

Estrés oxidativo inducido por los monómeros de resina dental. Respuesta celular

Oxidative Stress induced by Dental Resin Monomers. Cell Response

Paula Alejandra Baldión

Odontóloga, especialista en Rehabilitación Oral, docente del Departamento de Salud Oral, candidata al Doctorado en Ingeniería-Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Jaime Eduardo Castellanos Parra

Odontólogo, magíster en Ciencias Farmacológicas, doctorado en Ciencias Químicas, docente Departamento de Ciencias Básicas y Medicina Oral, miembro Grupo de Patogénesis Infecciosa, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Los estudios sobre la citotoxicidad de los materiales de resina compuesta han demostrado que monómeros de resina dental, como el TEGDMA y HEMA, son capaces de modificar la respuesta celular, la actividad enzimática y la síntesis de ADN en diferentes líneas celulares. Los reportes en la literatura indican que los monómeros pueden actuar como estresores del medio ambiente celular al alterar el balance entre las especies oxidantes y las antioxidantes y afectar la homeostasis celular, lo cual puede traer como consecuencia daño celular. El propósito de esta revisión es presentar los hallazgos sobre la respuesta celular antioxidante frente a las especies reactivas de oxígeno producidas durante la exposición a los monómeros de resina, como un mecanismo de control altamente sofisticado enzimático y no enzimático. Conocer a profundidad los efectos celulares de los materiales dentales puede ayudar a ofrecer alternativas restauradoras que minimicen los efectos colaterales de las restauraciones poliméricas.

PALABRAS CLAVE

antioxidantes; especies reactivas de oxígeno; estrés oxidativo; monómeros de resina; resinas compuestas

ÁREAS TEMÁTICAS

Biología celular; materiales dentales

ABSTRACT

Cytotoxicity studies on composite resin materials have shown that dental resin monomers such as HEMA and TEGDMA are able to modify the cell response, metabolic activity, and DNA synthesis in various cell lines. Scientific reports indicate that monomers can act as cellular environment stressors by altering the balance between oxidants and antioxidants species, affecting cell homeostasis, which can result in cell damage. The purpose of this review is to present the findings on antioxidant cell response to reactive oxygen species produced during exposure to resin monomers, as a mechanism to control highly sophisticated enzymatic and non-enzymatic mechanisms involved in that response. Deeper knowledge about cell effects of dental materials can help provide restorative alternatives that minimize the side effects of polymer restorations.

KEYWORDS

antioxidants; composite resins; oxidative stress; reactive oxygen species; resin monomers

THEMATIC FIELDS

Cell biology; dental materials

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Baldión PA, Castellanos JE. Estrés oxidativo inducido por los monómeros de resina dental: respuesta celular. Univ Odontol. 2014 Jul-Dic; 33(71): __. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo33-71.eoim>

doi:10.11144/Javeriana.uo33-71.eoim

Recibido para publicación: 01/06/2014

Aceptado para publicación: 29/08/2014

Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

INTRODUCCIÓN

La investigación sobre la citotoxicidad de los materiales poliméricos a base de resina compuesta dental ha demostrado cómo varios de los monómeros son capaces de interactuar con las estructuras celulares (1). La matriz orgánica de las resinas compuestas ha sido reconocida como una fuente de subproductos que causan una gran variedad de efectos biológicos adversos y que han sido revisados en diferentes publicaciones (2-5).

Se ha reportado que los residuos de los monómeros en las resinas como el dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA) y el 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) tienen la capacidad de modificar las funciones celulares básicas como la actividad enzimática y la síntesis de proteínas y ADN en varias líneas celulares (1,6,7). Esto se debe a un grado de conversión parcial durante el proceso de polimerización (8). Sin embargo, aún se encuentran en estudio los mecanismos moleculares subyacentes tanto de la genética como de la toxicidad celular asociados al uso de monómeros de resina. Su toxicidad ha sido relacionada con la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) que tienen la capacidad de dañar las biomoléculas de las células. Ello genera un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes y, en consecuencia, aumenta la producción de oxidantes o se reduce la cantidad de antioxidantes, lo cual afecta el equilibrio celular, concepto que se ha desarrollado bajo el nombre de estrés oxidativo (9,10). Aunque el fundamento de la generación de ERO por parte de los monómeros no es completamente claro hoy en día, se ha reportado que el TEGDMA y el HEMA incrementan la concentración de ERO en varias líneas celulares (11,12).

El desarrollo de polímeros a base de resina para adherir materiales restauradores a la estructura dental ha permitido aplicar nuevas técnicas restauradoras. No obstante, el éxito clínico de las restauraciones no solo depende de las propiedades físicas y químicas de los materiales, sino también de su biocompatibilidad (5). El propósito de esta revisión es presentar los hallazgos existentes sobre la respuesta antioxidante que ocurre en las células ante el estímulo por ERO, producidas durante la exposición a monómeros de resina.

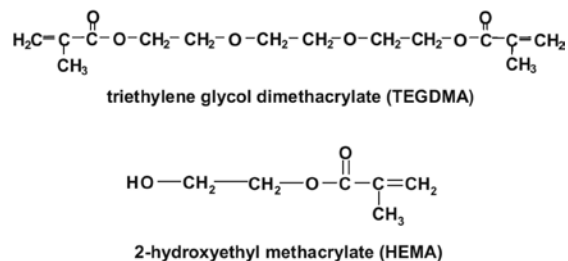
EL HEMA Y EL TEGDMA COMO MONÓMEROS ADHESIVOS

Los adhesivos dentales son compuestos poliméricos resultantes de una combinación de varias sustancias químicas, cada una de ellas adicionada a la mezcla para desempeñar una función específica y necesaria. Sistemas adhesivos, resinas compuestas directas e indirectas, resinas cementantes, sellantes e infiltrantes y selladores endodónticos contienen diversos monómeros resinosos (13).

El HEMA es un monómero de bajo peso molecular (14) utilizado no solo en odontología como uno de los principales componentes de los sistemas adhesivos de las resinas compuestas, sino también en diferentes campos de la medicina (3). Sin embargo, se ha reconocido como un potente alérgeno en su estado no polimerizado, aunque se desconocen todavía los mecanismos por los cuales induce reacciones de hipersensibilidad mediadas inmunológicamente (figura 1) (15,16).

FIGURA 1

ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS MONÓMEROS DE RESINA DENTAL (TEGDMA Y HEMA)



El HEMA sin polimerizar es soluble en agua, etanol y acetona. Posee alta hidrofiliidad por ser una molécula bifuncional, lo que lo hace más compatible con la humedad relativa de la dentina y aumenta la resistencia de unión de la resina a la estructura dental (17,18). No obstante, tanto polimerizado como sin polimerizar, el HEMA sufre un proceso de sorción acuosa que conduce a su degradación hidrolítica y a la separación de las fases de resina hidrófila e hidrófoba polimerizadas. Esta separación disminuye las propiedades mecánicas de los adhesivos polimerizados y aumenta su susceptibilidad a la hidrólisis catalizada por esterasas de origen celular o bacteriano (19).

El TEGDMA es otro monómero de bajo peso molecular que se utiliza generalmente en combi-

nación con monómeros principales de las resinas compuestas como el 2,2-bis-(4-(2-hidroxi-3-metacriloxi propiloxi)-fenil]-propano (Bis-GMA) y el uretanoetil dimetacrilato (UEDMA) y en los sistemas adhesivos. Su principal función es proporcionar menor viscosidad a la mezcla para compensar la rigidez del Bis-GMA y mejorar su manipulación (figura 1) (20).

Autores como Samuelsen y colaboradores (21) y Walther y colaboradores (22) han descrito que tanto el HEMA como el TEGDMA inducen citotoxicidad, por un mecanismo relacionado con los metabolitos radicales que generan respuestas apoptóticas en la célula, entre otros.

Biodisponibilidad de los monómeros resinosos

En los estudios de Santerre y colaboradores (23) y Michelsen y colaboradores (24) se afirma que estos monómeros y otros componentes de las resinas compuestas pueden ser liberados al entorno incluso después de la polimerización. Adicionalmente, por su bajo peso molecular, se difunden a través de la dentina en concentraciones suficientes para causar daño celular (25).

En una revisión publicada en el 2006 por Schweikl y colaboradores (5) se retomó lo reportado originalmente por Hume y Gerzina, en 1996 (26), quienes estimaron que las concentraciones de HEMA y TEGDMA que quedan disponibles en los adhesivos dentinarios están en el rango milimolar después de que se difunden a través de la capa de dentina. Los subproductos del HEMA podrían llegar a concentraciones tan altas como 1,5 a 8 mM en la pulpa. Asimismo, la concentración de TEGDMA después de su difusión a través de la dentina en cavidades profundas podría ser del orden de 4 mM (25,26).

Valores cercanos a estos cobran importancia en el momento que otros autores (27) reportan un efecto inductivo de muerte celular dependiente de la dosis, al exponer células mononucleares de sangre periférica a concentraciones desde 0,082 a 82,0 mM durante 12 y 18 h. En ese trabajo se demostró que tanto el TEGDMA como el HEMA se liberan en la fase acuosa del material durante los primeros días después del periodo de contacto con el tejido dental e inducen una respuesta celular temprana a la toxicidad causada por el monómero dental. En consecuencia, las

concentraciones medidas en la pulpa pueden ser suficientes para causar efectos deletéreos, como modificación de la respuesta inflamatoria normal o la alteración de la homeostasis del tejido pulpar, que incluye el desbalance del equilibrio redox celular y la activación de las vías de señalización celular (5).

MECANISMO DE DEFENSA CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR MONÓMEROS DE RESINA

La producción de ERO como el anión superóxido (O₂⁻), radical hidroxilo (.OH), radical peridroxil (RO₂.) y radical alcoxil (RO.), o moléculas no radicales que son agentes oxidantes y se convierten fácilmente en radicales como el ozono (O₃), el singulete de oxígeno (1O₂) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), son las principales moléculas que conducen al daño celular (8). Amplia evidencia indica que las ERO desempeñan un papel fundamental en la activación de vías de señalización intracelular implicadas en gran variedad de respuestas celulares fisiopatológicas, por ejemplo: diferenciación celular, proliferación, migración, inflamación, angiogénesis, envejecimiento y apoptosis (28,29).

Las células de mamífero han desarrollado un sistema de defensa complejo de regulación redox para prevenir el daño oxidativo. El sistema de defensa antioxidante es el principal mecanismo por el cual la célula contrarresta la producción de ERO (9). Se han descrito dos fases iniciales durante este proceso. En la fase I participan la familia de los citocromos P450 y lipoxigenasas que llevan a cabo reacciones de óxido-reducción que introducen o exponen grupos funcionales en dichas moléculas. En la fase II se contrarrestan algunas de las reacciones de la fase I y se reduce la electrofilicidad de los metabolitos al adicionar enzimáticamente ligandos endógenos antioxidantes (30), como el glutatión (GSH), la N-acetilcisteína (NAC), el ascorbato y la vitamina E soluble en agua (Trolox) (22,31). Posteriormente, se activan enzimas y moléculas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la tiorredoxina (Trx), la tiorredoxina reductasa (TrxR), la glutatión peroxidasa 1 (GPx), la glutatión reductasa (GSR), la catalasa (CAT) y la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (NADPH) (5).

Cambios en el balance redox por monómeros de resina: papel de los antioxidantes no enzimáticos

Glutación

Varios estudios han demostrado, en parte, que la citotoxicidad de los monómeros está asociada con un rápido agotamiento del GSH por contacto con el HEMA y el TEGDMA. El GSH es un tripéptido de glicina, cisteína y glutamato que posee una función antioxidante celular y desempeña un papel importante en la protección contra el estrés oxidativo y en los procesos de desintoxicación (32-36).

El GSH se produce en todos los órganos y células y se encarga de varias tareas fisiológicas que incluyen la protección contra el estrés oxidativo, principalmente al pasar a su forma oxidada (GSSG), al momento de reducir el peróxido de hidrógeno. El GSSG puede ser excretado por la célula o reconvertido a GSH por la actividad de la GSH reductasa dependiente de NADPH o, alternativamente, puede unirse a los grupos sulfhidrilo de las proteínas para formar disulfuros mixtos (37).

A pesar de estar descrito que la conversión del GSH a la forma oxidada GSSG es su mecanismo de acción, el agotamiento de GSH en fibroblastos expuestos a monómeros no parece estar relacionado con un aumento del GSSG (12,38). Del mismo modo, no se ha detectado ningún cambio significativo en la relación GSH-GSSG en las células monocíticas humanas THP-1 después de la exposición a concentraciones subletales de HEMA y TEGDMA (39). De esta manera, la pregunta sobre cuál es el mecanismo de producción de ERO durante la exposición a los monómeros de resina y cuál es el papel del GSH sigue aún sin resolverse.

Krifka y colaboradores (8) exponen en su trabajo dos posibles hipótesis sobre la formación de ERO por los monómeros de metacrilato y su relación con el GSH. La primera hace referencia a que es posible que se produzcan ERO durante el metabolismo de los monómeros de resina o como resultado de la inhibición de la actividad enzimática antioxidante. Adicionalmente, se propone que pueden producirse secundariamente debido a un agotamiento del GSH intracelular después de la formación de uniones de GSH-monómero

(37,40). El mecanismo se puede dar a partir del grupo carbonilo de los metacrilatos adyacente al doble enlace carbono-carbono que funciona como un grupo aceptor de electrones (figura 2).

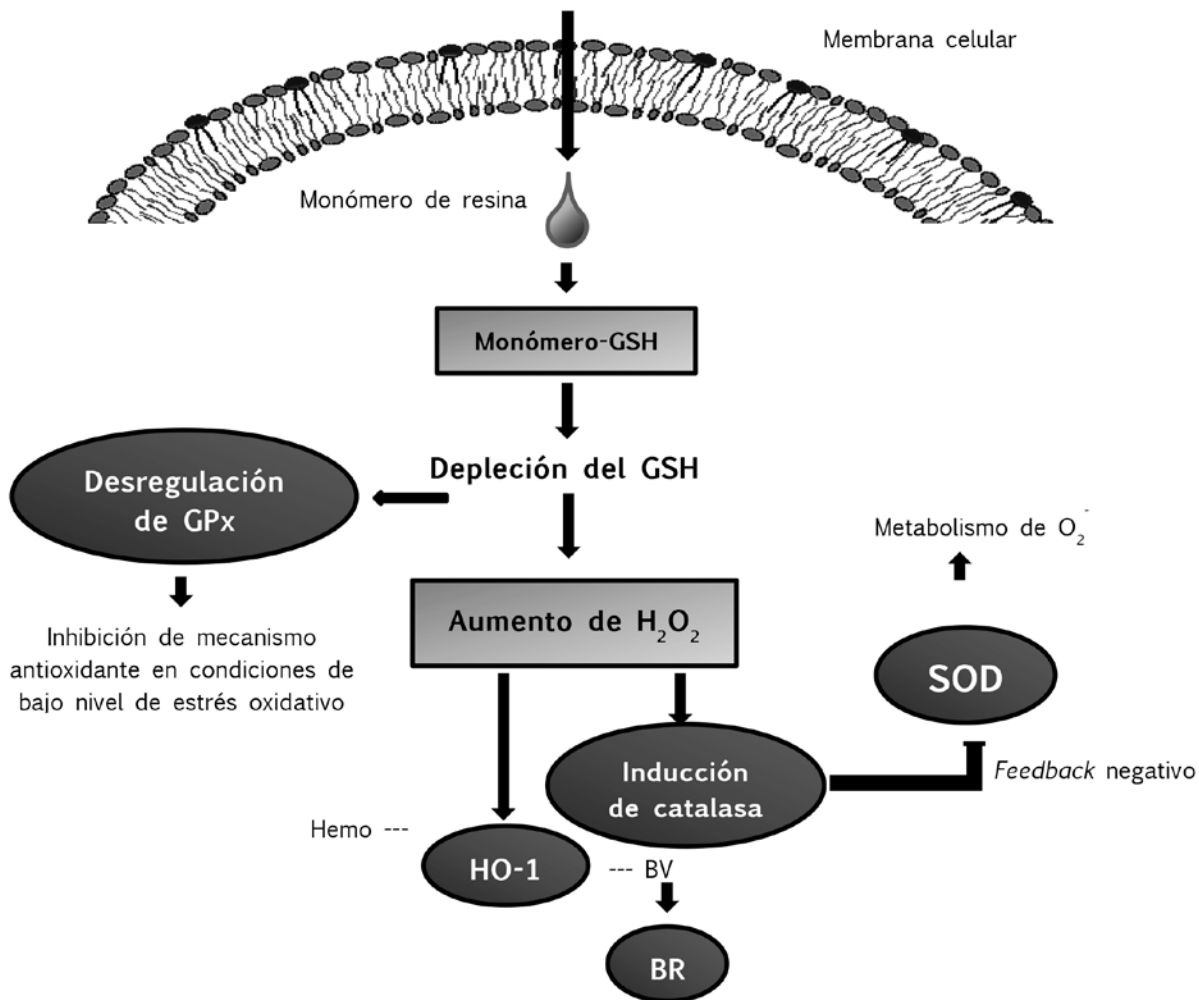
En el trabajo de Boyland y colaboradores (41) se describe cómo el GSH puede ayudar en la desintoxicación de los xenobióticos como los metacrilatos. Funciona al conjugar el grupo sulfhidrilo (-SH) del GSH con la fracción del carbono-carbono α - β insaturado del monómero, a través de la vía de adición de Michael (42), donde el carbono β del doble enlace tiene una carga positiva y puede reaccionar con los centros nucleofílicos, al igual que puede ocurrir con grupos amino o sulfhidrilo en macromoléculas de ADN o de proteínas (43). Esta reacción es catalizada por la glutación S-transferasa (GST), una de las enzimas que pertenece a una familia de proteínas presentes en el citosol, microsomas y mitocondrias y que participa en los procesos de desintoxicación (44). Así, la exposición a monómeros podría causar una disminución en las concentraciones de GSH sin aumentar la cantidad de GSSG. En fibroblastos gingivales humanos se han identificado los productos de adición de GSH formados con el TEGDMA y el HEMA (37).

N-acetil cisteína

Las células también poseen otros antioxidantes no enzimáticos, por ejemplo, la NAC como mecanismo protector (45). La formación de aductos con monómeros de resina puede ser parte del efecto protector de la NAC contra diversos efectos citotóxicos inducidos por los monómeros (46,47). La NAC es una fuente de grupos sulfhidrilo que actúan como eliminadores directos de ERO, como los radicales hidroxilo y el peróxido de hidrógeno. Además, es un compuesto donador de cisteína que actúa a modo de precursor para la síntesis de GSH bajo condiciones de estrés (48).

Stanislawski y colaboradores (38) reportaron que la NAC es eficiente en la prevención del daño del ADN causado por los monómeros de resina. Aunque no comprende totalmente el mecanismo molecular por el cual activa los sistemas sensibles al estado redox, se ha propuesto que posiblemente actúa sobre los grupos sulfhidrilo de los componentes celulares, sin necesidad de una señalización previa mediada por receptor (5).

FIGURA 2
RESPUESTA ANTIOXIDANTE DE CÉLULAS EXPUESTAS A MONÓMEROS DE RESINA.



La unión del GSH al monómero genera depleción de GSH y desregulación en la expresión de la Glutacion Proxidasa Px, por lo que se incrementan las concentraciones intracelulares de H₂O₂, lo que induce la expresión de catalasa e inhibe la SOD para evitar mayor producción de peróxido. El Nfr2 media un efecto citoprotector al activar la transcripción de enzimas antioxidantes como la HO-1 que actúa sobre la molécula de hemo. La HO-1 al catalizar la escisión de hemo, libera CO y produce un isómero de Biliverdina, que es convertida en bilirrubina

Por lo anterior, se afirma que la modulación de las proteínas blanco puede realizarse por medio de los residuos de cisteína reactivos que participan en la reacción sulfhidrilo-disulfuro durante los cambios del estado redox. Estos logran activar, por ejemplo, factores de transcripción como el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB) y la proteína activadora 1 (AP-1), entre otros, para activar a su vez las principales vías de señalización que llevan a la muerte celular vía apoptosis (49,50).

Modulación de las especies reactivas de oxígeno dependiente de la señalización por moléculas que tienen efecto antioxidante

Las concentraciones de ERO son el resultado de la relación entre la tasa de producción de radicales y su eliminación por medio de antioxidantes, enzimáticos y no enzimáticos. Debido al papel que desempeñan las ERO como moléculas de señalización, está claramente establecido que los compuestos antioxidantes interfieren signifi-

cativamente en la transducción de señales en la célula, no solo evitando la generación y propagación de ERO, sino mediante la interceptación de especies reactivas de importantes vías de señalización. Tiene así una interacción directa con factores de transcripción (28).

Vitamina E

La vitamina E ha sido uno de los antioxidantes más estudiados. Autores como Azzi y Zingg (51-53) reportan que su efecto no se limita a funcionar como un antioxidante directo, sino que se ha demostrado la capacidad de modular varias vías de señalización y expresión de genes.

Por otra parte, Walther y colaboradores (12) reportaron una disminución significativa de la toxicidad del HEMA asociada con el uso de antioxidantes no enzimáticos como la vitamina E en células epiteliales alveolares de rata. Asimismo, observaron una disminución de la depleción del GSH después de la exposición a TEGDMA en fibroblastos humanos.

Al confirmar el papel fundamental de las ERO en la activación de la cascada de señalización de NF-kB (28,54), estudios *in vitro* han caracterizado los efectos inhibitorios del α -tocoferol, acetato de α -tocoferol y α -tocoferol succinato, en la activación de esta vía, en diferentes tipos celulares. Han demostrado así una disminución de la translocación nuclear del factor y de la activación génica (55).

El mecanismo por el cual la vitamina E inhibe o modula la activación de NF-kB parece estar relacionado con el papel que cumple en algunas reacciones como no antioxidante, junto a su acción antioxidante ampliamente reconocida. Sin embargo, aún falta información sobre este tema (28). Se ha especulado que la vitamina E actúa por agotamiento rápido de la señalización dependiente de ERO a diversos niveles moleculares, por ejemplo, en los pasos donde actúa la NADPH oxidasa y en la activación de la proteína cinasa C (PKC). En ambos casos, el α -tocoferol y sus derivados han demostrado una desregulación de la translocación de enzimas a la membrana plasmática de la célula (51-53). En el caso de la activación de NF-kB, como modulador sensible de la expresión génica en estado redox, es difícil separar la función antioxidante de la vitamina E de su posible papel como efector directo de

moléculas de señalización. Se ha reportado que la presencia de vitamina E (o sus homólogos) podría modificar la expresión génica en el proceso de activación transcripcional (56).

Vitamina C

La vitamina C es un potente antioxidante hidrofílico; por lo tanto, también actúa como mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo y es un cofactor enzimático para la biosíntesis de importantes sustancias bioquímicas. Está presente junto con el GSH en el plasma y está concentrada principalmente en los tejidos en forma de ácido ascórbico (AA) (28). El AA posee un fuerte poder antioxidante, ya que reacciona fácilmente con radicales libres de oxígeno por medio de la donación de un átomo de hidrógeno (57). Las ERO toman electrones del ascorbato que se oxida primero a monodehidroascorbato y posteriormente a deshidroascorbato. Es importante destacar que las formas oxidadas de ascorbato son relativamente estables, entonces no son reactivas ni causan daño celular (58,59).

Aunque ejerce un papel menos importante que los antioxidantes lipofílicos, el AA ha sido reconocido como modulador activo de la señalización celular de vías moleculares y factores de transcripción sensibles al estrés oxidativo (28,58). Se ha demostrado que la vitamina C también tiene la capacidad de modular el sistema NF-kB, por lo que genera un efecto inhibitorio de la apoptosis desencadenada por cambios en el estado redox (59).

Walther y colaboradores (12) afirman en su estudio que la vitamina C es un antioxidante más efectivo contra los efectos citotóxicos del HEMA y el TEGDMA, al compararse con una combinación de vitaminas C+E o C+A. Concluyen que los metabolitos tóxicos están principalmente presentes en los compartimientos celulares citosólicos hidrofílicos. Sin embargo, no encontraron que la vitamina C influyera significativamente en la depleción del GSH en células malignas humanas, lo que se debe a que esta línea celular puede contener una gran cantidad de GSH en comparación con otras líneas celulares. En fibroblastos humanos se observó una disminución en la depleción del GSH para confirmar el efecto benéfico de la vitamina C frente a la toxicidad de los monómeros.

Otros antioxidantes como los carotenoides (60), retinoides (61), la curcumina (62), los flavonoides (63) y el resveratrol (64) son compuestos polifenólicos derivados de plantas que cumplen un papel ampliamente reconocido como barredores de radicales libres. También se ha reportado su efecto como supresores de la activación de los factores de transcripción NF- κ B y AP-1. Además, modulan diversas enzimas involucradas en la regulación del estado redox como la NADPH oxidasa (28). A pesar de su demostrada actividad como antioxidantes y moduladores de la activación de las vías de señalización por ERO, no se les ha dado hasta el momento un uso reconocido para contrarrestar los efectos de las ERO en células expuestas a monómeros de resina.

FUNCIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS EN LA REGULACIÓN REDOX POR MONÓMEROS DE RESINA

Adicionalmente al mecanismo de defensa antioxidante no enzimático, existe un sistema complejo de enzimas antioxidantes que actúa para proteger el organismo contra los prooxidantes. Este mecanismo contiene diversas formas de superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GSHPx), así como las enzimas que intervienen en el proceso de reciclado del glutatión oxidado, como el glutatión reductasa y la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, una de las principales enzimas en la vía de las pentosas fosfato para la generación de NADPH (65).

Superóxido dismutasa

Las enzimas SOD contienen iones metálicos como cofactores que, dependiendo de la isoenzima, pueden ser cobre, cinc o manganeso. Se clasifican en tres tipos: la SOD cobre-cinc (Cu-ZnSOD), que está presente en el citosol; la SOD de manganeso (Mn-SOD), que se encuentra en las mitocondrias, y la SOD extracelular (EC-SOD), que también contiene cobre y cinc en sus sitios activos. Su acción radica en catalizar el primer paso dismutando dos aniones de O_2^- a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y oxígeno molecular (66-68).

Catalasa

Luego de que la SOD cataliza el primer paso, las enzimas catalasas y varias peroxidases eliminan el peróxido de hidrógeno. La degradación de este se realiza enzimáticamente por su reducción a

agua con la ayuda de donadores de electrones endógenos (mediada por peroxidases o peroxirredoxinas), pero de manera más eficiente por metaloenzimas (catalasas) que median la conversión del peróxido a O_2 y agua, de acuerdo con la reacción: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (69).

Se conocen más de 300 secuencias de catalasa, entre catalasas monofuncionales (aprox. 225) y catalasa-peroxidases bifuncionales (aprox. 50), de las cuales dos ramas evolutivas de estas enzimas se encuentran en células eucariotas. El resto están predominantemente en eubacterias y arqueas, al igual que el tercer grupo de las catalasas que contienen manganeso (aprox. 25).

Sus estructuras han revelado una gran variedad de modificaciones, resultado de la interacción con las ERO, y a pesar de presentar secuencias similares, han revelado una amplia gama de eficiencias catalíticas (70). Estas enzimas que catalizan la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno usan el hierro como cofactor (69).

Es una enzima con una característica peculiar, pues aun cuando el peróxido de hidrógeno es su único sustrato, sigue un mecanismo de ping-pong. Dicho mecanismo se caracteriza por que su cofactor es oxidado por una molécula de peróxido de hidrógeno y después es regenerado transfiriendo el oxígeno enlazado a una segunda molécula de sustrato (71,72).

Se requieren altas concentraciones intracelulares de ERO para inducir la expresión de catalasa. Se ha observado que el glutatión peroxidasa y el SOD regulan el peróxido de hidrógeno en cultivos de células bajo condiciones fisiológicas, sin detectarse la expresión de catalasa. Es necesario llegar al umbral que induce la expresión de esta enzima bajo condiciones de estrés oxidativo (8).

El agotamiento de GSH en los cultivos celulares tratados con monómero probablemente aumenta las cantidades de ERO más allá de las capacidades antioxidantes del sistema SOD1, GPx y GSH. Como resultado, se induce una mayor expresión de catalasa como respuesta adaptativa al estrés oxidativo inducido por HEMA (33). La fuerte inducción de la expresión de catalasa implica que el H_2O_2 es la especie predominante en los radicales producidos por el HEMA (8).

Enzimas involucradas con el factor nuclear eritroide relacionado con el factor 2 (Nrf2)

Las vías de transducción de señales y las proteínas que activan la respuesta antioxidante son múltiples. Entre ellas están: la vía de las proteínas cinasa activadas por mitógenos (MAPK), la vía de PI3K/Akt, la vía de las proteínas cinasa C (PKC), la proteína 53 (p53), el factor NF- κ B, la proteína activadora 1 (AP1), los factores relacionados al factor nuclear eritroide-relacionado con el factor 2 (Nrf2), las proteínas FOXO, factores de transcripción asociados a NAD⁺/NADH, factores inducidos por la hipoxia (HIF), el factor de transcripción por choque térmico (HSF1) y el factor de transcripción activado por metales (MTF1) (9).

La evidencia actual indica que las ERO funcionan como mensajeras de señalización para activar factores de transcripción como el Nrf2, que es un factor que regula la expresión de genes de enzimas citoprotectoras, detoxificantes y antioxidantes. Esto se da bajo la regulación del elemento de respuesta antioxidante (ARE: por su sigla en inglés *antioxidant response element*), que es una secuencia específica del ADN, que puede ser activada por compuestos oxidantes y electrófilos (5,30).

El Nrf2 se une a secuencias ARE ubicadas en la región promotora de los genes que codifican varias enzimas antioxidantes y proteínas relacionadas con la fase II detoxificante o de respuesta al estrés oxidativo (73). Se incluyen NAD(H)/PH, quinona oxidorreductasa (NQO1), glutatión S-transferasa (GST), hemoxigenasa-1 (HO-1), glutatión peroxidasa (GPx), glutamato cisteína ligasa (GCL) y peroxirredoxina I (Prx I), que cumplen un papel clave en la defensa celular por la efectividad en la eliminación de electrófilos citotóxicos y también ERO (74).

La actividad del factor Nrf2 se encuentra constitutivamente reprimida, debido a su unión con la proteína citoplasmática Keap1 (por su nombre en inglés *Kelch-like ECH-associated protein 1*) y al citoesqueleto. Dicha unión fomenta la degradación permanente de Nrf2 por el proteasoma, por lo que el control primario de su función radica principalmente en su distribución subcelular, más que en la síntesis *de novo* (30).

Glutatión peroxidasa (GPx), glutatión S-transferasa (GST) y el sistema glutatión

Estas dos enzimas, junto con el glutatión reductasa (GSR) y otras menos mencionadas pero no menos importantes como la thioltransferasa, la formaldehído deshidrogenasa y la glioxalasa I (75), son otro grupo de enzimas capaces de reducir los hidroperóxidos, que utilizan el GSH como sustrato donador de electrones para conformar el denominado sistema glutatión (76,77). Hay por lo menos cuatro diferentes isoenzimas de glutatión peroxidasa. La GPx1 es la más abundante y es un muy eficiente como removedora del peróxido de hidrógeno. La GPx contiene cuatro átomos de selenio que catalizan la reducción del peróxido de hidrógeno a agua, oxidando el GSH a GSSG. La forma oxidada del GSSG se reduce de nuevo por la acción específica de la enzima GSR. Este sistema GSH/GPx es uno de los principales mecanismos antioxidantes en condiciones de bajo nivel de estrés oxidativo (78,79).

Como se había mencionado, la citotoxicidad del TEGDMA y HEMA se ha asociado con la depleción del GSH (38,80). Su agotamiento a escala intracelular contribuye significativamente a la citotoxicidad de los monómeros y afecta el sistema de protección antioxidante enzimática que depende de su presencia y actividad. Es decir, la concentración de glutatión como antioxidante no enzimático regula la expresión de antioxidantes enzimáticos como una respuesta adaptativa de las células a la exposición a monómeros como el HEMA (33,43). Aunque el mecanismo de agotamiento de GSH por el TEGDMA todavía se encuentra en discusión, varios procesos pueden estar implicados: la oxidación de GSH por ERO, una interacción directa del GSH con el TEGDMA o una interacción con la enzima GST mediada por el TEGMA (44).

Se han descrito cuatro clases principales de GST soluble (α , μ , π y θ), cuatro menores (ζ , σ , ω y κ), y una microsomal (81). Zimniak y colaboradores (82) reportan que en fibroblastos humanos se expresan casi exclusivamente la isoforma GSTP1, que es polimórfica debido a la sustitución de un aminoácido en el sitio activo de la enzima. Aunque esta sustitución podría afectar tanto la actividad de la enzima como la afinidad por el sustrato, siguen siendo desconocidas las consecuencias de este polimorfismo en la citotoxicidad por medicamentos y la

modulación de la actividad de la GST por xenobióticos, como el TEGDMA (44).

Hemoxigenasa (HO-1)

El sistema de hemoxigenasa microsomal consta de hemoxigenasa (HO), la NADPH reductasa y el citocromo P450, y desempeña un papel clave en el catabolismo fisiológico del grupo hemo. La degradación del hemo procede esencialmente como una serie de reacciones de oxidación que implican la autocatálisis del hemo al unirse a la HO (83,84).

La expresión de la HO-1, además de producirse como respuesta a su sustrato hemo, se puede dar por una gran variedad de estímulos, entre los que se encuentran medicamentos, metales, radiación ultravioleta, hipoxia, hiperoxia, isquemia, H₂O₂, depleción del glutatión, entre otros (85). Estos estímulos extracelulares activan la síntesis de ARNm para el gen de la HO-1 por medio de los factores como AP-1, AP-2, NF-κB y Nrf2 (86).

Schweikl y colaboradores (87) reportan que el TEGDMA puede activar o inactivar la función de genes relacionados con la respuesta al estrés oxidativo. Se ha demostrado que el gen KLF24 (por su nombre en inglés kelch similar 24) es sobrerregulado en presencia de este monómero y, al parecer, ejerce un papel similar a Keap1 al mantener bajos niveles de Nrf2. En ese trabajo se demostró que la HO-1 y el sistema de la tiorredoxina, genes antioxidantes activados por Nrf2, fueron sobrerregulados en cultivos celulares expuestos a TEGDMA. Concluyen que la inducción coordinada de genes que codifican proteínas de respuesta al estrés y la regulación de proteínas antioxidantes es un mecanismo crítico de protección contra el daño celular inducido por TEGDMA.

Anteriormente, los productos de degradación del grupo hemo solo se consideraban metabolitos tóxicos, debido a que únicamente se conocían sus efectos adversos. Sin embargo, en la actualidad se considera que la HO es la principal enzima implicada en el catabolismo oxidativo del grupo hemo al catalizar la conversión de tres productos: biliverdina (BV), la cual es convertida a bilirrubina (BR), el monóxido de carbono (CO) y el hierro (Fe²⁺) (85,86,88).

La reacción de la HO muestra especificidad de región para la molécula de hemo, de tal manera

que solo se produce el isómero de BV. La BV es posteriormente convertida en BR por la NAD(P)H reductasa (89). La HO, al catalizar la escisión del hemo, libera el hierro en forma ferrosa Fe (II) y elimina el puente de carbono con el metano del hemo en forma de CO. La actividad enzimática de HO requiere tres moles de oxígeno molecular (O₂) por molécula de hemo oxidada, y la reducción de equivalentes a partir de NADPH (90).

El CO es vasodilatador y antiapoptótico (91) y tanto la BV como la BR son antioxidantes (92,93). La BR es un pigmento amarillo y lipofílico que parece ser uno de los antioxidantes endógenos más abundantes en mamíferos. También es el compuesto con mayor actividad antioxidante en el suero humano. Al igual que la BV, este compuesto posee una potente actividad removedora de varias ERO, incluyendo O₂·, radical peroxilo y peroxinitrito (94).

Interesantemente, cuando la concentración de BR en tejido es baja (20-50 nM), esta entra en un ciclo de amplificación donde es oxidada a BV y reciclada por la biliverdina reductasa nuevamente a BR, con lo que la concentración efectiva de este antioxidante se mantiene (95). Este ciclo explica el potencial antioxidante de la BR, más allá de la estequiometría 1:1, y su importancia fisiológica al secuestrar las ERO. Por tanto, es razonable pensar que la capacidad antioxidante de la BR pueda estar mediando el efecto antiapoptótico de la HO-1 al atrapar las ERO (85).

Krifka y colaboradores (33) reportan que al exponer las células a HEMA se indujo una producción elevada de ERO que fue evidente por un aumento de la HO-1. La expresión de HO-1 (codificada por Hmox1) se sobrerregula al nivel transcripcional en las células expuestas a TEGDMA como respuesta al estrés oxidativo (87). La expresión de la proteína HO-1 se indujo fuertemente por el HEMA, evento que se ha considerado necesario al requerirse antioxidantes adicionales como la BR para apoyar la actividad de las enzimas que equilibran directamente al medio ambiente redox celular. El efecto benéfico de la HO-1 probablemente se debe a los productos del catabolismo del hemo (83). La expresión de la catalasa y la HO-1 fue sobrerregulada a altos niveles en células expuestas a monómeros con el fin de contrarrestar el aumento del estrés oxidativo debido al agotamiento de glutatión (33).

Precusores de aminoácidos como el 2-oxothiazolidina 4-carboxilato (OTC) y la NAC tienen la capacidad de reducir la expresión de las enzimas mencionadas en células expuestas a HEMA. Ello indicaría una disminución del estrés oxidativo debido al suministro de cisteína, que actúa como un antioxidante o ayudando a la síntesis de GSH (33).

CONCLUSIONES

En las dos décadas pasadas se ha tenido un avance significativo en el entendimiento de la respuesta celular al estrés oxidativo. En la presente revisión se pretendió establecer el papel de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos como respuesta adaptativa frente a las ERO generadas como metabolitos a partir de los monómeros de resina. El análisis de las vías de señalización, los factores de transcripción y las sustancias que inducen una mejor respuesta adaptativa celular antioxidante construyen la base para el entendimiento y avance de la conservación de la homeostasis redox celular, con el uso de materiales dentales basados en monómeros resinosos. La literatura demuestra la gran importancia del GSH en la regulación de la respuesta celular al estrés oxidativo causado por el HEMA y el TEGDMA y que cumplen un papel fundamental como antioxidante no enzimático, pero adicionalmente regulan la respuesta antioxidante enzimática.

Las consecuencias asociadas a la exposición local del complejo pulpo-dentinal a los monómeros de resina en restauraciones dentales implican alteraciones sobre el ADN y la expresión de genes por mecanismos que no son completamente entendidos. Por esto, es fundamental evaluar estas respuestas para esclarecer el papel que desempeñan los eventos celulares y moleculares en el comportamiento de las restauraciones. Con ello se podrían desarrollar estrategias para la protección del complejo pulpo-dentinal y lograr una mejor estimación de la biocompatibilidad de las restauraciones adhesivas, a fin de evitar problemas asociados como la inflamación y sensibilidad posoperatoria. La aplicación de las ciencias básicas en la ciencia de los materiales dentales abre una nueva puerta que hace evidente la necesidad del desarrollo de materiales poliméricos con menor efecto citotóxico para la terapia dental.

REFERENCIAS

1. Eckhardt A, Gerstmayr N, Hiller KA, Bolay C, Waha C, Spagnuolo G, Camargo C, Schmalz G, Schweikl H. TEGDMA-induced oxidative DNA damage and activation of ATM and MAP kinases. *Biomaterials*. 2009; 30: 2006-14.
2. Schmalz G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci*. 1998; 106: 696-706.
3. Geurtsen W. Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000; 11: 333-55.
4. Bouillaguet S. Biological risks of resin-based materials to the dentin pulp complex. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004; 15: 47-60.
5. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res*. 2006; 85: 870-7.
6. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res*. 1991; 70: 1450-5.
7. Yoshii E. Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: relationships of monomer structures and cytotoxicity. *J Biomed Mater Res*. 1997; 37: 517-24.
8. Krifka S, Spagnuolo G, Schmalz G, Schweikl H. A review of adaptive mechanisms in cell responses towards oxidative stress caused by dental resin monomers. *Biomaterials*. 2013; 34: 4555-63.
9. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: Pathological and toxicological implications. *Pharmacol Therapeut*. 2010; 125: 376-93.
10. Sies H, Cárdenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1985; 311: 617-31.
11. Spagnuolo G, D'Anto V, Valletta R, Strisciuglio C, Schmalz G, Schweikl H, Rengo S. Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate on human pulp cell survival pathways ERK and AKT. *J Endod*. 2008; 34: 684-8.
12. Walther UI, Siagian II, Walther SC, Reichl FX, Hickel R. Antioxidative vitamins decrease cytotoxicity of HEMA and TEGDMA in cultured cell lines. *Arch Oral Biol*. 2004; 49: 125-31.
13. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Muncka J, Peumansa M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007; 28: 3757-85.
14. Nakabayashi N, Saimi Y. Bonding to intact dentin. *J Dent Res*. 1996; 75: 1706-15.
15. Goossens A. Contact allergic reactions on the eyes

- and eyelids. *Bull Soc Belge Ophtalmol.* 2004; 292: 11-7.
16. Paranjpe A, Bordador LC, Wang MY, Hume WR, Jewett A. Resin monomer 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) is a potent inducer of apoptotic cell death in human and mouse cells. *J Dent Res.* 2005; 84: 172-7.
 17. Pashley EL, Zhang Y, Lockwood PE, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater.* 1998; 14: 6-10.
 18. Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.* 1992; 8: 125-30.
 19. Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, Pashley DH, Tay FR. Limitations in bonding to dentin and experimental strategies to prevent bond degradation. *J Dent Res.* 2011; 90: 953-68.
 20. Asmussen E, Peutzfeldt A. Influence of selected components on crosslink density in polymer structures. *Eur J Oral Sci.* 2001; 109: 282-5.
 21. Samuelsen JT, Dahl JE, Karlsson S, Morisbak E, Becher R. Apoptosis induced by the monomers HEMA and TEGDMA involves formation of ROS and differential activation of the MAP-kinases p38, JNK and ERK. *Dent Mater.* 2007; 23: 34-9.
 22. Walther UI, Siagian II, Walther SC, Reichl FX, Hickel R. Antioxidative vitamins decrease cytotoxicity of HEMA and TEGDMA in cultured cell lines. *Arch Oral Biol.* 2004; 49: 125-31.
 23. Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001; 12: 136-51.
 24. Michelsen VB, Lygre H, Skalevik R, Tveit AB, Solheim E. Identification of organic eluates from four polymer-based dental filling materials. *Eur J Oral Sci.* 2003; 111: 263-71.
 25. Bouillaguet S, Wataha JC, Hanks CT, Ciucchi B, Holz J. In vitro cytotoxicity and dentin permeability of HEMA. *J Endod.* 1996; 22: 244-8.
 26. Hume WR, Gerzina TM. Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996; 7: 172-9.
 27. Noda M, Wataha JC, Kaga M, Lockwood PE, Volkman KR, Sano H. Components of dentinal adhesives modulate heat shock protein 72 expression in heat-stressed THP-1 human monocytes at sub-lethal concentrations. *J Dent Res.* 2002; 81: 265-9.
 28. Leonarduzzi G, Sottero B, Poli G. Targeting tissue oxidative damage by means of cell signaling modulators: The antioxidant concept revisited. *Pharmacol Therapeut.* 2010; 128: 336-74.
 29. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 2010; 48: 749-62.
 30. Königsberg MF. Nrf2: La historia de un nuevo factor de transcripción que responde a estrés oxidativo. *REB.* 2007; 26: 18-25.
 31. Schweikl H, Hartmann A, Hiller KA, Spagnuolo G, Bolay C, Brockhoff G, Schmalz G. Inhibition of TEGDMA and HEMA-induced genotoxicity and cell cycle arrest by N-acetylcysteine. *Dent Mater.* 2007; 23: 688-95.
 32. Engelmann J, Leyhausen G, Leibfritz D, Geurtsen W. Effect of TEGDMA on the intracellular glutathione concentration of human gingival fibroblast. *J Biomed Mater Res.* 2002; 63: 746-51.
 33. Krifka S, Hiller KA, Spagnuolo G, Jewett A, Shmalz G, Schweikl H. The influence of glutathione on redox regulation by antioxidant proteins and apoptosis in macrophages exposed to 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). *Biomaterials.* 2012; 33: 5177-86.
 34. Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-biological interactions of the resin monomer triethylenglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res.* 2001; 80: 2046-50.
 35. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med.* 2009; 30: 42-59.
 36. Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med.* 2001; 1191-212.
 37. Nocca G, Ragno R, Carbone V, Martorana GE, Rossetti DV, Gambarini G, Giardina B, Lupi A. Identification of glutathione-methacrylates adducts in gingival fibroblasts and erythrocytes by HPLC-MS and capillary electrophoresis. *Dent Mater.* 2011; 27: 87-98.
 38. Stanislawski L, Lefevre M, Bourd K, Soheili-Majd E, Goldberg M, Périanin A. TEGDMA-induced toxicity in human fibroblasts is associated with early and drastic glutathione depletion with subsequent production of oxygen reactive species. *J Biomed Mater Res A.* 2003; 66: 476-82.
 39. Noda M, Wataha JC, Lewis JB, Kaga M, Lockwood PE, Messer RL, Sano H. Dental adhesive compounds alter glutathione levels but not glutathione redox balance in human THP-1 monocytic cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005; 73: 308-14.
 40. Samuelsen JT, Kopperud HM, Holme JA, Dragland IS, Christensen T, Dahl JE. Role of thiol-complex formation in 2-hydroxyethyl-methacrylate-induced toxicity in vitro. *J Biomed Mater Res A.* 2011; 96: 395-401.

41. Boyland E, Chasseaud LF. Enzyme-catalysed conjugations of glutathione with unsaturated compounds. *Biochem J.* 1967; 104: 95-102.
42. Potter DW, Tran TB. Rates of ethyl acrylate binding to glutathione and protein. *Toxicol Lett.* 1992; 62: 275-85.
43. Geurtsen W, Leyhausen G. Chemical-biological interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res.* 2001; 80: 2046-50.
44. Lefeuvre M, Bourd K, Loriot MA, Goldberg M, Beaune P, Perianin A, Stanislawki L. TEGDMA modulates glutathione transferase P1 activity in gingival fibroblasts. *J Dent Res.* 2004; 83: 914-9.
45. Kim NR, Lim BS, Park HC, Son KM, Yang HC. Effects of N-acetylcysteine on TEGDMA- and HEMA-induced suppression of osteogenic differentiation of human osteosarcoma MG63 cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011; 98B: 300-7.
46. Nocca G, D'Antò V, Desiderio C, Rossetti DV, Valletta R, Baquala AM, Schweikl H, Lupi A, Rengo S, Spagnuolo G. N-acetyl cysteine directed detoxification of 2-hydroxyethyl methacrylate by adduct formation. *Biomaterials.* 2010; 31: 2508-16.
47. Tsukimura N, Yamada M, Aita H, Hori N, Yoshino F, Chang-Il Lee M, Kimoto K, Jewett A, Ohawa T. N-acetyl cysteine (NAC)-mediated detoxification and functionalization of poly(methyl methacrylate) bone cement. *Biomaterials.* 2009; 30: 3378-89.
48. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci.* 2003; 60: 6-20.
49. Paranjpe A, Cacalano NA, Hume WR, Jewett A. N-acetylcysteine protects dental pulp stromal cells from HEMA-induced apoptosis by inducing differentiation of the cells. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43:1394-408.
50. Paranjpe A, Cacalano NA, Hume WR, Jewett A. N-acetyl cysteine mediates protection from 2-hydroxyethyl methacrylate induced apoptosis via nuclear factor kappa B-dependent and independent pathways: potential involvement of JNK. *Toxicol Sci.* 2009; 108: 356-66.
51. Azzi A. Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43: 16-21.
52. Zingg JM. Modulation of signal transduction by vitamin E. *Mol Aspects Med.* 2007; 28: 481-506.
53. Zingg JM, Azzi A. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem.* 2004; 11: 1113-33.
54. Müller JM, Rupec RA, Baeuerle PA. Study of gene regulation by NF-kappa B and AP-1 in response to reactive oxygen intermediates. *Methods.* 1997; 11: 301-12.
55. Glauert HP. Vitamin E and NF-kappaB activation: a review. *Vitam Horm.* 2007; 76: 135-53.
56. Traber MG, Packer L. Vitamin E: beyond antioxidant function. *Am J Clin Nutr.* 1995; 62:1501S-9S.
57. Padayatty S, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003; 22: 18-35.
58. Wu F, Schuster DP, Tyml K, Wilson JX. Ascorbate inhibits NADPH oxidase subunit p47phox expression in microvascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2007; 42: 124-31.
59. Cárcamo JM, Pedraza A, Bórquez-Ojeda O, Golde DW. Vitamin C suppresses TNF alpha-induced NF kappa B activation by inhibiting I kappa B alpha phosphorylation. *Biochem.* 2002; 41: 12995-13002.
60. Elliott R. Mechanisms of genomic and non-genomic actions of carotenoids. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1740: 147-54.
61. Kastner P, Mark M, Chambon P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? *Cell.* 1995; 83: 859-69.
62. Strimpakos AS, Sharma RA. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxid Redox Signal.* 2008; 10: 511-45.
63. Fraga CG. Plant polyphenols: how to translate their in vitro antioxidant actions to in vivo conditions. *IUBMB Life.* 2007; 59: 308-15.
64. Pervaiz S, Holme AL. Resveratrol: its biologic targets and functional activity. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11: 2851-97.
65. Ho Y, Magnenat J, Gargano M, Cao J. The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies. *Environ Health Perspect.* 1998; 106 (Suppl 5): 1219-28.
66. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med.* 2010; 49: 1603-16.
67. Miller AF. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Lett.* 2012; 586: 585-95.
68. Johnson F, Giulivi C. Superoxide dismutases and their impact upon human health. *Mol Aspects Med.* 2005; 26: 340-52.
69. Zámocký M, Gasselhuber B, Furtmüller PG, Obinger C. Molecular evolution of hydrogen peroxide degrading enzymes. *Arch Biochem Biophys.* 2012; 525: 131-44.
70. Brioukhanov AL, Netrusov AI, Eggen RIL. The catalase and superoxide dismutase genes are transcriptionally up-regulated upon oxidative stress in

- the strictly anaerobic archaeon *Methanosarcina barkeri*. *Microbiol.* 2006; 152: 1671-7.
71. Hiner A, Raven E, Thorneley R, García FC, Rodríguez JL. Mechanisms of compound I formation in heme peroxidases. *J Inorg Biochem.* 2002; 91: 27-34.
 72. Matsunaga I, Shiro Y. Peroxide-utilizing biocatalysts: structural and functional diversity of heme-containing enzymes. *Curr Opin Chem Biol.* 2004; 8: 127-32.
 73. Lee JM, Johnson JA. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism, *J Biochem Mol Biol.* 2004; 37: 139-43.
 74. Kim J, Cha JN, Surh YJ. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat Res.* 2010; 690: 12-23.
 75. Arrigo AP. Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad Biol Med.* 1999; 27: 936-44.
 76. Cotgreave IA, Gerdes RG. Recent trends in glutathione biochemistry-glutathione-protein interactions: a molecular link between oxidative stress and cell proliferation? *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 242: 1-9.
 77. Imlay JA. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu Rev Biochem.* 2008; 77: 755-76.
 78. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular. *Hypertension.* 2004; 44: 381-6.
 79. Sagrista ML, Garcia AE, Africa De Madariaga M, Mora M. Antioxidant and pro-oxidant effect of the thiolic compounds N-acetyl-L-cysteine and glutathione against free radical-induced lipid peroxidation. *Free Radic Res.* 2002; 36: 329-40.
 80. Volk J, Engelmann J, Leyhausen G, Geurtsen W. Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. *Dent Mater.* 2006; 22: 499-505.
 81. Mannervik B, Awasthi YL, Board PG, Hayes JP, Dillio C, Ketterer B, Listowsky I, Morgenstern R, Muramatsu M, Pearson WR, et al. Nomenclature for human glutathione transferase (letter). *Biochem J.* 1992; 282: 305-6.
 82. Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, Bandorowicz-Pikula J, Singhal SS, Srivastava SK, Awasthi S, Awasthi YC. Naturally occurring human glutathione-S-transferase GST P1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymatic properties. *Eur J Biochem.* 1994; 204: 893-900.
 83. Gozzelino R, Jeney V, Soares MP. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase-1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010; 50: 323-54.
 84. Kikuchi G, Yoshida T, Noguchi M. Heme oxygenase and heme degradation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 338: 558-67.
 85. Orozco MI, Pedraza JC. Hemo oxigenasa: aspectos básicos y su importancia en el sistema nervioso central. *Arch Neurocién.* 2010; 15: 47-55.
 86. Alam J, Cook JL. How many transcription factors does it take to turn on the heme oxygenase-1 gene? *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007; 36: 166-74.
 87. Schweikl H, Hiller KA, Eckhardt A, Bolay C, Spagnuolo G, Stempf T, Schmalz G. Differential gene expression involved in oxidative stress response caused by triethylene glycol dimethacrylate. *Biomaterials.* 2008; 29: 1377-87.
 88. Sánchez C, Rodeiro I, Garrido G, Delgado R. Hemo-Oxigenasa 1: un promisorio blanco terapéutico. *Acta Farm Bonaerense.* 2005; 24: 619-26.
 89. Ryter SW, Alam J, Choi AMK. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev.* 2006; 86: 583-650.
 90. Matsui T, Unno M, Ikeda-Saito M. Heme oxygenase reveals its strategy for catalyzing three successive oxygenation reactions. *Acc Chem Res.* 2010; 43: 240-47.
 91. Ryter SW, Otterbein LE. Carbon monoxide in biology and medicine. *Bioessays.* 2004; 26: 270-80.
 92. Sedlak TW, Snyder SH. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. *Pediatrics* 2004; 113: 1776-82.
 93. Stocker R. Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal.* 2004; 6: 841-9.
 94. Mancuso C, Pani G, Calabrese V. Bilirubin: an endogenous scavenger of nitric oxide and reactive nitrogen species. *Redox Rep.* 2006; 11: 207-13.
 95. Kirby KA, Adin CA. Products of heme oxygenase and their potential therapeutic applications. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006; 290: 563-71.

CORRESPONDENCIA

Paula Alejandra Baldi3n
pabaldione@unal.edu.co

Jaime Eduardo Castellanos Parra
jecastellanosp@unal.edu.co

