

LA ACADEMIA DE CIENCIAS ODONTOLÓGICAS DE ESPAÑA

**“RESPUESTA INMUNE INNATA  
DE LA PULPA DENTAL FRENTE  
A LA CARIES: EL PAPEL  
DEL ODONTOBLASTO”**

**DISCURSO**

PRONUNCIADO POR EL

**Excmo. Dr. D. Juan José Segura Egea**

EN EL ACTO DE SU TOMA DE POSESIÓN COMO ACADÉMICO  
DE NÚMERO EL DÍA 16 DE MARZO DE 2015

Y LA CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO DE NÚMERO

**Excmo. Dr. D. Antonio Bascones Martínez**



**MADRID  
MMXV**



LA ACADEMIA DE CIENCIAS ODONTOLÓGICAS DE ESPAÑA

**“RESPUESTA INMUNE INNATA  
DE LA PULPA DENTAL FRENTE  
A LA CARIES: EL PAPEL  
DEL ODONTOBLASTO”**

**DISCURSO  
PRONUNCIADO POR EL  
Excmo. Dr. D. Juan José Segura Egea**

**EN EL ACTO DE SU TOMA DE POSESIÓN COMO ACADÉMICO  
DE NÚMERO EL DÍA 16 DE MARZO DE 2015**

**Y LA CONTESTACIÓN DEL ACADÉMICO DE NÚMERO**

**Excmo. Dr. D. Antonio Bascones Martínez**



**MADRID  
MMXV**

DEPOSITO LEGAL: M-4961-2015  
IMPRESO EN ESPAÑA

# CONTENIDO

## “RESPUESTA INMUNE INNATA DE LA PULPA DENTAL FRENTE A LA CARIES: EL PAPEL DEL ODONTOBLASTO”

INTRODUCCIÓN.....	6
BACTERIAS QUE INFECTAN LA PULPA Y SUS ANTÍGENOS.....	7
MECANISMOS DE RECONOCIMIENTO BACTERIANO INESPECÍFICO EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA PULPAR: LOS RECEPTORES TLRs.....	10
MECANISMOS EFECTORES DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA PULPAR .....	12
CONCLUSIONES.....	22
BIBLIOGRAFÍA.....	25
CONTESTACIÓN DEL DR. ANTONIO BASCONES.....	33
CONSIDERACIONES HUMANAS Y TEORÍA CIENTÍFICA.....	34
COMENTARIOS A SU DISCURSO.....	36



**DISCURSO DEL**  
**Excmo. Dr. D. Juan José Segura Egea**

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia,  
Ilmo. Sr. Presidente del Consejo General de Dentistas de España,  
Excmos. Sras. y Sres. Académicos,  
Señoras y señores:

Al iniciar mi discurso de recepción y toma de posesión de la plaza de académico de número de la Academia de Ciencias Odontológicas de España en la sección de Odontología Conservadora, mis primeras palabras han de ser, necesariamente, de agradecimiento a todos los que, a lo largo de mi vida, me han ayudado a desarrollarme como persona, como docente y como científico. En el lado bueno de la persona que hoy soy puede verse la influencia de mis padres, de mi mujer Victoria, de mis hijos Juan José, Consuelo y Carlos, de mis amigos y de mis maestros de la infancia. En el lado malo, mis propias pasiones y debilidades. En lo que se refiere a mi formación académica y científica, en estos momentos recuerdo a D. José Padial, mi profesor de Biología en COU en el Instituto Nacional Virgen del Carmen de Jaén, quien, sin duda, estimuló en mí la curiosidad intelectual por la naturaleza, una de las cualidades de orden moral que debe poseer el investigador, como señalaba D. Santiago Ramón y Cajal en su discurso de ingreso en las Academias de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. También vienen a mi memoria los profesores que tuve durante la carrera de Medicina, en especial el prof. Raimundo Goberna Ortiz, catedrático de Bioquímica, con quien me inicié como alumno interno en el laboratorio de investigación, el prof. Juan Ramón Calvo Gutiérrez, hoy catedrático de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad de Sevilla, mi director de tesis doctoral, que me enseñó a investigar y a organizar los resultados de la investigación para publicarlos en revistas de impacto, y los compañeros doctorandos con los que aprendí a manejar en el laboratorio, en especial, el hoy catedrático de Bioquímica y Biología Molecular prof. Víctor Sánchez-Margalet. Por último, tengo también que mostrar mi agradecimiento a los profesores Eugenio Velasco Ortega, José M<sup>º</sup> Llamas Carreras, José Luis Gutiérrez Pérez, Guillermo Machuca Portillo, Daniel Torres Lagares y M<sup>º</sup> Carmen Machuca Portillo, compañeros de la Facultad de Odontología de Sevilla que me han apoyado a lo largo de mi vida académica y que han jugado un papel clave en el desarrollo de mi carrera docente y científica y muy especialmente, al prof. Antonio Bascones Martínez, un referente para mí y para muchos otros profesores universitarios del área de la Odontología, quien con su apoyo y ánimo ha hecho posible que hoy sea catedrático de Universidad y esté aquí tomando posesión como Académico.

Para finalizar el capítulo de agradecimientos es obligado mostrar mi gratitud al Ilustre Consejo General de Dentistas de España y a la Fundación Dental Española por haberme propuesto como miembro de esta Academia, honor que valoro en el máximo grado, y a la Real Academia de Farmacia y a su Presidente, que con tanto afecto nos acoge y ayuda.

## INTRODUCCIÓN

Hoy nos encontramos reunidos en una sesión de la Academia de Ciencias Odontológicas de España. La Odontología es la rama de las ciencias de la salud que estudia el diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades del aparato estomatognático, incluyendo los dientes, el periodonto y la articulación témporo-mandibular con su sistema neuromuscular, así como todas las demás estructuras de la cavidad oral. Si el diente ocupa un papel primordial en la Odontología, la pulpa dental y, por extensión, todo el complejo



pulpo-dentinario, determinan la clave de la anatomía y fisiología dentarias y, por tanto, de todo el aparato estomatognático. La presencia de odontoblastos en el tejido pulpar, las células especializadas en la formación de dentina, convierte a la pulpa dental en un tejido conectivo único en la economía. Gracias al odontoblasto, el tejido conectivo pulpar se rodea de una capa de tejido duro inextensible, la dentina, que, a su vez, está recubierta por otro tejido duro, el de mayor dureza del cuerpo humano, el esmalte, constituido por hidroxiapatita, con dureza 5 en la escala de Mohs, similar al zirconio, y un módulo elástico de 83 GPa. Mientras el esmalte y la dentina permanecen íntegros, actúan como una barrera defensiva mecánica de la pulpa frente a los agentes patógenos, pero cuando la caries, en la inmensa mayoría de los casos, los traumatismos o cualquier otro proceso destructivo rompen esta barrera, las bacterias pueden alcanzar el tejido pulpar, desencadenando una respuesta inflamatoria e inmune, la pulpitis (Jontell et al. 1998). Las bacterias causantes de la caries son también la causa principal de la infección y la inflamación pulpar, siendo la lesión que sufrirá el tejido pulpar el resultado de un proceso dinámico en el que, de un lado, están los microorganismos invasores y, de otro, la respuesta inmune e inflamatoria del huésped (Bergenholtz 2000).

Para que se produzca la respuesta inflamatoria pulpar no es necesario que las bacterias alcancen físicamente la pulpa. Por el contrario, desde hace ya tres décadas existen evidencias experimentales que demuestran que antígenos bacterianos y/o subproductos metabólicos pueden difundir a través de los túbulos dentinarios estimulando la respuesta inmune en la pulpa dental (Warfvinge et al. 1985). En definitiva, la pulpitis se desarrolla como resultado de un proceso inmunopatológico (Hahn & Liewehr 2007a).

## **BACTERIAS QUE INFECTAN LA PULPA DENTAL Y SUS ANTÍGENOS**

Analizaremos ahora las bacterias implicadas en la caries y los antígenos bacterianos que estimulan la respuesta inmune innata pulpar. La flora microbiana implicada en la caries es compleja y variable de un individuo a otro, e incluso de una lesión a otra, dependiendo de la dieta, la saliva y la patocronia de cada lesión. Los estreptococos, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, y los lactobacilos son importantes en el inicio de la lesión y en la progresión de la caries (Van Houte 1994, Nadkarni et al. 2010). Ambas especies bacterianas tienen también las ventajas competitivas de ser acidúricas, lo que les permite vivir en medios muy ácidos, y ser acidogénicas, fermentando los hidratos de carbono de la dieta y provocando un descenso del pH que hace que la hidroxiapatita del esmalte, la dentina y el cemento se disocie en calcio y fosfato, desmineralizándose ambos tejidos. Se ha observado que algunas cepas de estreptococos y lactobacilos orales, además de acidúricas, son también arginolíticas, siendo capaces de degradar la arginina y producir sustancias básicas (Wijeyeweera & Kleinberg 1989). Estas bacterias pueden, pues, provocar tanto caídas como incrementos de pH, siendo por ello menos cariogénicas. Según la hipótesis de la placa ecológica, la actividad de una lesión de caries concreta depende de la proporción de bacterias arginolíticas y no-arginolíticas que contenga (Kleinberg 2002).

En las lesiones de caries dentinaria, tras la desmineralización de la dentina intratubular, queda expuesto colágeno tipo I al que pueden unirse los estreptococos (*S. mutans* y *S. gordonii*) y lactobacilos orales a través de polipéptidos de su pared celular (antígenos I/II), invadiendo así los túbulos dentinarios (Love et al. 1997). La *Porphyromonas gingivalis* puede invadir los túbulos dentinarios una vez que el *S. gordonii* los ha invadido, interactuando con los antígenos I/II de su pared celular (Love & Jenkinson 2002). Conforme avanza y profundiza la lesión en la dentina, se va produciendo un cambio en el ecosistema (nutrientes,

oxígeno, etc.) que provoca a su vez otro cambio en la flora microbiana. Así, de ser una flora predominantemente sacarolítica, Gram-positiva y anaerobia facultativa en la lesión de caries superficial, se va haciendo cada vez más asacarolítica, proteolítica, Gram-negativa y anaerobia estricta (Hahn & Liewehr 2007a). Por ello, en las lesiones de caries dentinaria profundas se encuentran gran cantidad de bacterias Gram-negativas anaerobias como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bifidobacterium*.

Las lesiones de caries dentinaria profunda pueden clasificarse en cuatro grupos según la flora bacteriana predominante (Hahn et al. 1991, Chhour et al. 2005): 1) ricas en *Lactobacillus*, 2) predominio mixto de *Lactobacillus* y *Prevotella*, 3) ricas en *Prevotella*, con predominio de bacterias anaerobias y proteolíticas, y 4) bajo contenido en *Lactobacillus* y *Prevotella*, con alto contenido de estreptococos. El tipo de flora microbiana se correlaciona con la clínica del paciente que sufre pulpitis irreversible secundaria a la lesión de caries (Fig. 1).

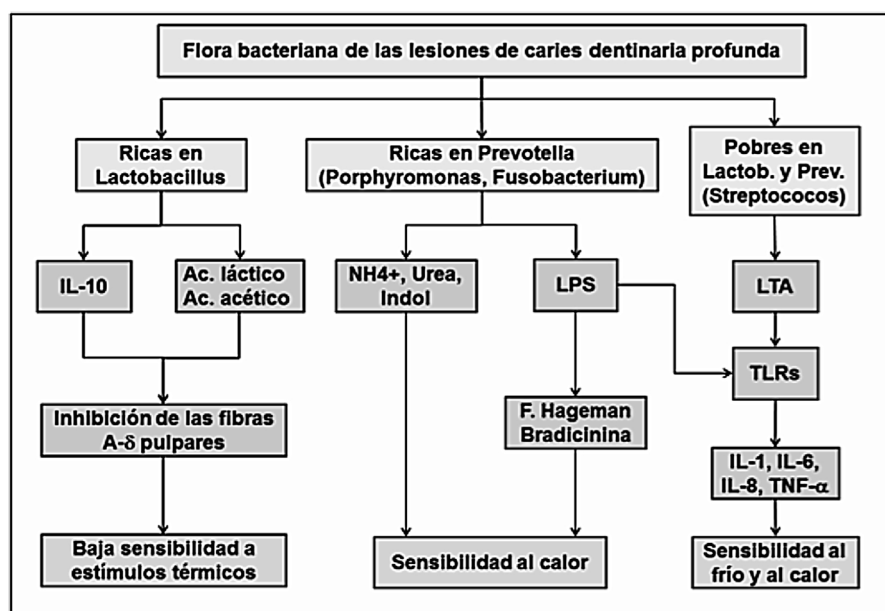


Figura 1. Correlación de la flora bacteriana de las lesiones de caries dentinaria profunda con la sensibilidad dental en la caries (Hahn & Liewehr 2007a, modificado).

Los metabolitos y los productos derivados de la pared celular de estas bacterias, alcanzan la pulpa a través del fluido de los túbulos dentinarios provocando la inflamación pulpar. El principal metabolito de las lesiones de caries dentinaria activa es el ácido láctico (pH = 4,9), mientras que en las lesiones de caries dentinaria detenida lo es el ácido acético (pH = 5,7). Pero ninguno de los dos ácidos orgánicos, láctico y acético son capaces de estimular las fibras nerviosas A- $\delta$  intratubulares. Además, la abundante liberación de iones calcio ( $Ca^{++}$ ) e hidrogeniones ( $H^+$ ) consecutiva a la desmineralización de la dentina en las lesiones tipo 1 (ricas en *Lactobacillus*), disminuye la excitabilidad de las fibras nerviosas intratubulares, por lo que estas lesiones no suelen asociarse a hipersensibilidad pulpar ante estímulos térmicos (Hahn & Liewehr 2007a). Por el contrario, las lesiones de caries dentinaria profunda del tipo 3, ricas en *Prevotella* y con predominio de bacterias anaerobias y proteolíticas, se asocian a hipersensibilidad pulpar ante estímulos térmicos. Estas bacterias metabolizan el

ácido glutámico y el ácido aspártico, liberando ión amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) que, junto con la urea y el indol, es un potente agente algogénico. Varios estudios han demostrado la asociación de la hipersensibilidad y el dolor pulpar con las caries dentinarias profundas, ricas en bacterias anaerobias Gram-negativas, que liberan el lipopolisacárido capsular (LPS), y en bacterias proteolíticas (*Bacteroides* spp, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*). El LPS activa al factor Hageman y aumenta la síntesis de bradicinina, un potente inductor de dolor y de la hipersensibilidad al calor (Khabbaz et al. 2000). Además, el LPS, interactuando con receptores TLRs, induce la liberación de citoquinas pro-inflamatorias. En las lesiones del tipo 4, el ácido lipoteicoico (LTA) de los estreptococos, estimula la respuesta inmune innata de forma similar a como lo hace el LPS, induciendo la liberación de las mismas citoquinas. En definitiva, los dos antígenos bacterianos que juegan un papel principal en la respuesta innata pulpar son el LPS y el LTA, a los que prestaremos ahora especial atención.

El lipopolisacárido capsular es una molécula glucolípida anclada a la membrana externa de las bacterias Gram-negativas (*Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bifidobacterium*) que ocupa tres cuartas partes de la superficie bacteriana, siendo considerado como su antígeno de superficie más importante. Su fracción biológicamente activa es el lípido A, un disacárido unido a ácidos grasos. Cuando el LPS es liberado de la membrana de la bacteria como consecuencia de la multiplicación o la lisis, entra en contacto con la proteína de unión al LPS (LBP), que lo captura y facilita su interacción con el receptor CD14, que es una glucoproteína que se encuentra en forma soluble o anclada a la membrana celular de monocitos, macrófagos, polimorfonucleares y células endoteliales. El CD14 no posee dominio intracitoplasmático y tiene como función principal transferir el LPS al complejo encargado de su reconocimiento, un receptor de membrana Toll-like, el TLR4. El complejo LPS-proteína de unión-receptor Toll-like tipo 4 (LPS-LBP-TLR4) induce la liberación de citoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-8 (IL-8), interleuquina-12 (IL-12), y la de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 (Henderson & Wilson 1996). El LPS de *Porphyromonas endodontalis* y de *Escherichia coli* induce también la expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) en las células madre pulpares (DPSC) y en fibroblastos pulpares humanos por un mecanismo señalado por la proteína-quinasa activada por mitógeno (MAPK) (Botero et al. 2010). Cuando el LPS entra en la circulación sanguínea induce múltiples respuestas biológicas, incluyendo fiebre, shock, coagulación intravascular e incluso la muerte. La especie humana es muy sensible al LPS, bastando una dosis de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para inducir shock, mientras que los monos llegan a tolerar dosis 1.000 veces mayores (Warren et al. 2010).

El segundo antígeno clave en la respuesta defensiva pulpar frente a las bacterias es el ácido lipoteicoico (LTA), una molécula anfótera constituida por poliglicerofosfato y un grupo glucolípido que está unido mediante fuerzas hidrófobas a la membrana celular de las bacterias Gram-positivas (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*), incluyendo la mayoría de las cepas de estreptococos (Hogg et al. 1997). El LTA es producido en grandes cantidades por las bacterias cariogénicas en presencia de sacarosa (Rolla et al. 1980) y puede ser liberado extracelularmente cuando la bacteria crece en un medio de pH bajo (Jacques et al. 1979), pudiendo difundir hacia la pulpa y provocar respuesta inmune (Ginsburg 2002).

El LTA activa la respuesta inmune innata mediante un mecanismo similar al del LPS. También se une a la proteína de unión CD14 y activa un receptor Toll-like, en este caso el TLR2, induciendo la liberación de las mismas citoquinas que el LPS (Hahn & Liewehr 2007b).

Aunque el LTA es menos potente que el LPS induciendo la liberación de citoquinas pro-inflamatorias por los macrófagos (Ginsburg 2002), tiene la misma potencia induciendo la expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).

## **MECANISMOS DE RECONOCIMIENTO BACTERIANO INESPECÍFICO EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA PULPAR: LOS RECEPTORES TLRs**

Ante la presencia del LPS y el LTA, la pulpa responde inicialmente activando la inmunidad innata o inespecífica y, sólo si ésta es incapaz de eliminar la agresión, se estimulará la respuesta inmune adaptativa específica celular y humoral. Pero, ¿cómo averigua la pulpa dental que la caries se acerca? Pasamos ahora a estudiar los mecanismos de reconocimiento bacteriano inespecífico mediante los que la pulpa dental detecta que la lesión de caries se aproxima y avanza hacia ella. Estos mecanismos se enmarcan dentro de la respuesta inmune pulpar inespecífica, natural o innata, que comprende los mecanismos inespecíficos de defensa frente a los microorganismos y es la primera línea de defensa que impide la invasión y diseminación de los patógenos. Esta respuesta se genera de forma inmediata, es antígeno-inespecífica y no se incrementa tras exposiciones repetidas al mismo agente, por lo que no tiene memoria. La respuesta inmune natural implica tanto la existencia de mecanismos de detección e identificación de los antígenos bacterianos, como la de mecanismos efectores frente a los agentes agresores identificados.

Para que pueda producirse la respuesta pulpar inmune inespecífica es necesario que las células implicadas en ella (monocito-macrófagos, las células dendríticas inmaduras, las células NK y las células T), a las que nos referiremos con mayor profundidad más adelante, dispongan de un sistema de reconocimiento de antígenos bacterianos. Y, en efecto, las células inmunes innatas son capaces de reconocer asociaciones moleculares comunes y constantes en la superficie de los microorganismos, denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PMAPs), entre los que destacan el LPS y el LTA a los que nos hemos referido anteriormente. Para reconocer estos patrones moleculares asociados a patógenos las células de la inmunidad innata expresan receptores de membrana denominados receptores reconocedores de patrones (PRR) (Moreno et al. 2003). Los PRR se expresan fundamentalmente en la superficie de las células que primero entran en contacto con el patógeno durante la infección (células de la superficie epitelial) y en células presentadoras de antígeno (células dendríticas y monocitos/macrófagos).

El LPS y el LTA, así como los demás PMAPs, tienen tres características fundamentales: 1) son estructuras moleculares típicas de los microorganismos que no se encuentran en los mamíferos ni, por tanto, en las células del huésped, por lo que el sistema inmune innato los identifica como antígenos extraños; 2) al ser esenciales para la supervivencia o la patogenicidad del agente infeccioso, sus mutaciones son letales para el microorganismo, por lo que permanecen invariables a lo largo de la evolución; y 3) son constantes de unas bacterias a otras, lo que permite que con un número limitado de PRR se detecte la presencia de casi cualquier patógeno. Así, el reconocimiento del lípido A característico del LPS permite a un único PRR detectar la presencia de cualquier infección bacteriana por Gram-negativos.

Entre los PRR destacan los denominados receptores tipo Toll (Toll-like receptor, TLRs), una familia de glucoproteínas que forman parte del sistema inmunitario innato. Se denominan así porque presentan homología con la proteína Toll de la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*, así como con el receptor de la IL-1. Según su localización, los TLRs han sido divididos en dos categorías: a) los que se localizan en la membrana celular (TLR-1,-2,-4,-5,-6,-10,-11,-12 y -13) y b) los que se encuentran en las membranas de los endosomas (TLR-3,-

7,-8 y -9). Los TLRs son receptores transmembrana que reconocen productos bacterianos (TLR1 / lipopéptidos tri-acilados, TLR2 / lipopéptidos tri- y di-acilados, ácido lipoteicoico, TLR4 / LPS) y patrones moleculares de ácidos nucleicos (TLR3 / ARN de doble cadena) expresados por un amplio espectro de agentes infecciosos (Durand et al. 2006), estimulando la respuesta inmune innata y, consiguientemente, una respuesta inflamatoria. Los TLRs juegan un papel importante en la conexión entre la respuesta inmune innata y la adaptativa mediando la señalización en las células presentadoras de antígeno (CPAs). Bacterias, virus y otros microorganismos son identificados como elementos extraños mediante el reconocimiento de sus PAMP por los TLRs, presentes en las CPAs. Los TLRs tienen una estructura similar al receptor de la IL-1, con un dominio extracelular y otro intracelular (Fig. 2).

El dominio extracelular tiene la capacidad de unión al ligando mediante las LRR's (leucine rich repeats, repeticiones ricas en leucina), siendo el responsable del reconocimiento de los diferentes PAMPs, mientras que el dominio TIR media la señal intracelular. Todos los TLRs, menos TLR-3, señalan por la vía dependiente de la proteína adaptadora MyD88 (factor de diferenciación mieloide 88), la misma utilizada por la IL-1, que activa al factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- B), factor trascricional que, a su vez, activa la transcripción de genes implicados en la respuesta inflamatoria, induciendo la producción de interleuquinas proinflamatorias como las IL-1, IL-6, IL-8, TNF- , e IL-12. Además, se incrementa la expresión de CD80 y de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tipo HLA-II, lo que junto a la liberación de IL-12, permite la interacción de las CPAs con los linfocitos T CD4 y la diferenciación de estos en linfocitos Th1, que, a su vez, activan a los macrófagos e inducen a los linfocitos B a diferenciarse en células plasmáticas productoras de anticuerpos IgG, efectivos para la opsonización de patógenos extracelulares (Moreno et al. 2003).

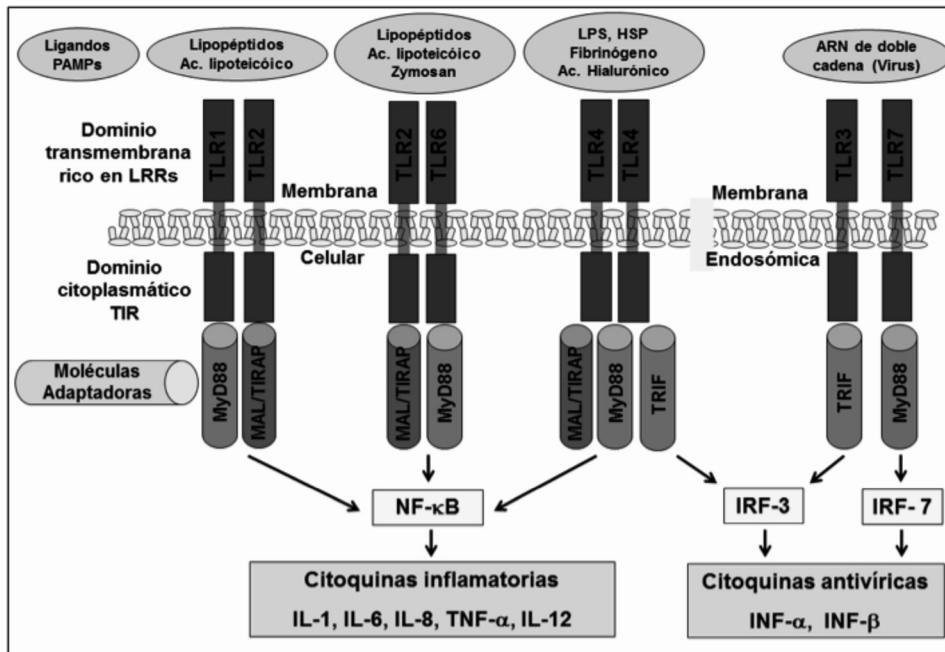


Figura 2. Estructura y función de los receptores TLR. Los receptores Toll-like (TLRs) localizados en la membrana celular (TLR-1,-2,-4,-6) tienen en su dominio transmembrana extracelular grupos LRRs (leucine rich repeats, repeticiones ricas en

leucina), con los que reconocen los diferentes patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). El TLR1 reconoce lipopéptidos tri-acilados; el TLR2 lipopéptidos tri- y di-acilados, el ácido lipoteicoico (LTA), el zymosan y la proteína HSP70; el TLR4 reconoce el LPS, las proteínas de estrés o de choque térmico (HSP), el fibrinógeno y fragmentos de ácido hialurónico; el TLR3 y el TLR7 se localizan en membranas endosómicas y reconocen ARN de doble cadena (virus). Por su parte, la porción citoplasmática de los TLRs está constituida por un dominio TIR (Toll/IL-1 Receptor) que media la señal intracelular a través de su interacción con otros dominios TIR en diferentes proteínas adaptadoras: MyD88 (factor de diferenciación mielóide 88), MAL/TIRAP (toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein), y TRIF (adaptador que contiene el dominio TIR e induce IFN). Los TLR-1,-2,-4, y -6 señalizan por la vía MyD88/MAL dependiente, activando el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de los linfocitos B (NF- $\kappa$ B), que entra en el núcleo y estimula la transcripción de citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-12). El TLR-3, y también puede hacerlo el TLR-4, señalizan por la vía independiente de MyD88, en la que el adaptador es el TRIF, produciendo la fosforilación del IRF-3 (interferon regulatory factor 3) y permitiéndole translocarse al interior del núcleo, donde activa la síntesis de interferón tipo I (IFN- $\alpha$  e IFN- $\beta$ ). El TLR7 señala por la vía dependiente de MyD88, fosforilando el IRF-7 (interferón regulatory factor 7), activando también la síntesis de interferón tipo I.

Concretamente, los macrófagos expresan TLR1, TLR2 y TLR4 y las células dendríticas TLR1-4. Los fibroblastos pulpares humanos expresan TLR2 y TLR4 (Hirao et al. 2009). Los macrófagos y las células dendríticas utilizan sus TLRs para clasificar al patógeno invasor y responder de forma personalizada. Los diez TLR conocidos hasta el momento, bien de forma individualizada o bien formando heterodímeros, son capaces de reconocer prácticamente cualquier agente infeccioso (Moreno et al. 2003).

Los macrófagos y los neutrófilos expresan también receptores "scavengers" (barredores), que se unen a ligandos muy diversos como lipoproteínas, proteínas, poli y oligonucleótidos, polisacáridos aniónicos, fosfolípidos y otras moléculas. Estos fagocitos también expresan receptores para opsoninas (moléculas que se unen a las bacterias y facilitan su fagocitosis), como receptores para la proteína C-reactiva, la fibronectina, o el factor 3b (C3b) del complemento. Las células fagocíticas, macrófagos y neutrófilos, una vez interactúan con la bacteria y se adhieren a ella, con su receptor, la internalizan y la fagocitan. En la pulpa, la función fagocítica, característica de la respuesta inmune inespecífica, no se produce hasta que el frente de avance de la caries entra en contacto directo con el tejido pulpar.

## **MECANISMOS EFECTORES DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA PULPAR**

Pero, ¿qué mecanismos pone en funcionamiento la pulpa dental cuando, gracias a los TLRs, ha detectado la presencia de los antígenos bacterianos? Los estudiaremos a continuación. Las lesiones de caries progresan lentamente en la dentina hacia la pulpa y no está claro ni el momento exacto en el que se inicia la respuesta inmune inespecífica, ni cuando se activa la inmunidad específica adaptativa. Si conocemos que, cuando el proceso destructivo carioso ha alcanzado las capas más profundas de la dentina y está muy próximo a la pulpa, la activación de la respuesta inmune específica o adaptativa desencadena una reacción inflamatoria pulpar que se manifiesta clínicamente como una pulpitis irreversible (Hahn & Liewehr 2007a).

Por el contrario, los estudios llevados a cabo demuestran que, mientras existan al menos 2 mm de dentina sana entre el frente de avance de la caries y la pulpa, la inmunidad inespecífica es suficiente para proteger la pulpa y facilitar su reparación, siendo la pulpitis reversible (Reeves & Stanley 1966, McLachlan et al. 2004). Además de la intervención de los receptores TLRs, que reconocen los patrones moleculares inespecíficos presentes en las bacterias de la caries, otros mecanismos efectores juegan también un papel fundamental en la respuesta inmune innata pulpar frente a la caries (Hahn & Liewehr 2007b) (Tabla 1: a) la permeabilidad dentinaria y la presión del fluido dentinario; b) los odontoblastos; c) los neuropéptidos y la inflamación neurogénica; d) las células efectoras de la inmunidad inespecífica, incluyendo los monocito-macrófagos, las células dendríticas inmaduras (CDs), las células NK (asesinas naturales, natural killer) y las células T; e) las citoquinas innatas; f) las quimioquinas o factores quimiotácticos; y g) los factores humorales).

**Tabla 1. Mecanismos efectores de la respuesta inmune innata pulpar**

1	Permeabilidad dentinaria / presión del fluido dentinario.
2	Los odontoblastos.
3	Los neuropéptidos pulpares y la inflamación neurogénica.
4	Las células efectoras de la inmunidad inespecífica: Monocitos-macrófagos. Células dendríticas inmaduras (CDs). Células NK (asesinas naturales, natural killer). Células T.
5	Las citoquinas innatas.
6	Las quimioquinas o factores quimiotácticos.
7	Factores humorales.

Segura-Egea et al. 2014.

#### **a) La permeabilidad dentinaria y la presión del fluido dentinario**

El primer mecanismo efector de la inmunidad innata pulpar al que me voy a referir es el fluido dentinario. Una peculiaridad estructural característica de la pulpa dental es, sin duda, el hallarse en el interior de una caja de tejido mineral rígido, la cavidad pulpar. Tradicionalmente se ha considerado que el tejido pulpar tiene una baja capacidad de respuesta frente a los agentes nocivos, pues su encapsulamiento en un entorno inextensible, comprometería el aporte sanguíneo y el reclutamiento celular adecuados necesarios para el desarrollo de la respuesta inflamatoria defensiva (Jontell et al. 1998). Sin embargo, el sistema inmune innato inespecífico se adapta a esta especial peculiaridad del tejido conectivo pulpar mediante la integración de éste con la dentina en una unidad funcional, el “complejo dentino-pulpar”.

El tejido pulpar está en continuidad directa con la dentina. Decenas de miles de túbulos dentinarios se abren y desembocan en las paredes de la cavidad pulpar. El líquido existente en los túbulos dentinarios, el fluido dentinario, no es más que un trasudado del plasma sanguíneo de los vasos intrapulpares. El paso de los antígenos de las bacterias de la caries hasta la pulpa puede realizarse de forma directa a través estos túbulos, siendo el

número y diámetro de los túbulos y el flujo del fluido dentinario en su interior los factores que regulan la posibilidad de que los antígenos provenientes del exterior alcancen la pulpa (Hahn & Liewehr 2007b). Así, aunque no se les haya incluido habitualmente entre los mecanismos de inmunidad inespecífica pulpar, tanto la permeabilidad dentinaria como el espesor de dentina remanente son los dos factores determinantes más importantes en la respuesta inflamatoria pulpar frente a la caries (Murray et al. 2003, Hahn & Liewehr 2007a). Si bien las bacterias o sus componentes celulares como el LPS son capaces de pasar a través de los túbulos dentinarios e inducir la respuesta inflamatoria de la pulpa, el espesor de la dentina puede reducir significativamente la concentración de proteínas bacterianas y la cantidad de LPS que alcanza la pulpa (Stanley 1968).

Una de las respuestas defensivas iniciales del complejo dentino-pulpar frente al avance de la caries consiste en el incremento del flujo del fluido dentinario hacia el exterior. La vasodilatación asociada a la respuesta inflamatoria inicial del tejido conectivo pulpar frente a las toxinas bacterianas que le llegan a través de los túbulos dentinarios, produce un aumento de la presión intrapulpar que, a su vez, provoca un incremento de la presión en el interior de los túbulos dentinarios y un mayor movimiento del fluido dentinario hacia el exterior, reduciendo así la difusión de las toxinas en dirección a la pulpa (Maita et al. 1991). En los dientes desvitalizados y tratados endodómicamente, la ausencia de fluido dentinario hace que tengan una tasa de invasión bacteriana significativamente mayor que la de los dientes vitales, lo que demuestra el papel protector de la presión del fluido dentinario (Nagaoka et al. 1995).

Se ha observado un cambio dinámico en la localización de los depósitos de inmunoglobulinas en el interior de los túbulos dentinarios de la dentina no infectada cercana a la caries, que parece seguir las variaciones de la permeabilidad vascular durante la inflamación (Hahn & Liewehr 2007b). Por ello, se ha planteado la posibilidad de que el depósito de albumina, fibrinógeno e IgG en el interior de los túbulos dentinarios también pueda ser un mecanismo de defensa inespecífico para disminuir la difusión de antígenos a través de los túbulos dentinarios hacia la pulpa (Pashley et al. 1982, Hahn & Best 2006). Sin embargo, este depósito también podría favorecer el avance de la caries al servir de sustrato alimenticio a las bacterias (Brown & Lefkowitz 1966).

### **b) Los odontoblastos**

Un segundo mecanismo efector de la inmunidad innata pulpar está representado por el propio odontoblasto. La célula característica del tejido conectivo pulpar, el odontoblasto, encargado de la dentinogénesis a lo largo de toda la vida del diente, es también una célula efectora de la respuesta inmune innata pulpar. Los odontoblastos, al tener su prolongación citoplasmática, el proceso odontoblástico, en el interior de los túbulos dentinarios, son los primeros en detectar los antígenos de las bacterias de la caries. La respuesta funcional de los odontoblastos al avance de la caries es la hipercalcificación tubular, con formación de dentina esclerótica, y la formación de dentina terciaria reactiva. Pero el odontoblasto es, además, una célula efectora de la respuesta inmune innata pulpar frente a la caries (Fig. 3).



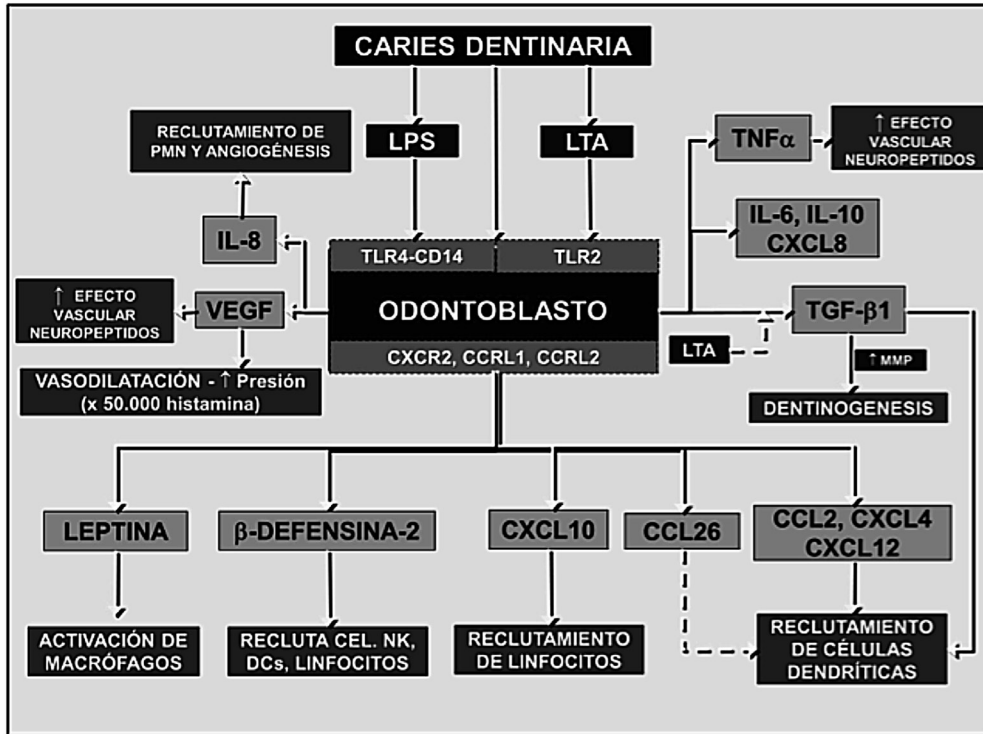


Figura 3. El odontoblasto como célula inmune. Además de su función dentinogénica, el odontoblasto es considerado actualmente como una célula efectora de la respuesta inmune innata pulpar frente a la caries.

Los odontoblastos expresan niveles bajos de IL-8 (Durand et al. 2006, Levin et al. 1999), así como genes de quimioquinas (CCL2, CCL26, CXCL4, CXCL12, CXCL14) y de receptores de quimioquinas (CXCR2, CCRL1, CCRL2) (Huang et al. 1999). Las quimioquinas son proteínas citoquinas de pequeño tamaño con la capacidad de inducir la quimiotaxis en las inmediaciones de las células sensibles, son citoquinas quimiotácticas. La quimioquinas CCL2, CXCL12, y CXCL14 atraen a las células dendríticas inmaduras, mientras que la CCL26 suprime este reclutamiento (Mantovani et al. 2004, Petkovic et al. 2004, Shellenberger et al. 2004).

Los cultivos de odontoblastos de pulpas normales expresan también receptores "Toll-like" (TLR2 y TLR4) de forma constitutiva (Horst et al. 2009). Cuando los receptores TLR2 de los odontoblastos se estimulan con el LTA de las bacterias Gram-positivas o con Pam2CSK4, un agonista sintético del receptor TLR2, los odontoblastos producen las citoquinas IL-6, IL-10 y CXCL8 (Farges et al. 2011), y aumentan la expresión del receptor de reconocimiento de patrones NOD2, que reconoce moléculas que contienen muramil dipéptido, presente en la pared celular de algunas bacterias (Keller et al. 2011).

Con el avance de la caries, los genes pro-inflamatorios del odontoblasto se sobre-expresan (up-regulation), mientras que la pulpa permanece sin cambios. La expresión de las interleuquinas, quimioquinas y la de todos los receptores testados en los odontoblastos de dientes con caries se incrementa entorno a 100 veces en 35 de los 84 genes estudiados (Horst et al. 2011). Los odontoblastos, de esta manera, actuarían amplificando las señales bacterianas mediante auto-feedback del ciclo señal-receptor citoquina-quimioquina, y con

señales de convergencia a través del IL1R1 (receptor de IL-1), y otros, para incrementar la capacidad defensiva pulpar, incluyendo la producción de péptidos antimicrobianos para proteger el diente y contener la batalla contra las bacterias cariosas a nivel de la dentina. Así, por ejemplo, se ha demostrado que los odontoblastos expresan de forma constitutiva la  $\alpha$ -defensina-1 (BD-1), un péptido antimicrobiano implicado en la resistencia de las superficies epiteliales a la colonización bacteriana (Dommisch et al. 2005).

El ácido lipoteicoico (LTA) del *Bacillus subtilis* estimula al odontoblasto a través de un receptor Toll-like (TLR2) induciendo la liberación de quimioquinas (CCL2 y CXCL2) que atraen células dendríticas inmaduras (DCs) y estimulan la angiogénesis (CXCL2) (Durand et al. 2006).

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un potente inductor de la angiogénesis y de la permeabilidad vascular, habiéndose demostrado que es producido por los odontoblastos pulpares cuando son expuestos al ácido lipoteicoico (LTA) de las bacterias Gram-positivas (Telles et al. 2003). EL VEGF tiene una capacidad de aumentar la permeabilidad vascular 50.000 veces mayor que la de la histamina (Shulman et al. 1996), por lo que su incremento rápido puede provocar un aumento agudo de la presión intersticial pulpar y, en un espacio inextensible, provocar el colapso circulatorio y la necrosis pulpar. Los ultrasonidos de baja frecuencia promueven la expresión del VEGF en cultivos de odontoblastos (Scheven et al. 2009).

Los odontoblastos también expresan leptina (Ide et al. 2011), una proteína sintetizada y liberada principalmente por el tejido adiposo. Los niveles circulantes de leptina reflejan directamente la cantidad de energía almacenada en el tejido adiposo, siendo, por tanto, más elevados en las personas obesas. La leptina interacciona con un receptor específico en el hipotálamo regulando así la sensación de hambre. En estos últimos años, diversos grupos de investigación, entre ellos el dirigido por el catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Sevilla, el prof. Víctor Sánchez-Margalet, han demostrado que la leptina también tiene otros efectos sistémicos, aparte de los relacionados con la homeostasis de la energía, incluyendo la regulación neuroendocrina, reproductiva, hematopoyética y de la respuesta inmune tanto innata como adquirida (Fernández Riejos et al. 2010). En experimentos realizados por nuestro grupo de investigación en la Universidad de Sevilla, en colaboración con el del prof. Sánchez-Margalet, hemos encontrado que la pulpa dental humana, así como el tejido periapical, expresa tanto la proteína leptina como su RNAm, y que los niveles de leptina en pulpa se incrementan cuando se desarrolla la inflamación pulpar (Martín-González et al. 2013, Martín-González et al. 2015). Igualmente, hemos descrito la expresión del receptor de leptina (LEPR) en pulpa humana sana y su sobre-expresión en la pulpa inflamada experimentalmente mediante apertura cameral y traumatismo mecánico (Martín-González et al. 2013b). Por último, se acaban de publicar los resultados en los que demostramos que el receptor de leptina se expresa en granulomas periapicales humanos (Martín-González et al. 2014) y en los odontoblastos de pulpa dental humana (Martín-González et al. 2015b). Del mismo modo, hemos demostrado que la leptina incrementa los niveles de sialofosfoproteína dentinaria (DSPP) en la pulpa dental humana (Martín-González et al. 2015b) y, teniendo en cuenta que la DSPP es una proteína característica de los odontoblastos que está implicada en la dentinogénesis, este resultado sugiere que la leptina, interaccionando con su receptor específico en el odontoblasto, puede jugar un papel en la respuesta defensiva y reparativa pulpar. Asimismo, podría considerarse una nueva evidencia de la relación entre la obesidad, la inflamación y las infecciones orales.

Por último, se ha demostrado que el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) es secretado por los odontoblastos en pulpas sanas, incrementándose su expresión en la pulpitis irreversible (Piattelli et al. 2004). El TGF- $\beta$  es importante en la dentinogénesis reparativa, pues promueve la secreción de metaloproteinasas de la matriz y la mineralización de la dentina (Lucchini et al. 2002). El TGF- $\beta$  tiene un efecto pro-inflamatorio durante las etapas iniciales de la inflamación, reclutando células dendríticas inmaduras (DCs) que se acumulan bajo el estrato odontoblástico (Farges et al. 2002). Por el contrario, en las etapas avanzadas de la inflamación el TGF- $\beta$  muestra efectos anti-inflamatorios, reprimiendo la proliferación linfocítica, a través de TLRs, y activando las DCs y los macrófagos (Li et al. 2005). La expresión del gen del TGF- $\beta$  disminuye (down-regulation) cuando el odontoblasto es expuesto al LTA (Durand et al. 2006). Todos estos hallazgos nos obligan, hoy día, a ver al odontoblasto como una célula defensiva e inmune clave en la respuesta pulpar frente a la caries.

### **c) Los neuropéptidos y la inflamación neurogénica**

El tercer mecanismo efector implicado en la respuesta innata pulpar frente a la caries lo constituyen los neuropéptidos y la inflamación neurogénica. Los neuropéptidos son pequeños péptidos producidos y liberados por las neuronas que pueden actuar como neurotransmisores o como hormonas con acción paracrina. En la pulpa dental humana sana, los neuropéptidos sintetizados en los cuerpos de las neuronas del plexo subodontoblástico de Raschkow, son liberados en la pulpa actuando sobre los vasos sanguíneos, las células pulpares y las neuronas nociceptivas.

Los neuropéptidos pulpares interactúan con receptores específicos acoplados a proteínas G, con vías de señalización que implican a segundos mensajeros específicos (Pozo et al. 2000). En la pulpa dental humana se detectan grandes concentraciones de péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), así como sustancia P (SP) y neuroquinina A (NKA) (Awawdeh et al. 2002), estando las arteriolas pulpares muy innervadas por fibras peptidérgicas que liberan CGRP y SP (Rodd & Boissonade 2003) (Tabla 2). Cuando un estímulo agresivo estimula la reacción inflamatoria pulpar, se incrementa la innervación pulpar y la concentración de neuropéptidos (Awawdeh et al. 2002, Bowles et al. 2003).

Se denomina "inflamación neurogénica" al desencadenamiento o potenciación de la inflamación pulpar consecutiva a la liberación de neuropéptidos en las terminaciones nerviosas del plexo subodontoblástico. La inflamación neurogénica juega un papel muy importante en la patofisiología de la inflamación pulpar (Caviedes-Bucheli et al. 2008), radicando su base molecular y celular en la interconexión entre los mediadores inflamatorios de origen plasmático, celular y nervioso. Es un mecanismo de retro-alimentación positiva de la inflamación pulpar (Fig. 4).

Cada uno de los neuropéptidos pulpares juega un papel diferente en la inflamación neurogénica. La expresión de CGRP, SP y NKA, liberados por las neuronas de las fibras C pulpares provenientes del ganglio del trigémino, así como la de neuropéptido Y (NPY), liberado por las neuronas de las fibras simpáticas pulpares que provienen del ganglio cervical superior, están significativamente elevadas en la pulpa inflamada comparada con la pulpa sana. Por el contrario, la expresión del péptido intestinal vasoactivo (VIP), liberado por las terminaciones parasimpáticas pulpares, no se incrementa durante la inflamación pulpar (Caviedes-Bucheli et al. 2006).

Tabla 2. Efectos biológicos de los neuropéptidos pulpares

Origen	Neuropéptido	Efectos Biológicos
Soma de las fibras C (Ganglio de Gasser)	CGRP	Principal mediador de la vasodilatación neurogénica arteriolar, quimiotaxis de neutrófilos y monocitos, inhibe la reabsorción ósea, proliferación de fibroblastos, secreción de IL-8 e IL-10, recluta células dendríticas inmaduras(DCs) en la pulpa inflamada, inhibe la migración de las DCs maduras. Se sobre-expresa en la pulpa inflamada.
	SP	Incrementa la permeabilidad de las vénulas postcapilares, quimiotaxis de células T, aumenta la producción de IL-2, IL-12 e IFN- $\gamma$ , e induce la producción de IL-8 por las células pulpares. Se sobre expresa en la pulpa inflamada.
	NKA	Incrementa la permeabilidad de las vénulas postcapilares. Se sobre-expresa en la pulpa inflamada.
Fibras parasimpáticas	VIP	Vasodilatación, función nociceptiva (dolor), inhibe los linfocitos citotóxicos, quimiotaxis de leucocitos, recluta células dendríticas inmaduras (DCs) en la pulpa inflamada, inhibe la migración de las DCs maduras, estimula la producción de inmuno-globulinas, aumenta la producción de IL-12 y CD83. No se sobre-expresa en la pulpa inflamada.
Fibras simpáticas (Ganglio cervical superior)	NPY	Vasoconstricción. Se sobre-expresa en la pulpa inflamada.

CGRP, péptido relacionado con el gen de la calcitonina; NKA, neurokinina A; NPY, neuropéptido Y; SP, sustancia P; VIP, péptido intestinal vasoactivo (Segura-Egea et al. 2014).

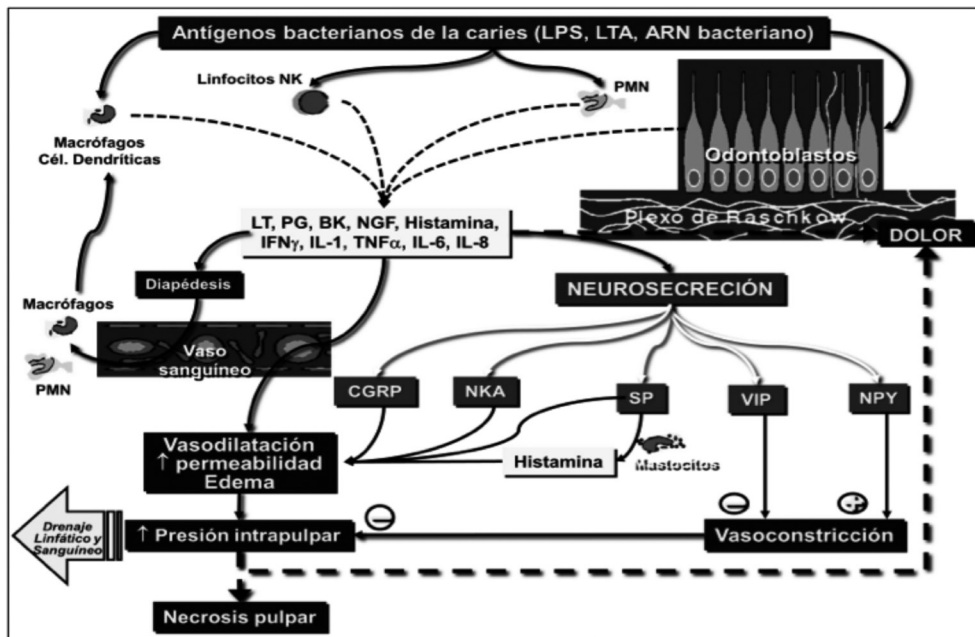


Figura 4. Inflamación neurogénica pulpar. Los antígenos bacterianos de la caries estimulan la respuesta inmune innata pulpar, con liberación por las células efectoras de mediadores de la inflamación (LT, PG, IL-1, TNF $\alpha$ , histamina, NGF), lo que provoca extravasación de plasma y edema, con aumento de la presión intrapulpar. Además, estos mediadores estimulan las fibras nerviosas aferentes pulpares, con aparición de

**dolor y estimulación de la neurosecreción, liberándose VIP, CGRP, SP..., que tienen diferentes efectos vasculares e inmunológicos que a su vez inducen la liberación de histamina, potenciación el proceso inflamatorio.**

El CGRP es el principal mediador de la vasodilatación neurogénica arteriolar, y la SP y la NKA son los principales mediadores del incremento de la permeabilidad de las vénulas postcapilares (Holzer 1998). El resultado final de la inflamación neurogénica es un incremento transitorio de la presión intersticial intrapulpar (Heyeraas et al. 1994) y flujo hacia el exterior del fluido dentinario (Vongsavan & Matthews 1992). En el caso de una pulpa sana, el exceso de líquido intersticial provocado por una inflamación neurogénica transitoria puede ser absorbido por el sistema vascular y linfático a través de los mecanismos preventivos del edema (Heyeraas 1989). Pero si la pulpa no es capaz de controlar el incremento de presión tisular, los niveles elevados de neuropéptidos y el edema persistente pueden contribuir al dolor y a la necrosis (Tonder 1983). La localización de fibras nerviosas en el interior de los túbulos dentinarios y su papel en el flujo exterior del fluido dentinario durante la inflamación neurogénica, hace que el componente neural sea una parte importante de la respuesta inicial vascular frente a la caries (Byers & Narhi 1999). Los neuropéptidos pulpares también tienen efectos directos sobre las células que participan en la respuesta inmune, por lo que se ha sugerido que existe un eje neuro-inmuno-endocrino a nivel pulpar (Segura-Egea et al. 1996, Segura-Egea et al. 1997).

En la pulpa inflamada los niveles de CGRP y SP están elevados (Awawdeh et al. 2002, Bowles et al. 2003, Caviedes-Bucheli et al. 2004) y el número de fibras nerviosas inmuno-reactivas para CGRP, SP, VIP y NPY en el cuerno pulpar subyacente a la lesión de caries se incrementa de forma significativa con el avance de la caries (Rodd & Boissonade 2002). La SP es quimiotáctica para las células T y aumenta la producción de IL-2 y de interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) inducida por antígenos y mitógenos (Hahn & Liewehr 2007b). La SP también aumenta la producción de interleuquina-12 (IL-12) por las células presentadoras de antígeno (APCs) e induce la producción de IL-8 por las células pulpares ((Hahn & Liewehr 2007b). El CGRP y el VIP reclutan células dendríticas (DCs) inmaduras en la pulpa inflamada hacia el sitio donde se está produciendo la inflamación aguda, e inhiben la migración de las DCs maduras a los ganglios linfáticos regionales (Dunzendorfer et al. 2001). El VIP es también capaz de inducir la maduración de las DCs inmaduras, aumentando la la producción de IL-12 y CD83 (Delneste et al. 1999).

#### **d) Las células efectoras de la inmunidad inespecífica en la pulpa dental**

Entre los mecanismos efectores de la inmunidad innata pulpar hemos de incluir, en cuarto lugar, neutrófilos, monocito-macrófagos y linfocitos innatos inespecíficos, incluyendo las células NK (asesinas naturales, natural killer), que en la pulpa dental, como en la mayoría de los tejidos, son las células efectoras de la inmunidad inespecífica. En el caso concreto de la pulpa dental, además de las anteriores, también pueden considerarse células efectoras de la respuesta inmune innata frente a la caries los linfocitos T y las células dendríticas inmaduras (CDs) (Hahn & Liewehr 2007b).

Se puede decir que los neutrófilos y los macrófagos son las células fagocíticas "profesionales" en la respuesta inmune innata. Sin embargo, en las regiones de la pulpa dental subyacentes a las lesiones superficiales de caries, se observan pocos neutrófilos, por lo que no parecen jugar un papel importante en las pulpitis reversibles (Hahn & Liewehr 2007b).

Los macrófagos tisulares derivan de los monocitos circulantes que se diferencian en macrófagos o histiocitos. Los macrófagos son células efectoras de la inmunidad innata y

expresan receptores reconocedores de patrones (PRR) para numerosas moléculas bacterianas: receptor para el LPS y para el ácido lipoteicoico (CD14), receptores C11b/CD18, receptores para manosas y receptor para glúcidos, entre otros. Los macrófagos también expresan receptores para neuropéptidos (Segura-Egea et al. 1991), estando algunos de ellos acoplados a la adenilato-ciclasa (Segura-Egea et al. 1992a) a través de proteínas G (Segura-Egea et al. 1992b).

Los macrófagos activados eliminan las bacterias y participan tanto en la respuesta inmune innata como en la adaptativa (Abbas & Lichtman 2003), participando también en la homeostasis tisular al eliminar las células viejas y remodelar y reparar los tejidos tras la inflamación. El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), potente inductor de la angiogenesis y de la permeabilidad vascular, es secretado por los macrófagos cuando se exponen al LTA (Telles et al. 2003). Además, el número de macrófagos pulpares se incrementa conforme la caries avanza, siendo siempre mayor que el número de DCs en todas las etapas de la invasión cariosa (Kamal et al. 1997). Así pues, los macrófagos se activan en las etapas precoces de la pulpitis para proteger a la pulpa, incrementando la permeabilidad vascular y removiendo los antígenos y los tejidos dañados (Hahn & Liewehr 2007b). Algunos neuropéptidos pueden modular la función fagocítica macrofágica (Segura-Egea et al. 1993), habiéndose demostrado que diferentes sustancias y materiales utilizados en endodoncia pueden también alterar la función macrofágica (Segura-Egea et al. 1999a, Segura-Egea et al. 1999b).

Por lo que a las células NK se refiere, se ha demostrado que pueden también extravasarse mediante diapédesis desde la circulación hacia el tejido inflamado al responder a determinados factores quimiotácticos o quimioquinas (Maghazachi 2005). Las células NK y las células dendríticas (DCs) inmaduras expresan receptores similares para las quimioquinas y ambas pueden atraerse mutuamente también mediante quimioquinas (Walzer et al. 2005), por lo que ambos tipos celulares se co-localizan en los tejidos inflamados, interaccionando y activando de forma recíproca la producción de citoquinas (Kikuchi et al. 2005). Las células NK son una fuente precoz e importante de IFN- $\gamma$ , por lo que la presencia de células NK en la pulpa dental podría explicar el aumento de RNAm del IFN- $\gamma$  en el tejido pulpar bajo las lesiones de caries superficial (Hahn et al. 2000).

Dada la abundancia de *S. mutans* en las lesiones precoces de caries, sus antígenos son de los primeros en ser procesados por las células defensivas pulpares, DCs y macrófagos. Posiblemente la respuesta inflamatoria pulpar inicial frente a la caries es una reacción inmune de tipo I frente a *S. mutans* mediada por células NK, en la que se producen las citoquinas IFN- $\gamma$  e IL-12 (Hahn & Liewehr 2007b). De hecho, se ha observado que el *S. mutans* induce in vitro la diferenciación de los monocitos en DCs maduras, por lo que podría contribuir a la maduración local de las DCs en la pulpa inflamada (Hahn & Liewehr 2007b, Hahn et al. 2005).

Las células dendríticas (DCs) juegan un papel importante en la homeostasis tisular y en la inflamación y se las considera una parte de la fase innata de la respuesta pulpar frente a la caries (Hahn & Liewehr 2007b). En los tejidos periféricos están en un estado inmaduro (steady state) caracterizado por una gran capacidad de detección microbiana y de captura y procesamiento de antígenos. Tras el daño tisular, diferentes estímulos quimiotácticos, como los neuropéptidos CGRP y VIP, el factor activador de las plaquetas (PAF) y las quimioquinas CXC, inducen un rápido reclutamiento de DCs inmaduras hacia el lugar donde se produce la inflamación aguda (Mc Williams et al. 1994).

El origen de las DCs pulpares no está claro. En la mayoría de los tejidos sus precursores son células de la médula ósea o monocitos circulantes (Jeras et al. 2005). Los monocitos muestran la plasticidad necesaria para diferenciarse tanto en macrófagos como en DCs (Maus et al. 2006), y la mayoría de las DCs pulpares expresan marcadores monocíticos (CD14, CD68), por lo que el origen común más probable tanto de los macrófagos como de las DCs pulpares estaría en los monocitos circulantes. Las DCs pulpares expresan antígenos HLA-DR de la clase II y se localizan en la región odontoblástica/predentina a nivel para-odontoblástico y perivascular, donde pueden realizar su función de inmuno-vigilancia y captura de los antígenos entrantes (Ohshima et al. 1999). En la pulpa dental, se ha observado un rápido acúmulo de DCs bajo las cavidades operatorias (Ohshima et al. 2003) y bajo las lesiones de caries (Kamal et al. 1997, Sakurai et al. 1999). Tras el reconocimiento de los productos bacterianos mediante sus receptores de membrana, las DCs inmaduras migran hacia los nódulos linfáticos secundarios para presentar los antígenos a los linfocitos T ya como DCs maduras. Los factores que inducen la maduración de las DCs inmaduras pulpares y promueven su fenotipo pro-inflamatorio incluyen la estimulación de receptores Toll-like por el LPS y el LTA, el ligando CD40 (CD40L) y las citoquinas inflamatorias. Las DCs maduras liberan altas concentraciones de citoquinas pro-inflamatorias, como la IL-12, IL-1 y el TNF- $\alpha$  (Lutz & Schuler 2002), y quimioquinas (CCL2, 3, 5 y CXCL9, 10, 11), que mantienen el reclutamiento de DCs inmaduras, de sus precursores monocíticos y de células T hacia los tejidos inflamados (Lebre et al. 2005).

Las DCs no sólo tienen un papel en la respuesta inmune pulpar, sino que también están implicadas en la diferenciación y regeneración de los odontoblastos. Existe una proximidad espacial entre el estrato odontoblástico, las DCs y las fibras nerviosas de la predentina (Okiji et al. 1997), así como una relación dinámica entre las DCs pulpares y la diferenciación de dentinoblastos (células con capacidad de formación de dentina similares a los odontoblastos) tras el daño pulpar (Ohshima et al. 2003). El número de DCs y de fibras nerviosas pulpares se incrementa conjuntamente conforme la lesión de caries se hace más profunda (Sakurai et al. 1999), probablemente por el efecto quimiotáctico de los neuropéptidos liberados (Duzendorfer et al. 2001).

Por último, las células T también podrían jugar un papel en la inmunidad innata a nivel pulpar. Las funciones de las células T CD8+ son básicamente dos: 1) eliminar las células transformadas o infectadas por virus induciendo su apoptosis o mediante la producción de perforina, y 2) producir IFN- $\gamma$  para estimular la fagocitosis. Los linfocitos T predominantes en la pulpa dental son los CD8+ (células T de memoria) (Izumi et al. 1995, Sakurai et al. 1999) sin que estén claras sus funciones en la pulpa normal.

#### **e) Las citoquinas innatas**

El quinto mecanismo efector de la respuesta innata pulpar lo conforman las citoquinas innatas. Las células inmunes innatas liberan una gran variedad de citoquinas: el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), las interleuquinas IL-1, IL-6, IL-12 e IL-18, y el interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) (Abbas & Lichtman 2003). El TNF- $\alpha$  y la IL-1 estimulan la extravasación, por diapédesis, de las células fagocíticas (polinucleares y monocitos) en las zonas inflamadas. Las interleuquinas IL-12 e IL-18 estimulan la liberación de IFN- $\gamma$  por las células NK y por los linfocitos T CD8+, dirigiendo la subsiguiente respuesta celular inmune adaptativa hacia una reacción tipo 1 (Trinchieri 1995, Barbulescu et al. 1998). El IFN- $\gamma$  no sólo activa a los fagocitos y a las células presentadoras de antígeno (APCs), sino que también incrementa algunas

de las acciones del TNF- $\alpha$  sobre las células endoteliales, concretamente la adhesión de las células T y su diapédesis hacia los lugares de infección (Doherty et al. 1992).

La IL-6 juega un papel destacado en la respuesta inmune innata, estimulando la síntesis y liberación de las proteínas reactantes de la fase aguda y la formación de neutrófilos a partir de sus progenitores en la médula ósea (Hahn & Liewehr 2007b). La liberación de IL-6 es estimulada por los antígenos bacterianos, la IL-1 y el TNF- $\alpha$ . En pulpa normal asintomática se ha detectado la expresión en pequeñas cantidades del RNAm de otras muchas interleuquinas (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-10, IL-18, y del IFN- $\gamma$ ) (Hahn et al. 2000, Zehnder et al. 2003).

#### **f) Las quimioquinas o factores quimiotácticos**

Un grupo especial de citoquinas, las quimioquinas o factores quimiotácticos, pueden considerarse un mecanismo efector bien diferenciado en la respuesta inmune innata de la pulpa frente a la caries. Las quimioquinas no solo son producidas por las células del sistema inmune innato pulpar (macrófagos y células dendríticas). Los fibroblastos y los odontoblastos también liberan quimioquinas. Se ha demostrado que los odontoblastos de la pulpa normal sana expresan de forma constitutiva 17 genes relacionados con las vías de las quimioquinas, entre ellos los CCL2/MCP-1, CXCL12/SDF-1a/b (factor derivado de las células del estroma) y CXCL14/BRAK (quimioquinas de mama y riñón) que actúan reclutando DCs inmaduras y monocitos (Durand et al. 2006). Los odontoblastos también producen IL-8/CXCL834, una quimioquina inflamatoria que atrae neutrófilos a la zona inflamada.

La función primordial de las quimioquinas es la quimiotaxis de los neutrófilos, monocitos y células dendríticas inmaduras, atrayéndolos hacia el lugar donde se produce la agresión bacteriana. A nivel de la pulpa dental sana parece existir un mecanismo de direccionamiento (homing) para las DCs inmaduras que hace que éstas se dirijan hacia la pulpa cuando se produce la invasión bacteriana. Algunas quimioquinas, como la CXCL13, también atraen a los linfocitos T hacia el foco inflamatorio, facilitando la presentación de los antígenos a las células T por las CPAs pulpareas (Potsch et al. 1999). Los linfocitos T no específicos para el antígeno en cuestión vuelven a través de los vasos linfáticos a la circulación general.

#### **g) Factores humorales**

El último mecanismo efector inespecífico frente a la caries al que nos vamos a referir lo constituyen los factores humorales. En la respuesta inmune innata inespecífica de la pulpa participan una gran cantidad de factores humorales: el sistema del complemento, la proteína C reactiva, la lisozima y los interferones, entre otros (Gallart & Vives 1992, Roitt et al. 1998). La activación del sistema del complemento puede seguir 2 vías, la clásica y la alternativa, produciéndose una reacción en cascada con efectos diversos: opsonización (C3b), quimiotaxis de fagocitos (C5a, C3a), aumento del flujo sanguíneo y lesiones celulares. Los interferones intervienen en las infecciones víricas, habiéndose descrito la expresión del gen del IFN- $\gamma$  en pulpa dental humana (Cardoso et al. 2010). El papel de los virus en la patología pulpar y periapical no es bien conocido (Hernández-Vigueras et al. 2014). Si bien se han encontrado virus en tejido pulpar inflamado, en concreto el virus varicela-zoster (Li et al. 2009), estudios llevados a cabo con la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), no han detectado la presencia de virus en la pulpa inflamada (Rosaline et al. 2009).

## **CONCLUSIONES**

Para ir terminando, como conclusión de lo dicho hasta ahora, podemos decir que la respuesta inmune innata de la pulpa frente a las bacterias de la caries se inicia cuando las



células efectoras (monocito-macrófagos, células dendríticas inmaduras, células NK, células T y los propios odontoblastos) reconocen a través de los receptores Toll-like, los patrones moleculares inespecíficos presentes en las bacterias, como lo son el ácido lipoteicoico, el lipopolisacárico capsular y el ARN bacteriano. Como consecuencia de ellos, la pulpa dental pone en funcionamiento una serie de mecanismos efectoras: cambios en la permeabilidad dentinaria y en la presión del fluido dentinario; liberación de los neuropéptidos pulpares (CGRP, SP, NKA, NPY, VIP) y activación de la inflamación neurogénica; liberación de citoquinas innatas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , INF- $\gamma$ ), de factores quimiotácticos (CXCL12, CXCL13) y de los factores humorales. En esta respuesta juega un papel clave el odontoblasto, habiéndose demostrado que expresa quimioquinas (CXCL2, CXCL8), receptores de quimioquinas (CXCR2, CCRL1) y receptores TLR2 y TLR4 sensibles a los antígenos bacterianos.

Si la respuesta inmune innata pulpar consigue eliminar la mayoría de los antígenos que llegan a la pulpa, la inflamación puede ser reversible. Por el contrario, si la infección persiste termina activándose la respuesta inmune adaptativa específica, que incrementa la inflamación y aumenta el edema y la presión intrapulpar, lo que en una cavidad inextensible como lo es la cavidad pulpar, acaba por producir un daño irreversible a la pulpa, causando la necrosis pulpar.

Los avances en el conocimiento de los mecanismos implicados en la defensa de la pulpa dental frente a las bacterias de la caries, permitirán planificar estrategias terapéuticas conservadoras así como tratamientos médicos y operatorios precoces, que consigan mantener la vitalidad de la pulpa incluso en casos de lesiones de caries profundas. Con certeza, en un futuro no muy lejano, estos nuevos conocimientos significarán un cambio en la práctica clínica odontológica diaria, en especial en la práctica clínica de la endodoncia.

He dicho.



## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas A, Lichtman A. *Cellular and molecular immunology*, 5th ed. Philadelphia: Saunders, 2003.
- Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG. *Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth*. *Int Endod J* 2002;35:30-6.
- Barbulescu K, Becker C, Schlaak JF, Schmitt E, Meyer zum Buschenfelde KH, Neurath MF. *IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN- $\gamma$  promoter in primary CD4 T lymphocytes*. *J Immunol* 1998; 160:3642-7.
- Bergenholtz G. *Evidence for bacterial causation of adverse pulpal responses in resin-based dental restorations*. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:467-80.
- Botero TM, Son JS, Vodopyanov D, Hasegawa M, Shelburne CE, Nör JE. *MAPK signaling is required for LPS-induced VEGF in pulp stem cells*. *J Dent Res* 2010;89:264-9.
- Bowles WR, Withrow JC, Lepinski AM, Hargreaves KM. *Tissue levels of immunoreactive substance P are increased in patients with irreversible pulpitis*. *J Endod* 2003;29:265-77.
- Brown LR, Lefkowitz W. *Influences of dentinal fluids on experimental caries*. *J Dent Res* 1966;45:1493-8.
- Byers MR, Narhi MV. *Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions*. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:4-39.
- Cardoso FP, Viana MB, Sobrinho AP, Diniz MG, Brito JA, Gomes CC, et al. *Methylation pattern of the IFN- $\gamma$  gene in human dental pulp*. *J Endod* 2010;36:642-6.
- Caviedes-Bucheli J, Camargo-Beltran C, Gomez-la-Rotta AM, Moreno SC, Abello GC, Gonzalez-Escobar JM. *Expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in irreversible acute pulpitis*. *J Endod* 2004;30:201-4.
- Caviedes-Bucheli J, Lombana N, Azuero-Holguín MM, Muñoz HR. *Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp*. *Int Endod J* 2006; 39:394-400.
- Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Holguín MM, Ulate E. *Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists*. *J Endod* 2008; 34:773-88.
- Chhour KL, Nädkarni MA, Byun R, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. *Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries*. *J Clin Microbiol* 2005;43:843-9.
- Delneste Y, Herbault N, Galea B, et al. *Vasoactive intestinal peptide synergizes with TNF- $\alpha$  in inducing human dendritic cell maturation*. *J Immunol* 1999;163:3071-5.
- Doherty GM, Lange JR, Langstein HN, Alexander HR, Buresh CM, Norton JA. *Evidence for IFN- $\gamma$  as a mediator of the lethality of endotoxin and tumor necrosis factor- $\alpha$* . *J Immunol* 1992; 149:1666-70.
- Dommisch H, Winter J, Acil Y, Dunsche A, Tiemann M, Jepsen S. *Human  $\beta$ -defensin (hBD-1, -2) expression in dental pulp*. *Oral Microbiol Immunol* 2005;20:163-6.
- Dunzendorfer S, Kaser A, Meierhofer C, Tilg H, Wiedermann CJ. *Cutting edge: peripheral neuropeptides attract immature and arrest mature blood-derived dendritic cells*. *J Immunol* 2001;166:2167-72.
- Durand SH, Flacher V, Romeas A, et al. *Lipoteichoic acid increases TLR and functional chemokine expression while reducing dentin formation in in vitro differentiated human odontoblasts*. *J Immunol* 2006;176:2880-7.

- Farges JC, Carrouel F, Keller JF, Baudouin C, Msika P, Bleicher F, et al. *Cytokine production by human odontoblast-like cells upon Toll-like receptor-2 engagement*. Immunobiology 2011;216:513-7.
- Farges JC, Romeas A, Melin M, Pin JJ, Lebecque S, Lucchini M, et al. *TGF- $\beta$ 1 induces accumulation of dendritic cells in the odontoblast layer*. J Dent Res 2003;82:652-6.
- Fernández Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J, Martín-Romero C, Pérez-Pérez A, González-Yanes C, Sánchez-Margalet V. *Role of leptin in the activation of immune cells*. Med Inflamm 2010:568343.
- Gallart T, Vives J. *Órganos y células del sistema inmunitario*. En: Rozman C, ed. Medicina interna. 12.ª ed. Barcelona: Doyma 1992, p. 2593.
- Ginsburg I. *Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation*. Lancet Infect Dis 2002;2:171-9.
- Hahn CL, Falkler WA Jr, Minah GE. *Microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis*. Arch Oral Biol 1991;36:147-53.
- Hahn CL, Best AM, Tew JG. *Cytokine induction by Streptococcus mutans and pulpal pathogenesis*. Infect Immun 2000;68:6785-9.
- Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG. *Endocarditis-associated oral streptococci promote rapid differentiation of monocytes into mature dendritic cells*. Infect Immun 2005;73:5015-21.
- Hahn CL, Best AM. *The pulpal origin of immunoglobulins in dentin beneath caries: an immunohistochemical study*. J Endod 2006;32:178-82.
- Hahn Ch-L, Liewehr FR. *Relationships between caries bacteria, host responses, and clinical signs and symptoms of pulpitis*. J Endod 2007a;33:213-9.
- Hahn CL, Liewehr FR. *Innate immune responses of the dental pulp to caries*. J Endod 2007b;33:643-51.
- Henderson B, Wilson M. *Cytokine induction by bacteria: beyond lipopolysaccharide*. Cytokine 1996;8:269-82.
- Hernández-Vigueras S, Donoso Zuñiga M, Jané Salas E, Salazar Navarrete L, Segura-Egea JJ, Velasco Ortega E, López-López J. *Viruses in Endodontics: a review*. Int. J. Odontostomat 2014;8:211-214.
- Heyeraas KJ, Kim S, Raab WH, Byers MR, Liu M. *Effect of electrical tooth stimulation on blood flow, interstitial fluid pressure and substance P and CGRP-immunoreactive nerve fibers in the low compliant cat dental pulp*. Microvasc Res 1994;47:329-43.
- Heyeraas KJ. *Pulpal hemodynamics and interstitial fluid pressure: balance of transmicrovascular fluid transport*. J Endod 1989;15:468-72.
- Hirao K, Yumoto H, Takahashi K, Mukai K, Nakanishi T, Matsuo T. *Roles of TLR2, TLR4, NOD2, and NOD1 in pulp fibroblasts*. J Dent Res 2009;88:762-7.
- Hogg SD, Whiley RA, De Soet JJ. *Occurrence of lipoteichoic acid in oral streptococci*. Int J Syst Bacteriol 1997;47:62-6.
- Holzer P. *Neurogenic vasodilatation and plasma leakage in the skin*. Gen Pharmacol 1998;30:5-11.
- Horst OV, Tompkins KA, Coats SR, Braham PH, Darveau RP, Dale BA. *TGF- $\beta$ 1 Inhibits TLR-mediated odontoblast responses to oral bacteria*. J Dent Res 2009;88:333-38.
- Horst OV, Horst JA, Samudrala R, Dale BA. *Caries induced cytokine network in the odontoblast layer of human teeth*. BMC Immunology 2011; 12:9.

- Huang GT, Potente AP, Kim JW, Chugal N, Zhang X. *Increased interleukin-8 expression in inflamed human dental pulps*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1999; 88:214-20.
- Ide S, Tokuyama R, Davaadorj P, Shimosuzuma M, Kumasaka S, Tatehara S, et al. *Leptin and vascular endothelial growth factor regulate angiogenesis in tooth germs*. Histochem Cell Biol 2011;135:281-92.
- Izumi T, Kobayashi I, Okamura K, Sakai H. *Immunohistochemical study on the immunocompetent cells of the pulp in human non-carious and carious teeth*. Archs Oral Biol 1995;40:609-14.
- Jacques NA, Hardy L, Knox KW, Wicken AJ. *Effect of growth conditions on the formation of extracellular lipoteichoic acid by Streptococcus mutans BHT*. Infect Immun 1979;25:75-84.
- Jeras M, Bergant M, Repnik U. *In vitro preparation and functional assessment of human monocyte-derived dendritic cells-potential antigen-specific modulators of in vivo immune responses*. Transpl Immunol 2005;14:231-44.
- Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. *Immune defense mechanisms of the dental pulp*. Crit Rev Oral Biol Med 1998;9:179-200.
- Kamal AM, Okiji T, Kawashima N, Suda H. *Defense responses of dentin/pulp complex to experimentally induced caries in rat molars: an immunohistochemical study on kinetics of pulpal Ia antigen-expressing cells and macrophages*. J Endod 1997;23:115-20.
- Keller JF, Carrouel F, Staquet MJ, Kufer TA, Baudouin C, Msika P, et al. *Expression of NOD2 is increased in inflamed human dental pulps and lipoteichoic acid-stimulated odontoblast-like cells*. Innate Immun 2011; 17:29-34.
- Khabbaz MG, Anastasiadis PL, Sykaras SN. *Determination of endotoxins in caries: association with pulpal pain*. Int Endod J 2000;33:132-7.
- Kikuchi T, Hahn CL, Tanaka S, Barbour SE, Schenkein HA, Tew JG. *Dendritic cells stimulated with Actinobacillus actinomycetemcomitans elicit rapid gamma interferon responses by natural killer cells*. Infect Immun 2004;72:5089-96.
- Kleinberg I. *A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis*. Crit Rev Oral Biol Med 2002;13:108-25.
- Lebre MC, Burwell T, Vieira PL, Lora J, Coyle AJ, Kapsenberg ML, et al. *Differential expression of inflammatory chemokines by Th1- and Th2-cell promoting dendritic cells: a role for different mature dendritic cell populations in attracting appropriate effector cells to peripheral sites of inflammation*. Immunol Cell Biol 2005;83:525-35.
- Levin LG, Rudd A, Bletsø A, Reisner H. *Expression of IL-8 by cells of the odontoblast layer in vitro*. Eur J Oral Sci 1999;107:131-7.
- Li H, Chen V, Chen Y, Baumgartner JC, Machida CA. *Herpesviruses in endodontic pathoses: association of Epstein-Barr virus with irreversible pulpitis and apical periodontitis*. J Endod 2009;35:23-9.
- Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. *Transforming growth factor beta regulation of immune responses*. Annu Rev Immunol 2005;24:99-146.
- Love RM, McMillan MD, Jenkinson HF. *Invasion of dentinal tubules by oral streptococci is associated with collagen recognition mediated by the antigen I/II family of polypeptides*. Infect Immun 1997;65:5157-64.

Love RM, Jenkinson HF. *Invasion of dentinal tubules by oral bacteria*. Crit Rev Oral Biol Med 2002;13:171-83.

Lucchini M, Romeas A, Couble ML, Bleicher F, Magloire H, Farges JC. *TGF beta 1 signaling and stimulation of osteoadherin in human odontoblasts in vitro*. Connect Tissue Res 2002;43:345-53.

Lutz MB, Schuler G. *Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity?* Trends Immunol 2002;23:445-9.

Maghazachi AA. *Compartmentalization of human natural killer cells*. Mol Immunol 2005;42:523-9.

Maita E, Simpson MD, Tao L, Pashley DH. *Fluid and protein flux across the pulpodentine complex of the dog in vivo*. Arch Oral Biol 1991; 36:103-10.

Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. *The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization*. Trends Immunol 2004; 25:677-86.

Martín-González J, Carmona-Fernández A, Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. *Expression and immunohistochemical localization of leptin in human periapical granulomas*. Medicina Oral Patología Oral Cirugía Bucal 2015a, en prensa.

Martín-González J, Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Díaz-Parrado EM, De Miguel M, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. *Leptin promotes dentin sialophosphoprotein expression in human dental pulp*. J Endod 2015b, Jan 10. pii: S0099-2399(14)01142-X. doi: 10.1016/j.joen.2014.11.026.

Martín-González J, Sánchez-Jiménez F, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. *Leptin expression in healthy and inflamed human dental pulp*. Int Endod J 2013a; 46:442-8.

Martín-González J, Sánchez-Jiménez F, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Torres-Lagares D, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. *Leptin receptor is up-regulated in inflamed human dental pulp*. J Endod 2013b; 39:1567-71.

Martín-González J, Sánchez-Jiménez F, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. *Expression and immunohistochemical localization of leptin receptor in human periapical granuloma*. International Endodontic Journal 2014, Jul 31. doi: 10.1111/iej.12356.

Maus UA, Janzen S, Wall G, et al. *Resident alveolar macrophages are replaced by recruited monocytes in response to endotoxin-induced lung inflammation*. Am J Respir Cell Mol Biol 2006;35:227-35.

McLachlan JL, Sloan AJ, Smith AJ, Landini G, Cooper PR. *S100 and cytokine expression in caries*. Infect Immun 2004;72:4102-8.

McWilliam AS, Nelson D, Thomas JA, Holt PG. *Rapid dendritic cell recruitment is a hallmark of the acute inflammatory response at mucosal surfaces*. J Exp Med 1994;179:1331-6.

Moreno C, Sánchez-Ibarrola A. *Receptores tipo Toll: bases moleculares de la relación entre respuestas innatas y adaptativas del sistema inmunitario*. Rev Med Univ Navarra 2003;47: 29-33.

Murray PE, Smith AJ, Windsor LJ, Mjor IA. *Remaining dentine thickness and human pulp responses*. Int Endod J 2003;36:33-43.

Nadkarni MA, Simonian MR, Harty DW, Zoellner H, Jacques NA, Hunter N. *Lactobacilli are prominent in the initial stages of polymicrobial infection of dental pulp*. J Clin Microbiol 2010;48:1732-40.

- Nagaoka S, Miyazaki Y, Liu HJ, Iwamoto Y, Kitano M, Kawagoe M. *Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth*. J Endod 1995;21:70-3.
- Ohshima H, Maeda T, Takano Y. *The distribution and ultrastructure of class II MHC-positive cells in human dental pulp*. Cell Tissue Res 1999;295:151-8.
- Ohshima H, Nakakura-Ohshima K, Takeuchi K, Hoshino M, Takano Y, Maeda T. *Pulpal regeneration after cavity preparation, with special reference to close spatiorelationships between odontoblasts and immunocompetent cells*. Microsc Res Tech 2003;60:483-90.
- Okiji T, Jontell M, Belichenko P, Dahlgren U, Bergenholtz G, Dahlstrom A. *Structural and functional association between substance P- and calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves and accessory cells in the rat dental pulp*. J Dent Res 1997;76:1818-24.
- Pashley DH, Nelson R, Kepler EE. *The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability*. J Dent Res 1982;61:978-81.
- Petkovic V, Moghini C, Paoletti S, Uguccioni M, Gerber B. *Eotaxin-3/CCL26 is a natural antagonist for CC chemokine receptors 1 and 5. A human chemokine with a regulatory role*. J Biol Chem 2004;279:23357-63.
- Piattelli A, Rubini C, Fioroni M, Tripodi D, Strocchi R. *Transforming growth factorbeta 1 (TGF-beta 1) expression in normal healthy pulps and in those with irreversible pulpitis*. Int Endod J 2004;37:114-9.
- Potsch C, Vohringer D, Pircher H. *Distinct migration patterns of naive and effector CD8 T cells in the spleen: correlation with CCR7 receptor expression and chemokine reactivity*. Eur J Immunol 1999;29:3562-70.
- Pozo D, Segura-Egea JJ, Jiménez A, García A, Bettahi I, Calvo JM. *G-protein coupled receptors subunits identification in normal human dental pulp*. J Endod 2000;26:16-9.
- Reeves R, Stanley HR. *The relationship of bacterial penetration and pulpal pathosis in carious teeth*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1966;22:59-65.
- Rodd HD. *Boissonade FM Immunocytochemical investigation of neurovascular relationships in human tooth pulp*. J Anat 2003;202:195-203.
- Rodd HD, Boissonade FM. *Comparative immunohistochemical analysis of the peptidergic innervation of human primary and permanent tooth pulp*. Arch Oral Biol 2002;47:375-85.
- Roitt I, Brostoff J, Male D. *Inmunología*. 4.ª ed. Madrid: Harcourt Brace, 1998, pp. 1-7.
- Rolla G, Oppermann RV, Bowen WH, Ciardi JE, Knox KW. *High amounts of lipoteichoic acid in sucrose-induced plaque in vivo*. Caries Res 1980;14:235-8.
- Rosaline H, Satish ES, Kandaswamy D. *Detection of presence or absence of herpes simplex virus, Epstein Barr virus and human cytomegalovirus in infected pulp using a polymerase chain reaction*. Aust Endod J 2009;35:9-12.
- Sakurai K, Okiji T, Suda H. *Co-increase of nerve fibers and HLA-DR- and/or factor-XIIIa-expressing dendritic cells in dentinal caries-affected regions of the human dental pulp: an immunohistochemical study*. J Dent Res 1999; 78:1596-608.
- Scheven BA, Man J, Millard JL, Cooper PR, Lea SC, Walmsley AD, et al. *VEGF and odontoblast-like cells: stimulation by low frequency ultrasound*. Arch. Oral Biol. 2009;54:185-91.
- Segura-Egea JJ, Guerrero JM, Goberna R, Calvo JR. *Characterization of functional receptors for vasoactive intestinal peptide (VIP) in rat peritoneal macrophages*. Regul Pept 1991;33:133-43.
- Segura-Egea JJ, Guerrero JM, Goberna R, Calvo JR. *Stimulatory effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) on cyclic AMP production in rat peritoneal macrophages*. Regul. Pept. 1992a;37:195-203.

- Segura-Egea JJ, Guerrero JM, Goberna R, Calvo JR. *Guanine nucleotide regulation of VIP binding to rat peritoneal macrophage membranes*. Peptides 1992b;13:953-55.
- Segura-Egea JJ, Guerrero JM, López-González MA, Calvo JR. *Vasoactive intestinal peptide (VIP) inhibits substrate adherence capacity of rat peritoneal macrophages by a cyclic AMP-mediated mechanism*. Cell Adh Commun 1993;1:213-21.
- Segura-Egea JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Sampedro C, Jimenez A, Llamas R. *The disodium salt of EDTA inhibits the binding of vasoactive intestinal peptide to macrophage membranes: endodontic implications*. J Endod 1996;22:337-40.
- Segura-Egea JJ, Calvo JR, Guerrero JM, Jimenez-Planas A, Sampedro C. *EDTA inhibits in vitro substrate adherence capacity of macrophages: endodontic implications*. J Endod 1997;23:205-8.
- Segura-Egea JJ, Jiménez-Rubio A, Pulgar R, Olea N, Guerrero JM, Calvo JR. *In vitro effect of the resin component bisphenol A on macrophage adhesion to plastic surfaces*. J Endod 1999a;25:341-4.
- Segura-Egea JJ, Jiménez-Rubio A, Guerrero JM, Calvo JR. *Comparative effects of two endodontic irrigants, chlorhexidine digluconate and sodium hypochlorite, on macrophage adhesion to plastic surfaces*. J Endod 1999b; 25:243-6.
- Shellenberger TD, Wang M, Gujrati M, et al. *BRAK/CXCL14 is a potent inhibitor of angiogenesis and a chemotactic factor for immature dendritic cells*. Cancer Res 2004;64:8262-70.
- Shulman K, Rosen S, Tognazzi K, Manseau EJ, Brown LF. *Expression of vascular permeability factor (VPF/VEGF) is altered in many glomerular diseases*. J Am Soc Nephrol 1996;7:661-6.
- Stanley HR. *Design for a human pulp study*. I. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1968; 25:633-47.
- Telles PD, Hanks CT, Machado MA, Nor JE. *Lipoteichoic acid up-regulates VEGF expression in macrophages and pulp cells*. J Dent Res 2003;82:466 -70.
- Tonder KJ. *Vascular reactions in the dental pulp during inflammation*. Acta Odontol Scand 1983;41:247-56.
- Trinchieri G. *Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity*. Annu Rev Immunol 1995;13:251-76.
- Van Houte J. *Role of microorganisms in caries etiology*. J Dent Res 1994;73:672-81.
- Vongsavan N, Matthews B. *Changes in pulpal blood flow and in fluid flow through dentine produced by autonomic and sensory nerve stimulation in the cat*. Proc Finn Dent Soc 1992;88(Suppl 1):491-7.
- Walzer T, Dalod M, Robbins SH, Zitvogel L, Vivier E. *Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force"*. Blood 2005;106:2252-8.
- Warfvinge J, Dahlen G, Bergenholtz G. *Dental pulp response to bacterial cell wall material*. J Dent Res 1985;64:1046-50.
- Warren HS, Fitting C, Hoff E, Adib-Conquy M, Beasley-Topliffe L, Tesini B, et al. *Resilience to bacterial infection: difference between species could be due to proteins in serum*. J Infect. Dis. 2010;201: 223-32.
- Wijeyeweera RL, Kleinberg I. *Arginolytic and ureolytic activities of pure cultures of human oral bacteria and their effects on the pH response of salivary sediment and dental plaque in vitro*. Arch. Oral Biol. 1989;34:43-53.
- Zehnder M, Delaleu N, Du Y, Bickel M. *Cytokine gene expression—part of host defense in pulpitis*. Cytokine 2003;22:84-8.







DISCURSO DE CONTESTACIÓN DEL  
**Excmo. Dr. D. Antonio Bascones Martínez**

Excmo. Srs. Presidentes de la Real Academia Nacional de Farmacia,  
Excmo. Sr. Presidente del Consejo General de Odontólogos y Estomatólogos,  
Excmo. Sr. Secretario de la Comisión Gestora de la Academia  
de Ciencias Odontológicas de España,  
Excmo. Sras. y Sres. Académicos,  
Señoras y señores:

Nuevamente tomo la palabra, en este auditorio, para presentar al Prof. Juan José Segura, ilustre Catedrático de Patología y Terapéutica Dental de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla. Es para mí un grandísimo honor que me haya pedido que le haga la contestación a su discurso. Nada más que me hizo la solicitud acepté encantado por la inmensa admiración que le tengo.

### **CONSIDERACIONES HUMANAS Y TRAYECTORIA CIENTÍFICA**

No quiero separar ambos aspectos pues pienso que una labor científica debe tener su correlato en una persona de alto nivel pues, aunque no siempre se presenta, ambas características se complementan. Desde Jaén, donde nació, hasta Sevilla, donde ejerce, ha tenido un largo recorrido. Su tesis doctoral en Bioquímica tardó cierto tiempo en cristalizar dada la complejidad de los experimentos. En la Universidad de Huelva fue profesor asociado a tiempo completo compatibilizándolo con el de funcionario del cuerpo de Profesores de Enseñanza Secundaria en la especialidad de Tecnología Sanitaria. Más tarde, obtuvo la plaza de catedrático de Enseñanza Secundaria en la especialidad de Procedimientos Sanitarios. Años después, vendría la oposición de profesor titular de Estomatología y la de catedrático de Estomatología de la Universidad de Sevilla, donde actualmente ejerce. Es experto universitario en Probabilidad y Estadística y Máster en Implantología Oral. Tiene cuatro sexenios de investigación y ha dirigido 12 tesis doctorales. Es evaluador de revistas internacionales y presenta un alto número de trabajos de impacto. En la actualidad es vicedecano de Ordenación Académica e Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla. Es director del Máster de Endodoncia en esta facultad.

Es un profesor que ha recorrido todos los peldaños de la docencia desde su puesto de catedrático de Enseñanza Secundaria durante nueve años hasta que llegó al punto más alto de la docencia, el de catedrático de Universidad. Esta fue una de las razones que más me inclinó a aceptar la contestación y a apoyarle en lo que buenamente pudiera. Admiro mucho a todos aquellos que intentan ascender con el esfuerzo y el tesón. Hay pocas personas que pueden decir sin sonrojarse, que no les han regalado nada. Él es de esos.

Todo lo consiguió con el tesón del trabajo diario pues cómo dice Bertolt Brecht: "hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos. Pero hay los que luchan toda la vida, esos son los imprescindibles". Juan José pertenece a este último grupo. Bienvenido a casa.

Esta bienvenida tiene como objetivo, no sólo glosar la figura del que accede a ocupar un sillón en nuestra Academia, sino también presentarle ante nuestra comunidad, que todos le conozcáis y sepáis quién, a partir de ahora, será vuestro compañero de sillón.

Paulo Coelho decía que cuando todos los días resultan iguales es porque el hombre ha dejado de percibir las cosas buenas que surgen en su vida cada vez que el sol cruza el

cielo. Hoy para nosotros es un día especial, pues algo diferente ocurre, la entrada en nuestra Corporación de un hombre culto, inteligente y bueno, arquetipo de lo que debe ser un académico. La Academia se enriquece y nosotros lo hacemos al mismo tiempo con ella. Hay muchos de vosotros que no le conocéis, por eso me permito glosar sus cualidades humanas, científicas y académicas. Su vida es la docencia y la investigación. Cuando una persona de la talla del prof. Segura toma posesión de un sillón, algunos podían pensar que sus méritos no están a la altura de las circunstancias. Nada más equivocado. Por eso este trámite es necesario y, a fuer de sincero, obligado para que la comunidad científica conozca aquel que, día tras día, se sentará junto a él y debatirá problemas, aspectos, ideas. La asunción de la responsabilidad de presentarle en esta Academia es fruto de la enorme admiración que le profeso.

Nuestro hombre tiene un pensamiento crítico, adopta una actitud intelectual donde analiza, evalúa y estructura consistentemente sus razonamientos en aras de llegar a un pensamiento adecuado al contexto. Por lo tanto, no es proclive a la tautología, sino al hecho exacto y concreto. De ahí parte para examinar, estudiar las posibles soluciones y llegar a una conclusión con la mayor significación estadística. Ese es el juicio que desarrolla ante un problema, desmenuzándolo, detallándolo y analizándolo en todo su entorno para presentarlo de una manera clara y didáctica.

La excelencia de lo bien hecho, es algo que inspira satisfacción, que lleva a la contemplación de la obra, lo conseguido con esfuerzo ímprobo te estimula más, te espolea la ilusión. Hoy día no se valora la excelencia de las cosas y de las personas y, a veces, éstas se encuentran postergadas en ambientes en que la envidia, la ingratitud y el avasallamiento están a la orden. El trabajo es considerado por muchos como una bagatela y parece como si la mediocridad fuera vista con mejores ojos y aplaudida más. En ciertos puestos defendemos con más ahínco tener un mediocre que a un excelente. Yo, por el contrario, me siento muy satisfecho que un hombre de excelencia, un profesor de magnificencia científica y humana se encuentre entre nosotros. Ya le conoceréis, pero su dedicación será muy reconocida en esta Academia y a su trabajo, en ella, le auguro un gran éxito. La pátina del tiempo es inexorable y ella, como buen testigo, lo demostrará. Baltasar Gracián decía: "gran suerte es topa con hombres de su genio y de su ingenio; arte es saberlos buscar; conservarlos, mayor". Espero que nuestra Academia lo haga. Yo desde luego hace muchos años que lo hice.

El saber utiliza el substrato de los conocimientos pero no de una manera estática sino que los incorpora de una manera dinámica, analiza, interpreta, relaciona e integra en una red de pensamiento. El hombre que posee una buena carga de conocimientos recibe el nombre de erudito mientras que al que dispone de saberes se le debería llamar sabio.

El profesor universitario pasa por diferentes etapas. La primera se caracteriza por el conocimiento. El estudio, el esfuerzo y el trabajo personal le dotan de un caparazón intelectual protagonizado por los datos y la interpretación que aporta. En la segunda, la capacidad de estos datos disminuye dejando paso a la conceptualización reflexiva de los mismos. Ya no son, estos, tan importantes. La estrella la ocupa ahora el reposo de los mismos. En la tercera etapa, por fuerza la última, no es tanto el conocimiento y su conceptualización como el aporte de un proyecto diferente. Un pensamiento basado en la madurez moral de la persona. Si importante es la transmisión de saberes no es menos primordial, en ésta época de la vida, el esquema que puede tributar a sus alumnos basado en un ejemplo moral, en un enfrentamiento ético ante los problemas que se le presentan. El profesor debe tratar de trasladar a sus discípulos una respuesta honesta ante las distintas situaciones de

la vida. Debe difundir rayos de esperanza e ilusión ante el trabajo, ante la excelencia, ante el esfuerzo cimentado en una resolución moral. Es decir transmitir, además de los saberes, un proyecto moral. Un buen profesor universitario, un verdadero maestro, es aquel que es un buen posibilitador, un hacedor de ilusiones, de valores, de proyectos. En su boca y en su trayectoria siempre deben impregnar estas tres cualidades agavilladas en una sola: la entrega al que en el futuro será un miembro más de nuestra sociedad y que, con sus luces y sus sombras, aportará su pensamiento y su ejemplo en la búsqueda de la felicidad, de la paz y el desarrollo de la humanidad en un contexto de valores morales hoy tan olvidados. Estamos, pues, ante la persona indicada. El Prof. Juan José goza de todo esto y de algo más.

## COMENTARIOS A SU DISCURSO

El tema elegido "Respuesta inmune innata de la pulpa dental frente a la caries: el papel del odontoblasto" es de gran actualidad en el campo de la investigación. Señala el autor, con gran precisión, que "para que se produzca la respuesta inflamatoria pulpar no es necesario que las bacterias alcancen físicamente la pulpa. Por el contrario, existen evidencias experimentales que demuestran que antígenos bacterianos y/o subproductos metabólicos pueden difundir a través de los túbulos dentinarios y provocar respuestas inmunes en la pulpa dental" lo que viene a demostrar la importancia del proceso inmunopatológico. La presencia de las bacterias, y la boca es rica en ellas, significa la capacidad de las mismas en producir ácidos con lo que se fermentan los hidratos de carbono, ingeridos en la dieta facilitando la caída del pH del esmalte y la posterior disociación en calcio y fosfato con lo que se presenta la desmineralización de los tejidos dentales. Este es el proceso básico etiopatogénico.

Los liposacáridos se encuentran en las bacterias anaerobias Gram-negativas. Cuando este se libera de la membrana de la bacteria es cuando se inicia el mecanismo inmunológico con la consiguiente liberación que induce la liberación de citoquinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-8 (IL-8), interleuquina-12 (IL-12), etc.

El prof. Segura desarrolla con gran acierto las distintas células que intervienen en el proceso. Comenta, con gran precisión, la presencia de los neutrófilos, los monocitos-macrófagos, y los linfocitos innatos inespecíficos, los macrófagos tisulares que derivan de los monocitos circulantes y que se van a diferenciar en macrófagos o histiocitos y que son células efectoras de la inmunidad innata, las células NK, las células dendríticas y las células T también ocupan su atención en el discurso. No en vano, este proceso de la inflamación pulpar es parecido al que se presenta en la periodontitis y en la liberación de la cascada proinflamatoria que desencadena los signos y síntomas de la enfermedad, así como sus consecuencias a distancia. Un foco en la cavidad bucal puede provocar una bacteriemia, y consecuencias impredecibles en el sistema cardiocirculatorio, accidentes cerebrovasculares, problemas renales, etc. Ningun área del organismo escapa a estas influencias inmunopatológicas.

Concluye nuestro nuevo Académico en que la pulpa dental está preparada para luchar contra la entrada de las bacterias de la caries a través de una respuesta innata e inespecífica. Si el éxito acompaña a esta lucha la consecuencia es la reversibilidad del proceso, pero si las bacterias se anclan en los túbulos dentinarios la infección persiste y al encontrarse la pulpa en una cavidad inextensible, con inflamación y edema, se presenta la pulpitis reversible en un principio e irreversible finalmente.

Termino ya. Ante nosotros desde el punto de vista humano, el Dr. Segura es una persona que emprende todas sus acciones con ilusión, perseverancia y trabajo. Fruto de ello es el Máster de Endodoncia, que ha creado hace pocos años, que goza de gran prestigio y que cada vez encuentra más alumnos que quieran especializarse con él. Es una fortuna para ellos tenerle como profesor y como ejemplo. Es alguien imprescindible en la vida universitaria y académica y me honro de presentarle ante ustedes.

Querido Juan José te deseo larga vida en esta Academia. Tu trabajo es necesario para todos nosotros. Desde esta tribuna te envío un fuerte abrazo.

Muchas gracias.











