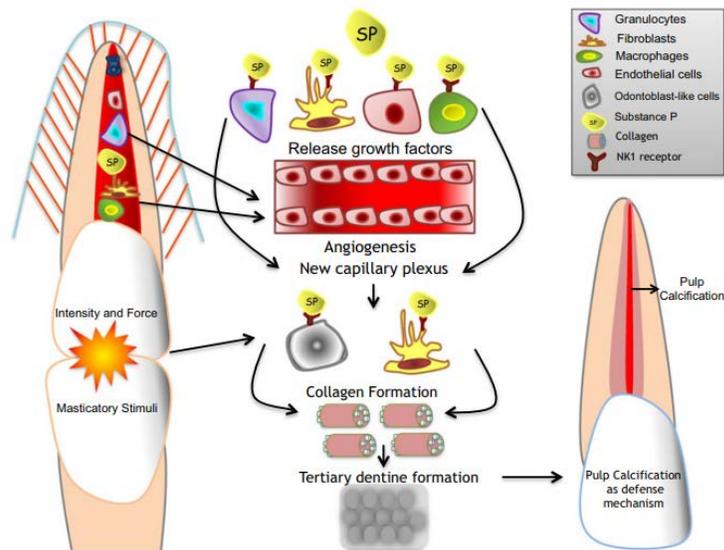


Fig.12 Respuesta de la pulpa dental humana al trauma oclusal y la función masticatoria. Los cambios angiogénicos están mediados por SP a través de mecanismos directos e indirectos en los que células como macrófagos, granulocitos, células endoteliales y fibroblastos liberan factores angiogénicos que inducen la formación de nuevos vasos sanguíneos. Esos vasos son necesarios para la formación de colágeno y dentina terciaria por fibroblastos rediferenciados, similares a los odontoblastos y células similares a odontoblastos como mecanismo de defensa. Caviedes, 2016.⁴

HIF y el movimiento dental por ortodoncia

Se ha informado que la aplicación de fuerzas de ortodoncia a los dientes durante períodos de tiempo específicos induce cambios moleculares en las células del ligamento periodontal, hueso alveolar y el complejo dentinopulpar. Estudios histológicos han informado hipoxia del tejido pulpar, vacuolización, interrupción de la capa odontoblástica, alteraciones de la microcirculación pulpar, hemorragia, fibrohalinosis, calcificaciones pulpaes e incluso necrosis del tejido como los principales cambios pulpaes. Algunos autores han observado que las fuerzas de ortodoncia excesivas y prolongadas cuando se aplican a los dientes pueden dar como resultado la

pérdida de vitalidad de la pulpa. Cada una de estas condiciones que afectan la diferenciación, reparación y migración celular, está dirigida por numerosos mediadores moleculares e inflamatorios. Como resultado, se induce la remodelación ósea, lo que facilita el movimiento de los dientes de ortodoncia. Sin embargo, las fuerzas de ortodoncia no solo tienen efectos celulares sino que también inducen cambios vasculares. Se sabe que las fuerzas de ortodoncia ocluyen los vasos del ligamento periodontal en el lado de la presión de la raíz dental, disminuyendo la perfusión sanguínea del tejido periodontal y pulpar. Esta condición va acompañada de hipoxia, que se sabe que afecta la proliferación celular o induce la apoptosis, dependiendo del gradiente de oxígeno. Debido a que las tasas de proliferación del tejido regulado hacia arriba a menudo van acompañadas de angiogénesis, se puede asumir que la hipoxia contribuye fundamentalmente a los procesos de remodelación ósea durante el tratamiento ortodóncico.⁹¹⁻⁹⁴

Durante el tratamiento de ortodoncia, las coronas dentales se someten a una fuerza continua, que da como resultado la resorción ósea en el lado de la compresión y la aposición ósea apropiada en el lado de la tensión para lograr el movimiento del diente. El proceso de remodelación tisular para resolver el tejido necrótico e inducir la reparación de estos tejidos ha sido descrito en detalle para las células del ligamento periodontal (PDL). También se han establecido bien los procesos durante el movimiento dental ortodóncico. Además del proceso ya bien descrito de remodelación periodontal, varios informes han abordado los efectos en la pulpa dental en el proceso de ortodoncia. Dado que, en la terapia de ortodoncia, los dientes vitales se mueven a largas distancias, el tejido pulpar debe adaptarse. La respuesta inicial del tejido pulpar después de la aplicación de la fuerza ortodóncica aún no está clara. Se supone que la fuerza ortodóncica provoca perturbaciones circulatorias transitorias en el tejido periodontal y en la pulpa dental, ya que

se cree que la aplicación de la fuerza inicial comprime los vasos sanguíneos. En respuesta a la aplicación de la fuerza de ortodoncia, se ha demostrado que el tejido pulpar disminuye su tasa de respiración celular, mientras que se ha observado actividad de la fosfatasa alcalina reducida, vacuolización de odontoblastos y apoptosis. Se ha informado respuestas inflamatorias leves a la fuerza de ortodoncia en la pulpa. La pérdida de la vitalidad de un diente durante el tratamiento de ortodoncia se ha descrito ocasionalmente, y presumiblemente es precedido por un trauma dental previo. Además, algunos autores han descrito una mayor actividad enzimática de aspartato amino transferasa en el tejido de la pulpa dental, que indica cambios metabólicos y posible daño celular debido a la aplicación de fuerza ortodóncica. La producción de neuropéptidos, como la sustancia P, la neurocinina A y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, se cree que es inducida por una fuerza mecánica, que implica inflamación neurogénica en el tejido pulpar. Estos neuropéptidos son abundantes tanto en pulpa como en el ligamento periodontal. La liberación incrementada de estos mediadores induce la vasodilatación pero también promueve la producción de citoquinas proinflamatorias, tales como IL-6.²⁷

También se ha informado que la aplicación de fuerzas ortodóncicas durante ciertos períodos de tiempo aumenta la expresión de diversos factores de crecimiento (FG), como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2) y factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) en los tejidos pulpares, que a su vez contribuyen a la angiogénesis.⁹²

Piero Römer y cols, investigaron el efecto de la fuerza ortodóncica sobre las células de la pulpa dental (DPCs), utilizaron un modelo de rata para el

análisis inmunohistoquímico de la acumulación de HIF1- α en la fase inicial del movimiento dental ortodóncico. Para examinar más a fondo el papel regulador de las alteraciones circulatorias y las condiciones hipóxicas, analizaron las DPCs aisladas de los dientes humanos con respecto a su reacción específica bajo condiciones hipóxicas, mediante citometría de flujo, inmunoblot, ELISA y PCR en tiempo real en marcadores (Hif- 1 α , VEGF, Cox-2, IL-6, IL-8, ROS, p65). Los experimentos *in vivo* mostraron la inducción de la hipoxia en la pulpa dental después del movimiento dental ortodóncico. La inducción de estrés oxidativo en células de la pulpa dental humana mostró una regulación positiva de los genes proinflamatorios y angiogénicos Cox-2, VEGF, IL-6 e IL-8. Los datos actuales sugieren que el movimiento del diente por la ortodoncia afecta la circulación de la pulpa dental por hipoxia, lo que conduce a una respuesta inflamatoria dentro de los dientes tratados. Por lo tanto se puede esperar que el tejido pulpar se someta a un proceso de remodelación después del movimiento dental.²⁷

Por otra parte, Wein F y cols establecieron un modelo animal experimental de movimiento dental ortodóncico para investigar los efectos de la fuerza mecánica sobre la expresión de VEGF y HIF-1 α en la pulpa dental. Se examinaron los análisis histológicos de la pulpa dental y las expresiones de las proteínas HIF-1 α y VEGF en la pulpa dental. Los resultados mostraron que la inflamación y los cambios vasculares ocurrieron en el tejido de la pulpa dental en diferentes períodos. Observaron células inflamatorias iniciales dentro del vaso sanguíneo en el tejido pulpar y bajo la aplicación de fuerza ortodóncica, la expresión de HIF-1 α y VEGF cambió de manera diferente para regular el entorno hipóxico en la pulpa dental. También refieren que la inflamación puede actuar como una señal fisiológica para la angiogénesis. Numerosas citocinas y factores de crecimiento regulan la angiogénesis y VEGF se considera como el factor más esencial para la

diferenciación del sistema vascular entre todos los factores proangiogénicos. La hipoxia es un fuerte inductor de la expresión de VEGF que está regulado por HIF-1 α . Está demostrado que HIF-1 α es un importante regulador de la respuesta celular a la hipoxia.⁹³

DISCUSIÓN

La pulpa dental constantemente se encuentra expuesta a situaciones que desencadenan hipoxia; esto debido a su ubicación anatómica encerrada en paredes duras e inextensibles de dentina, su complejo sistema microcirculatorio y el nivel de tensión de oxígeno necesario para sus funciones metabólicas menor en comparación con otros tejidos del cuerpo humano. Factores irritantes como caries dental, trauma oclusal y movimiento dental por ortodoncia son las principales causas e incluso la misma función masticatoria son factores que desencadenan la hipoxia del tejido. Ante esta situación las células de la pulpa dental (DPCs) desencadenan una variedad de reacciones biológicas, las cuales incluyen la activación de vías de señalización que regulan la proliferación de células endoteliales promoviendo la angiogénesis o por otro lado, si el estímulo es prolongado y muy agresivo se iniciarán procesos de apoptosis y lisis celular que conducirán a la necrosis pulpar.¹⁻⁷

Se ha demostrado que la hipoxia a nivel celular induce cambios del metabolismo aeróbico a la glucólisis anaeróbica así como la expresión de una variedad de proteínas que regulan la muerte o supervivencia celular. Otros cambios que se producen a nivel tisular para elevar el suministro de oxígeno y nutrientes al tejido son la inducción de la eritropoyesis y angiogénesis como lo refiere Ahmed, 2016.⁶⁹

En el tejido pulpar de dientes inmaduros, las condiciones hipóxicas a largo plazo favorecen la migración, proliferación y diferenciación de las DPCs, específicamente, células madre de la pulpa dental (DPCS) que son las encargadas de diferenciarse en odontoblastos para mineralizar el tejido y los fibroblastos de la pulpa dental (HDPF) encargados de la producción de la matriz dentinaria; así lo confirman las investigaciones realizadas por, Aranha, A., 2010, LI Lifen, 2011 y Saghiri, M., 2015, entre otros autores. No obstante Lida K., observó en su estudio que la condición hipóxica solo aumentó la proliferación de las células de la pulpa dental humana (hDPCs) y suprimió la diferenciación osteo / odontogénica. También cabe señalar que algunos autores refieren que se conoce poco sobre el comportamiento de las células pulpares dentales bajo condiciones hipóxicas *in vivo* sin ningún daño directo a la pulpa dental como lo indicó Ito K., 2015, quien investigó el comportamiento de las hDPCs en condiciones hipóxicas *in vivo* utilizando un modelo animal experimental.^{1, 3, 5, 12,17}

Por otro lado la pulpa dental madura es sometida constantemente a la hipoxia debido a causas infecciosas o traumáticas como se mencionó anteriormente, en tal sentido, Rombouts C., 2017, lida K., 2010, Gong, Q. M., 2010, coinciden en que durante la infección bacteriana por caries dental las células madre de la pulpa dental (DPCS) aumentan rápidamente la expresión del factor inducible por hipoxia (HIF-1) e inmediatamente ocurre la angiogénesis que estimula a las DPCS a diferenciarse en odontoblastos que formaran dentina terciaria o reparativa. Situación similar ocurre cuando la pulpa es sometida a estrés mecánico como el trauma oclusal, así lo refiere Caviedes B, 2016, quien señala que el traumatismo oclusal es la condición en la cual la función masticatoria excede la tolerancia del ligamento y la pulpa dental, causando daños en ambos tejidos y los estudios han demostrado que la aplicación de las cargas oclusales excesivas perturban el

metabolismo del tejido pulpar generando reacciones inflamatorias y alteraciones vasculares según la intensidad y magnitud de la fuerza y la condición del tejido provocando mecanismos de defensa de la pulpa dental que incluyen la inflamación y la producción de dentina terciaria precedida por la angiogénesis y las células madre de la pulpa dental (DPCS), fibroblastos de la pulpa dental (HDPF) y odontoblastos. Otra respuesta es el fenómeno de calcificación del tejido pulpar.^{4, 5, 20, 21}

En el caso de los movimientos dentales por ortodoncia, los estudios refieren que la respuesta inicial del tejido pulpar después de la aplicación de la fuerza ortodóncica aún no está clara, Piero Römer, 2014; sin embargo hay investigaciones que refieren perturbaciones de la microcirculación pulpar, cambios vasculares, celulares, calcificación y hasta la necrosis del tejido pulpar por la inflamación, todo esto dependiendo de la magnitud, el tiempo, la dirección de la fuerza aplicada y la condición de la pulpa dental como lo indicó Caviedes B., 2011. Por otra parte, investigaciones *in vivo* realizadas por autores como Piero Römer, 2014, Wein F., 2015 y Wei, F., 2012, refieren aumento de los niveles de HIF1- α y del VEGF en la fase inicial del movimiento dental ortodóncico y esperan que el tejido pulpar se someta a un proceso de remodelación después del movimiento dental.^{27,93-95}

En el tejido pulpar, las respuestas celulares y moleculares a una baja tensión de oxígeno (O_2) son la activación del factor de transcripción HIF-1, específicamente la isoforma HIF1- α , que puede regular la expresión de varios genes diana, incluidos los responsables de la glucólisis, proliferación celular, eritropoyesis, angiogénesis y el metabolismo para garantizar la supervivencia de la pulpa dental a la hipoxia.^{19, 23,24, 75-83}

HIF-1 es una proteína heterodimérica compuesta por una subunidad α lábil al oxígeno (O_2) y una subunidad β estable. Inicialmente fue reconocida como

un factor de unión al ADN que solo mediaba la actividad inducible por hipoxia de la eritropoyetina (EPO), como lo refiere Beck I., 1991; actualmente las investigaciones de Semenza, confirman que HIF-1 es el regulador de más de 100 genes pro-angiogénicos y que está involucrado en muchos procesos metabólicos celulares por lo que está siendo estudiado ampliamente en investigaciones de biología molecular y medicina regenerativa.^{72, 75-83}

Existen tres isoformas de HIF α : HIF1 α , HIF2 α y HIF3 α , de las cuales, HIF1 α , es la que se localiza en la mayoría de los tejidos y es el principal factor de transcripción en el tejido pulpar el cual se expresa a nivel celular cuando la pulpa dental entra en hipoxia, esto concuerda con los estudios realizados por LI Lifan, 2011, Aranha, A. M., 2010, Saghiri, M.,2015, Ito K.,2015, entre otros autores.^{1, 5, 12, 17}

La expresión estable de HIF-1 α está regulada por hidroxilasas sensibles al oxígeno. Estas hidroxilasas son activas en condiciones normóxicas e hidroxilan HIF-1 α en los residuos de prolilo, que promueven la proteína supresora de tumores Von HippelLindau y reconoce a HIF-1 α para la ubiquitinación y la rápida degradación por el proteasoma. En el caso de la hipoxia, HIF-1 α se escapa del proceso de hidroxilación que requiere oxígeno y se transloca al núcleo para desencadenar la respuesta hipóxica. Por lo tanto, es posible que HIF-1 α se active en las células de la pulpa dental (DPCs) en estados de hipoxia para luego inducir la señalización celular que estimula la formación de la matriz y la mineralización del tejido pulpar, esto coincide con las observaciones realizadas por LI Lifan, 2011, Ito K., 2015, Kim Mi-Kyoung, 2014, Kuang, R.2016, entre otros autores.^{1,17,20,31}

Por lo tanto, las condiciones hipóxicas elevan la expresión de HIF-1 α que induce la angiogénesis a través de la cual se promueve la proliferación y diferenciación de las células madre de la pulpa dental (DPSCs) en

odontoblastos que inician la dentinogénesis. Sin embargo, el mecanismo por el cual la hipoxia influye en la mineralización de las DPCs no se entiende claramente como lo refiere Aranha, A.,2010 y Li Lifen,2011. Aranha, A también sugiere que otros factores transcripcionales podrían estar involucrados en la inducción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), principal molécula involucrada en la angiogénesis.^{1, 17, 20, 30, 31, 72, 73, 78-80}

CONCLUSIONES

1. El factor inducible por hipoxia (HIF-1) juega un papel importante en la regulación de la angiogénesis en el tejido pulpar bajo condiciones de hipoxia al activar la transcripción de más de 100 genes que codifican factores de crecimiento proangiogénico entre los que se encuentran: el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), angiogenina (ang) y angiopoyetina 2 (ANG2) principales moléculas que modulan la angiogénesis.
2. HIF1- α , regula la glucólisis, proliferación celular, eritropoyesis, angiogénesis y el metabolismo del tejido pulpar y de las células de la pulpa dental (DPCs), así como también la lisis y apoptosis.
3. HIF-1 es liberado por las células pulpares dentales (DPCs), principalmente: fibroblastos (HDPF), células madre de la pulpa dental (DPCS), odontoblastos y células endoteliales e inflamatorias, que conduce a la formación de nuevos vasos sanguíneos necesarios para formar tejido mineralizado como mecanismo de defensa.

4. La pulpa dental humana responde a la caries, movimiento dental por ortodoncia, trauma oclusal y la función masticatoria a través de un proceso inflamatorio neurogénico que provoca la hipoxia del tejido lo que conlleva al aumento de HIF-1 y el desarrollo de la angiogénesis.
5. La angiogénesis es esencial para suplir las necesidades de oxígeno y nutrientes en el tejido pulpar cuando este se encuentra bajo condiciones de hipoxia.
6. La angiogénesis es necesaria para que se dé la reparación y cicatrización del tejido pulpar ante una injuria.

RECOMENDACIONES

- Incentivar a los estudiantes de postgrado de Endodoncia a que tengan mayor interés hacia los temas relacionados con la biología pulpar.
- Proseguir la línea de investigación con una revisión sistemática del tema desarrollado y de ser posibles investigaciones *in vitro*.
- Se recomienda difundir la información obtenida en esta investigación, a las áreas de pregrado y postgrado de Endodoncia de la facultad de odontología de la universidad de

Carabobo con el fin de ampliar los conocimientos acerca de biología pulpar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li Lifan, et al. Hypoxia promotes mineralization of human dental pulp cells. *J Endod.* 2011; 37(6): 799-802.
2. Linden G., et al. Neuropeptides regulate expression of angiogenic growth factors in human dental pulp fibroblasts. *J endod.* 2009; 35(6): 829-833.
3. Iida K., et al. Hypoxia enhances colony formation and proliferation but inhibits differentiation of human dental pulp cells. *Archives of oral biology.* 2010; 55(9): 648-654.
4. Caviedes B, et al. Angiogenic mechanisms of human dental pulp and their relationship with substance P expression in response to occlusal trauma. *Int Endod J.* 2016.
5. Aranha, A. M., et al. Hypoxia enhances the angiogenic potential of human dental pulp cells. *J Endod.* 2010; 36(10): 1633-1637.
6. Fukuyama, Y., et al. Hypoxia induces expression and activation of AMPK in rat dental pulp cells. *Journal of dental research.* 2007; 86(9): 903-907.
7. Senzui, S., Matsuzaka, K., Fukuhara, F., Shintani, S., & Inoue, T. Responses of immature dental pulp cells to hypoxic stimulation. *Oral Medicine & Pathology.* 2010; 14(3): 107-111.
8. Semenza, G. L. HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing. *Current opinion in cell biology.* 2001; 13(2): 167-171.
9. Majmundar, Amar J, Waihay J. Wong, and M. Celeste Simon. "Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress." *Molecular cell.* 2010; 40(2): 294-309.
10. Tran-Hung, L., Laurent, P., Camps, J., About, I. Quantification of angiogenic growth factors released by human dental cells after injury. *Archives of oral biology.* 2008; 53(1): 9-13.
11. Pugh, C. W., Ratcliffe, P. J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nature medicine.* 2003; 9(6): 677-684.
12. Saghiri, M, et al. Role of angiogenesis in endodontics: contributions of stem cells and proangiogenic and antiangiogenic factors to dental pulp regeneration. *J Endod.* 2015.
13. Zimna, A., & Kurpysz, M. Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. 2015.

14. Wang, G. L., Jiang, B. H., Rue, E. A., Semenza, G. L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proceedings of the national academy of sciences*.1995; 92(12): 5510-5514.
15. Fong, G. H. Mechanisms of adaptive angiogenesis to tissue hypoxia. *Angiogenesis*.2008; 11(2): 121-140.
16. Kiriakidis, Serafim, et al. "Factor-inhibiting HIF-1 (FIH-1) is required for human vascular endothelial cell survival." *The FASEB Journal*.2015; 29(7): 2814-2827.
17. Ito K, et al. Hypoxic condition promotes differentiation and mineralization of dental pulp cells in vivo. *Int Endod J*. 2015; 48(2):115-123.
18. Semenza, G. L. Life with oxygen. *Science*.2007; 318(5847): 62-64.
19. Jaakkola P, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science*. 2001; 292(5516): 468-472.
20. Kim Mi-Kyoung, et al. Hinokitiol increases the angiogenic potential of dental pulp cells through ERK and p38MAPK activation and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) upregulation. *Archives of oral biology*. 2014; 59(2):102-110.
21. Zhang, et al. Odontogenic differentiation of vascular endothelial growth factor-transfected human dental pulp stem cells in vitro. *Molecular medicine reports*.2014; 10(4):1899-1906.
22. Rombouts C, et al. Pulp Vascularization during Tooth Development, Regeneration, and Therapy. *Journal of Dental Research*. 2017; P. 0022034516671688.
23. Carmeliet, P, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*.1998; 394(6692): 485-490.
24. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Molecular pharmacology*. 2006; 70(5): 1469-1480.
25. Mattuella L, et al. Vascular endothelial growth factor and its relationship with the dental pulp. *JOE*. 2007; 33(5): 524-530.
26. Gong, Q. M., Quan, J. J., Jiang, H. W., Ling, J. Q. Regulation of the Stromal Cell-derived Factor-1 α -CXCR4 Axis in Human Dental Pulp Cells. *J Endod*. 2010; 36(9): 1499-1503.
27. Römer, P., Wolf, M., Fanghänel, J., Reicheneder, C., Proff, P. Cellular response to orthodontically-induced short-term hypoxia in dental pulp cells. *Cell and tissue research*. 2014; 355(1): 173-180.
28. Jiang, H. W., Ling, J. Q., & Gong, Q. M. The Expression of Stromal Cell-derived Factor 1 (SDF-1) in Inflamed Human Dental Pulp. *Journal of Endodontics*.2008; 34(11):1351-1354.
29. KIM, Wonwoo, et al. Role of HIF-1 α in response of tumors to a combination of hyperthermia and radiation in vivo. *International Journal of Hyperthermia*, 2018; 34(3):276-283.

30. Fu, H. H., Li, P. C., Zhao, L., Zuo, J. H. Dental pulp stem cells modified by HIF-1 α can differentiate into blood vessels. *Shanghai kou qiang yi xue= Shanghai journal of stomatology*.2015; 24(6): 674-678.
31. Kuang, et al. Nanofibrous spongy microspheres for the delivery of hypoxia-primed human dental pulp stem cells to regenerate vascularized dental pulp. *Acta biomaterialia*. 2016; (33): 225-234.
32. Janjić, K., Alhujazy, U., Moritz, A., Agis, H. L-mimosine and hypoxia enhance angiopoietin-like 4 production involving hypoxia-inducible factor-1 α : Insights from monolayer and spheroid cultures of dental pulp-derived cells and tooth slice cultures. *Archives of Oral Biology*.2018; (85): 172-177.
33. Ahmed, N. E. M. B., Murakami, M., Kaneko, S., & Nakashima, M. The effects of hypoxia on the stemness properties of human dental pulp stem cells (DPSCs). *Scientific reports*.2016; 6, 35476.
34. Janjić, K., Cviki, B., Kurzman, C., Moritz, A., & Agis, H. Do hypoxia and L-mimosine modulate sclerostin and dickkopf-1 production in human dental pulp-derived cells? Insights from monolayer, spheroid and tooth slice cultures. *BMC oral health*.2018; 18(1): 36.
35. Machado M. ENDODONCIA de la biología a la técnica. Colombia: Amolca; 2009.
36. Ingle I. Ingle's ENDODONTICS6.Hamilton Ontario; 2008
37. Gomez M, Campos A. Histología y embriología bucodental. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 1999. Pág. 175-225.
38. Yu, C., & Abbott, P. V.An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Australian dental journal*.2007; 52(s1).
39. Yumoto, H., et al.The roles of odontoblasts in dental pulp innate immunity. *Japanese Dental Science Review*.2018
40. Jeanneau, C., Lundy, F. T., & El Karim, I. A. Potential Therapeutic Strategy of Targeting Pulp Fibroblasts in Dentin-Pulp Regeneration. *Journal of endodontics*.2017; 43(9):S17-S24.
41. Rodríguez-Lozano, F. J., et al. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues. *Int Endod J*.2011; 44(9): 800-806.
42. Kaitlyn Victor, A., Reiter, L. T.Dental Pulp Stem Cells for the study of Neurogenetic Disorders. *Human Molecular Genetics*.2017; ddx208.
43. Mead, B., Logan, A., Berry, M., Leadbeater, W., & Scheven, B. A. Concise review: dental pulp stem cells: a novel cell therapy for retinal and central nervous system repair. *Stem Cells*.2017; 35(1):61-67.)
44. Nuti, N., Corallo, C., Chan, B. M. F., Ferrari, M., & Gerami-Naini, B. Multipotent differentiation of human dental pulp stem cells: a literature review. *Stem Cell Reviews and Reports*.2016; 12(5):511-523.
45. Ledesma-Martínez, E., Mendoza-Núñez, V. M., & Santiago-Osorio, E. Mesenchymal stem cells derived from dental pulp: a review. *Stem cells international*, 2016.

46. Lunt, S. Y., & Vander Heiden, M. G. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annual review of cell and developmental biology*.2011; 27, 441-464.
47. Owen, L., & Sunram-Lea, S. I. Metabolic agents that enhance ATP can improve cognitive functioning: a review of the evidence for glucose, oxygen, pyruvate, creatine, and L-carnitine. *Nutrients*.2011; 3(8):735-755.
48. Nazaret, C. et al. Mitochondrial energetic metabolism: a simplified model of TCA cycle with ATP production. *Journal of theoretical biology*. 2009; 258 (3):455-464.
49. Zheng, J. Energy metabolism of cancer: Glycolysis versus oxidative phosphorylation. *Oncology letters*. 2012; 4(6):1151-1157.
50. Weinberg, F., & Chandel, N. Mitochondrial metabolism and cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*.2009; 1177(1): 66-73.
51. Muller Sterl W. BIOQUÍMICA. Fundamentos para medicina y ciencias de la vida. Barcelona: reverté 2008
- 52 Pelicano, H., Martin, D. S., Xu, R. H., & Huang, P. Glycolysis inhibition for anticancer treatment. *Oncogene*.2006; 25: 4633-4646.
53. Rodwell, V.W., Bender A., Botham K.,Kennelly P. Harper bioquímica ilustrada.30ed. Aravaca: McGraw-Hill; 2017
54. Akram, M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell biochemistry and biophysics*.2014; 68(3):475-478.
55. Wilson, D. Oxidative phosphorylation: unique regulatory mechanism and role in metabolic homeostasis. *Journal of Applied Physiology*.2017; 122(3): 611-619.
56. Chaban Y., Boekema E. & Dudkina N. (1837). Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanisms for their stabilisation. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014; 418-426.
57. Techatharati, O., Nowwarote, N., Taebunpakul, S., & Pavasant, P. Biphasic effect of ATP on in vitro mineralization of dental pulp cells. *Journal of cellular biochemistry*.2018; 119(1):488-498.
58. Wang, W., Yi, X., Ren, Y., & Xie, Q. Effects of adenosine triphosphate on proliferation and odontoblastic differentiation of human dental pulp cells. *Journal of endodontics*.2016; 42(10):1483-1489.
59. Yi, X., Wang, W., & Xie, Q. Adenosine receptors enhance the ATP-induced odontoblastic differentiation of human dental pulp cells. *Biochemical and biophysical research communications*.2018; 497(3): 850-856.
60. Rodriguez, P. G., Felix, F. N., Woodley, D. T., & Shim, E. K. The role of oxygen in wound healing: a review of the literature. *Dermatologic surgery*.2008; 34(9):1159-116
- 61 Choi, H., et al. Hypoxia Promotes CEMP1 Expression and Induces Cementoblastic Differentiation of Human Dental Stem Cells in an HIF-1-Dependent Manner. *Tissue Engineering. Part A*.2014; 20(1-2):410-423.

62. Carreau A., Hafny-Rahbi B., Matejuk A., Grillon C., & Kieda, C. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. *Journal of cellular and molecular medicine*.2011; 15(6): 1239-1253
63. WANG, Jinming, et al. Side population increase after simulated transient ischemia in human dental pulp cell. *Journal of endodontics*.2010; 36 (3):453-458.
64. Yu C., Boyd N., Cringle S., Alder V., Yu D. Oxygen distribution and consumption in rat lower incisor pulp. *Archives of oral biology*.2002; 47(7): 529-536.
65. Goldberg, M., & Hirata, A.The Dental Pulp: Composition, Properties and Functions. *JSM*.2017; 5(1):1079.
66. Goldman D. Theoretical models of microvascular oxygen transport to tissue. *Microcirculation*.2008; 15(8): 795-811.
67. Pittman, R. N.OXYGEN TRANSPORT IN THE MICROCIRCULATION AND ITS REGULATION. *Microcirculation (New York, NY: 1994)*.2013; 20(2):117.
68. Kim, D., & Park, S. H. Effects of age, sex, and blood pressure on the blood flow velocity in dental pulp measured by Doppler ultrasound technique. *Microcirculation*.2016; 23(7):523-529.
69. Koh, M. Y., Spivak-Kroizman, T. R., & Powis, G.HIF-1 regulation: not so easy come, easy go. *Trends in biochemical sciences*.2008; 33(11): 526-534.
70. Haque, N., Rahman, M. T., Kasim, A., Hayaty, N., & Alabsi, A. M. Hypoxic culture conditions as a solution for mesenchymal stem cell based regenerative therapy. *The Scientific World Journal*.2013.
71. Sakdee, J. B., White, R. R., Pagonis, T. C., & Hauschka, P. V. Hypoxia-amplified proliferation of human dental pulp cells. *Journal of Endodontics*.2009; 35(6):818-823.
72. Ahmed, N. E. M. B., Murakami, M., Kaneko, S., & Nakashima, M.The effects of hypoxia on the stemness properties of human dental pulp stem cells (DPSCs). *Scientific reports*.2016; 6, 35476.
73. Senzui, S., Matsuzaka, K., Fukuhara, F., Shintani, S., & Inoue, T. Responses of immature dental pulp cells to hypoxic stimulation. *Oral Medicine & Pathology*.2010; 14(3):107-111.
74. Bronckaers, A., Hilkens, P., Fanton, Y., Struys, T., Gervois, P., Politis, C. & Lambrichts, I.Angiogenic properties of human dental pulp stem cells. *PLoS one*.2013; 8(8):e71104.
75. Beck I et al. "Enhancer element at the 3'-flanking region controls transcriptional response to hypoxia in the human erythropoietin gene." *Journal of Biological Chemistry*.1991; 266(24): 15563-15566.
76. Carmeliet, P., & Jain, R. K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*.2011; 473(7347): 298

77. Heldin, C. H., Landström, M., & Moustakas, A. Mechanism of TGF- β signaling to growth arrest, apoptosis, and epithelial–mesenchymal transition. *Current opinion in cell biology*. 2009; 21(2):166-176.
78. Jaakkola P, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science*. 2001; 292(5516): 468-472.
79. Huang, L. E., Gu, J., Schau, M., Bunn, H. F. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 α is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998; 95(14): 7987-7992.
80. Kaelin Jr, W. G., Ratcliffe, P. J. Oxygen Sensing by Metazoans: The Central Role of the HIF Hydroxylase Pathway. *Molecular Cell*. 2008; 30.
81. Semenza, G. L. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature reviews cancer*. 2003; 3(10):721.
82. Weidemann, A., & Johnson, R. S. Biology of HIF-1 α . *Cell death and differentiation*. 2008; 15(4):621.
83. Semenza, G. L. Hypoxia-inducible factor 1: regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2011; 1813(7):1263-1268.
84. Masoud, G. N., & Li, W. HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2015; 5(5):378-389.
85. Semenza, G. L. Regulation of metabolism by hypoxia-inducible factor 1. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2011; 76,347-353.
86. Semenza, G. L. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal of applied physiology*. 2000; 88(4):1474-1480.
87. Choi, H., et al. Hypoxia Promotes CEMP1 Expression and Induces Cementoblastic Differentiation of Human Dental Stem Cells in an HIF-1-Dependent Manner. *Tissue Engineering. Part A*. 2014; 20(1-2):410–423.
88. Huang, X.-F., & Chai, Y. Molecular regulatory mechanism of tooth root development. *International Journal of Oral Science*. 2012; 4(4), 177–181.
89. Li, J., Parada, C., & Chai, Y. Cellular and molecular mechanisms of tooth root development. *Development (Cambridge, England)*. 2017; 144(3):374–384.
90. Bei, M. Molecular genetics of tooth development. *Current opinion in genetics & development*. 2009; 19(5), 504-510.
91. Niklas, A., Proff, P., Gosau, M., & Römer, P. The role of hypoxia in orthodontic tooth movement. *International journal of dentistry*, 2013.
92. Javed, F., Al-Kheraif, A. A., Romanos, E. B., & Romanos, G. E. Influence of orthodontic forces on human dental pulp: a systematic review. *Archives of oral biology*. 2015; 60(2), 347-356.
93. Wei, F., et al. Expression and function of hypoxia inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in pulp tissue of teeth under orthodontic movement. *Mediators of inflammation*. 2015.

94. Caviedes-Bucheli, J., et al. The effect of orthodontic forces on calcitonin gene-related peptide expression in human dental pulp. *Journal of endodontics*. 2011; 37(7):934-937.
95. FU-LAN, W. E. I., et al. Expression of HIF-1 α and VEGF in human dental pulp cells under mechanical stretch. *Shanghai Journal of Stomatology*. 2012; 21(5).