



## Efecto del ácido lipoteicoico sobre la expresión de genes en cardiomiocitos de ratón (H9c2)

### *Effect of lipoteichoic acid on gene expression in mice (H9c2) cardiomyocyte*

Ilayali Adam Bustamante,\* Gloria Gutiérrez-Venegas,<sup>§</sup> Amalia Ballesteros Vizcarra<sup>||</sup>

#### RESUMEN

La mayoría de las enfermedades de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares guardan relación con microorganismos. Los peptidoglucanos y el ácido lipoteicoico son dos de los principales componentes de las bacterias Gram positivas que tienen actividades relacionadas con el desarrollo de sepsis. Tras la invasión microbiana de estos tejidos, el huésped responde con defensas tanto inflamatorias inespecíficas como inmunológicas específicas. El tratamiento endodóncico quirúrgico y no quirúrgico son en esencia, procedimientos de desbridamiento destinados a destruir y eliminar el ecosistema microbiano, asociado con el proceso patológico. Es importante que los clínicos comprendan la íntima relación entre presencia de microorganismos y enfermedad endodóncica, con el fin de diseñar un tratamiento racional y efectivo; sobre todo en aquellos individuos susceptibles a Endocarditis Infecciosa. En el presente estudio se investigó la expresión de TNF $\alpha$ , IL-1 y COX-2 por efecto del ácido lipoteicoico (ALT) de *Streptococcus sanguinis* caracterizando las señales intracelulares involucradas en cardiomiocitos H9c2. La línea celular fue tratada con ALT a diferentes concentraciones durante 30 minutos. Comparadas con los controles, las respuestas al tratamiento con ALT fueron dependientes de la dosis y mediante un análisis de One Step RT-PCR (Invitrogen) se evaluó dicha expresión; la cual se asemeja a la respuesta fisiológica del organismo durante un episodio de Endocarditis infecciosa y a la agudización durante un procedimiento endodóncico.

**Palabras clave:** Ácido lipoteicoico, cardiomiocitos H9c2, *Streptococcus sanguinis*, RT-PCR.

**Key words:** Lipoteichoic acid, H9c2 cardiomyocytes, *Streptococcus sanguinis*, RT-PCR.

#### ABSTRACT

Most dental pulp diseases and diseases of tissues surrounding the root are somehow related to micro-organisms. Peptidoglycans and lipoteichoic acid are two of the main Gram-positive bacteria components with activities related to sepsis development. When tissues sustain microbial invasion the host responds with both unspecific inflammatory defenses and specific immunological reactions. Surgical and non surgical endodontic treatments are essentially debridement procedures intended to destroy and eliminate the microbial eco-system associated to the pathological process. It is essential for clinicians to understand the intimate relationship existing between micro-organisms and endodontic disease, so as to be able to tailor a rational and effective treatment especially in subjects susceptible to infective endocarditis processes. In the present study research was conducted on TNF $\alpha$ , IL-1 COX-2 expression through the effect of lipoteichoic acid (LTA) of *Streptococcus sanguinis* by characterizing intra-cellular signals involved in H9c2<sup>®</sup> cardiomyocytes. The cell line was treated with LTA at different concentrations during 30 minutes. When compared to control group, responses to LTA treatment were dependent on dosage. That expression was assessed by means of a One Step RT-PCR (Invitrogen) analysis. It was noted that the afore mentioned expression resembled the organisms's physiological response during an infective endocarditis episode and to exacerbation observed during an endodontic procedure.

#### INTRODUCCIÓN

El concepto tradicional que explica el proceso bacteriano en seres humanos, sugiere que las enfermedades son producidas como resultado de la invasión de microorganismos dañinos, los cuales luchan contra las defensas del huésped y desencadenan mecanismos que liberan anticuerpos y células inmunes. El impacto de este enfoque genera la predisposición a investigar aquellos microorganismos más peligrosos que pueden causar los daños más severos en el huésped.<sup>1</sup>

Las infecciones de los conductos radiculares tienen una naturaleza distinta de la caries y la periodontitis debido a que se han establecido originalmente en

compartimentos estériles de la cavidad oral. En muchos casos, esto conduce a la idea de que la etiología de las infecciones de los conductos radiculares implica sólo un único patógeno. Recientemente, la presencia frecuente de *Enterococcus faecalis* en los conductos

\* Alumna de la especialidad de Endodoncia, FO UNAM.

<sup>§</sup> Tutor. Directora del Laboratorio de Bioquímica, DEPel de la FO, UNAM.

<sup>||</sup> Asesora. Profesora de la especialidad de Endodoncia de la DE-Pel de la FO, UNAM.

radiculares asociados a infecciones persistentes, trae como consecuencia el interés en la investigación de esta bacteria; que ha llegado a ser el organismo ideal para probar distintos irrigantes, medicamentos y soluciones antisépticas usadas *in vitro* en endodoncia, con hallazgos que revelan su capacidad de resistencia innata. Sin embargo, el gran enfoque que se le ha dado a *E. faecalis* ha resultado en que exista mucho menos información sobre la existencia de otros organismos en estas infecciones que pueden tener características similares de tolerancia que *E. faecalis* y que revelarían la existencia de comunidades polimicrobianas persistentes.<sup>2</sup>

Las infecciones polimicrobianas se extienden desde el conducto radicular hacia los tejidos perirradiculares contiguos. Los abscesos endodóncicos son infecciones mixtas, en cada una de las cuales se cultivan varias cepas bacterianas. Durante el tratamiento de conductos, pueden existir exacerbaciones agudas de la enfermedad perirradicular tras la iniciación o continuación del tratamiento de conductos, variando su incidencia desde el 1.4% hasta casi el 45%.<sup>1</sup>

El ALT es un componente único de la pared celular de las bacterias Gram-positivas, es un polímero de glicerol-fosfato que contiene azúcar y dos grupos acilo, estos últimos le confieren la propiedad de anclarse en la membrana celular. Una forma no acetilada del ALT es el ácido teicoico, que está unido covalentemente al peptidoglucano de la pared celular de las bacterias Gram-positivas.<sup>3,4</sup>

Como posibles funciones del ácido lipoteicoico se ha propuesto que regula la función de las autolisinas. Otra característica de ALT es su naturaleza polianiónica que le permite tener un papel clave en el mantenimiento del balance catión – divalente sobre la superficie celular, posiblemente a través de la pared celular, mediante una interacción de cambio iónico. Un posible papel que comparte con lipoglicanos, es que participan como mediadores de interacciones célula – célula, célula – sustrato, y la consecuente virulencia de las bacterias.<sup>4,5</sup>

El ácido lipoteicoico también se ha identificado como el responsable de la hidrofobicidad de la superficie de los *Streptococcus* del grupo A, en los cuales participa en la adherencia de la bacteria a la fibronectina en la superficie de células endoteliales, así como a la adherencia de los *Staphylococcus saprophyticus* a las células uroepiteliales, en *Staphylococcus epidermidis* a los coágulos de fibrina – plaquetas y en *Staphylococcus aureus* con las células de mucosas y epiteliales.

En fechas recientes, se ha comprobado que el ALT comparte muchas propiedades fisiopatológicas con el lipopolisacárido y que actúa como un potente agonista

con propiedades antiinflamatorias además de jugar un papel clave en el choque séptico.<sup>5,6</sup>

El ALT se sintetiza en grandes cantidades cuando por bacterias cariogénicas encuentran disponible como fuente carbonada a la sacarosa. ALT está anclado por fuerzas hidrofóbicas a la membrana de las bacterias Gram-positivas tales como los estreptococos. Cuando las bacterias se dividen o disminuyen el pH, el ALT es exportado a la matriz extracelular en donde induce la expresión de citocinas pro-inflamatorias.<sup>5</sup> En estudios *in vitro* se demostró que los monocitos expresan interleucina 1  $\beta$  (IL-1  $\beta$ ), interleucina -6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF  $\alpha$ ) en respuesta al tratamiento con ALT.<sup>7-9</sup>

El término endocarditis infecciosa se prefiere al de bacteriana puesto que esta enfermedad puede estar causada por diversos microorganismos. Durante los últimos años, se ha producido un cambio importante en lo que respecta al tipo de pacientes afectados. Antes, la endocarditis infecciosa afectaba sobre todo a pacientes con cardiopatía congénita o valvulopatía reumática.

En la actualidad se ha elevado de forma marcada la edad media de los pacientes, y no suele haber historia previa de cardiopatía. Por el contrario, los cambios valvulares degenerativos desempeñan un papel importante en los pacientes ancianos.

Actualmente, es importante considerar también las causas iatrogénicas de la endocarditis infecciosa. Las infecciones dentales y gingivales, de los tractos respiratorio y urinario y las cutáneas siguen siendo las más importantes.

Las infecciones de los tejidos orales que ocasionan enfermedades como periodontitis y abscesos periapicales, permiten la entrada y diseminación de una mezcla de patógenos orales y bacterias comensales por la vía de la circulación sanguínea. Estas bacteriemias polimicrobianas pueden ocurrir espontáneamente durante actividades inocentes como la higiene oral rutinaria, o pueden ser resultado de procedimientos dentales invasivos. Una vez en la sangre, incluso los microorganismos que son inofensivos en la cavidad oral pueden comportarse como patógenos e infectar las válvulas cardíacas susceptibles.<sup>10</sup>

## MÉTODOS

La población de estudio fue la línea celular H9c2 (ATCC: CLR-1446TM) de cardiomiocitos de ratón. Se colocaron aproximadamente 1,000 células en cada pozo.

Criterios de inclusión: cardiomiocitos de ratón, células en forma ahusada con núcleo central grande y oval. Criterios de exclusión: cardiomiocitos de ratón. Si el

medio y las células estuvieran contaminados. Criterios de eliminación: cardiomiocitos de ratón. Confluentes.

### VARIABLES

- Dependiente:  $TNF\alpha$ , IL-1 y COX-2. Definidas por la presencia de bandas que corresponden a los siguientes pesos moleculares de las siguientes proteínas: IL-1: 275 pares de bases (pb), COX-2: 309 pb y  $TNF\alpha$ : 500pb.
- La presencia de bandas a las cuales se les midió su densidad óptica tomando como referencia el control; se observó por medio de la cámara de luz ultravioleta. Independiente: ácido lipoteicoico de *S. sanguinis* (1  $\mu\text{g/mL}$ ).
- Tratamiento de las células: Se realizó la estimulación de los cardiomiocitos a diferentes concentraciones con ALT de *S. sanguinis*.

### ENSAYO RT-PCR

RNA total (1 mg) se sometió de forma inversa (RT) usando el equipo One Step RT-PCR (Invitrogen). La reacción de la polimerasa en cadena (PCR) se realizó utilizando los oligonucleótidos para COX-2 (5' a 3') TTC AAA TGA GAT TGT TTTAAA ATT GCT, COX-2 (5' a 3') AGA TCA TCT CTG CCT GAG TAT CTT,  $TNF\alpha$  (5' a 3').

ATT GGT CCC AAC AAG GAC GAT,  $TNF\alpha$  (5' a 3') GGA CTC CGT CAT GTC TAA GTC, IL-1 (5' a 3') GGC TGC AGT TCA GTG ATC GTA CAG G y IL-1 (5' a 3') AGA TCTAGA GTA CCT GAG CTC GCC AGT GAA. Las condiciones para el PCR incluyeron desnaturación a 94 °C por 1 minuto, alineamiento a 55 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C por 1.5 minutos.

La identidad del fragmento se caracterizó por su tamaño aparente en geles de azarosa teñidos con bromuro de etidio.

### ESTADÍSTICAS

Los experimentos se realizaron en tres ocasiones por separado y se digitalizaron las imágenes. Posteriormente se analizaron con el software LabWorks®. Los resultados se representaron como la media  $\pm$  error *Standard*.

### RESULTADOS

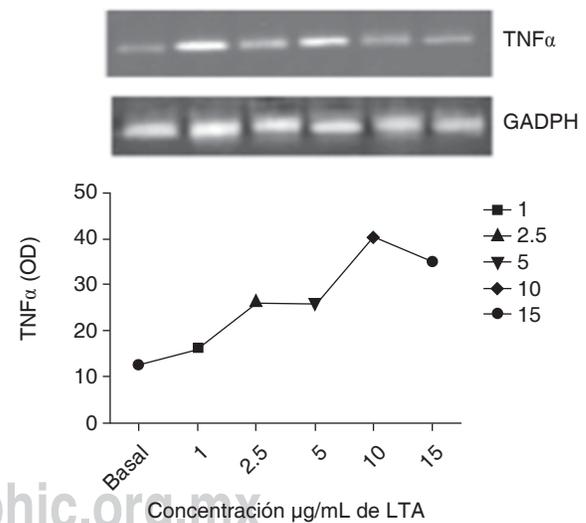
#### DOSIS RESPUESTA DE LA EXPRESIÓN DE $TNF\alpha$ EN CARDIOMIOCITOS DE RATÓN (H9C2) TRATADOS CON ÁCIDO LIPOTEICOICO

Los cardiomiocitos se trataron con ácido lipoteicoico a diferentes dosis. El análisis densitométrico de

RT-PCR reveló que la expresión de  $TNF\alpha$  es dependiente de la concentración de ácido lipoteicoico (Figura 1). El primer punto corresponde al basal, esto es, en donde no existe estimulación con ALT y por lo tanto, al no haber una respuesta inflamatoria a la toxina, no existe expresión de  $TNF\alpha$ . Esta última se observó desde la concentración más baja utilizada en el estudio (1  $\mu\text{g/mL}$ ); que cursó con un incremento gradual al aplicar 2.5 y 5  $\mu\text{g/mL}$  y aumentó significativamente al aplicar una dosis de 10  $\mu\text{g/mL}$  provocando los niveles más altos de expresión. En una dosis de 15  $\mu\text{g/mL}$  pudimos observar un decremento en la expresión de  $TNF\alpha$  que se tradujo en la saturación de receptores celulares. La expresión de  $TNF\alpha$  fue determinada por densidad óptica y analizada con el programa LabWorks®.

#### DOSIS RESPUESTA DE LA EXPRESIÓN DE IL-1 EN CARDIOMIOCITOS DE RATÓN (H9C2) TRATADOS CON ÁCIDO LIPOTEICOICO

Como se mencionó anteriormente, los cardiomiocitos se trataron con ácido lipoteicoico a diferentes dosis. El análisis densitométrico de RT-PCR reveló que la expresión de IL-1 es dependiente de la concentración de ácido lipoteicoico (Figura 2). Se produjo la



**Figura 1.** Dosis respuesta del efecto del ácido lipoteicoico sobre la expresión de  $TNF\alpha$  en cardiomiocitos. Las células H9c2 ( $1 \times 10^6$ ) se sembraron en cajas de 6 pozos y se incubaron durante toda la noche a 30 °C. Posteriormente las células se trataron con las dosis indicadas de ácido lipoteicoico y al término, las células se procesaron para la obtención de RNA, cuantificación y reacción de RT-PCR. Análisis densitométrico del gel obtenido. La imagen es un experimento representativo de tres ocasiones por separado.

expresión de IL-1 desde la aplicación de la dosis mínima de ALT (1  $\mu\text{g/mL}$ ) aumentando respectivamente la expresión a concentraciones mayores (2.5 y 5  $\mu\text{g/mL}$ ). Nuevamente se logró el nivel máximo de expresión a una dosis de 10  $\mu\text{g/mL}$  y una disminución de la misma cuando se aumentó la dosis a 15  $\mu\text{g/mL}$ . Esto nos sugiere que la dosis más tóxica es la de 10  $\mu\text{g/mL}$  y la saturación de receptores celulares se dio con 15  $\mu\text{g/mL}$ .

La expresión de IL-1 se determinó por densidad óptica y se analizó con el programa LabWorks®.

### DOSIS RESPUESTA DE LA EXPRESIÓN DE COX-2 EN CARDIOMIOCITOS DE RATÓN (H9C2) TRATADOS CON ÁCIDO LIPOTEICOICO

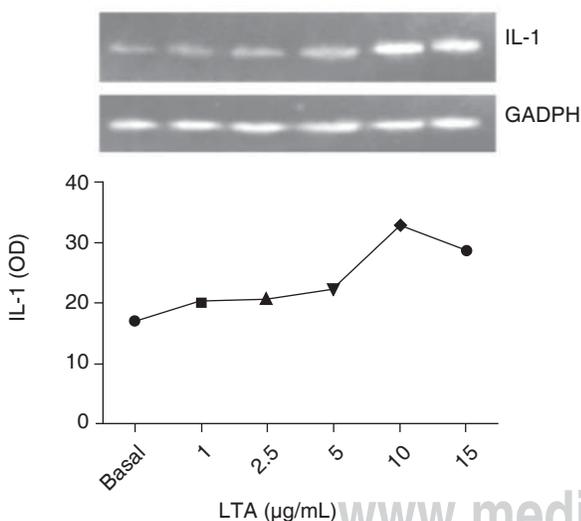
Las células H9c2 fueron tratadas con ácido lipoteicoico a diferentes dosis. El análisis densitométrico de RT-PCR reveló que al igual que los otros genes, la expresión de COX-2 fue dependiente de la concentración de ácido lipoteicoico (Figura 3). No se observó expresión en el basal. Existió expresión de COX-2 desde la aplicación de la dosis mínima de ALT (1  $\mu\text{g/mL}$ ). Se produjo un aumento gradual a concentraciones mayores (2.5 y 5  $\mu\text{g/mL}$ ) y nuevamente se logró la expresión máxima a una dosis de 10  $\mu\text{g/mL}$ . Al aumentar la dosis

a 15  $\mu\text{g/mL}$  existió un decremento en la expresión de COX-2 y tal como sucedió con los otros genes estudiados, no existió disponibilidad de receptores y por lo tanto la expresión se vio disminuida; así que a pesar de que se aumentara la dosis de ALT la expresión máxima se logró a la dosis más tóxica (10  $\mu\text{g/mL}$ ). La expresión de COX-2 fue determinada por densidad óptica y analizada con el programa LabWorks®.

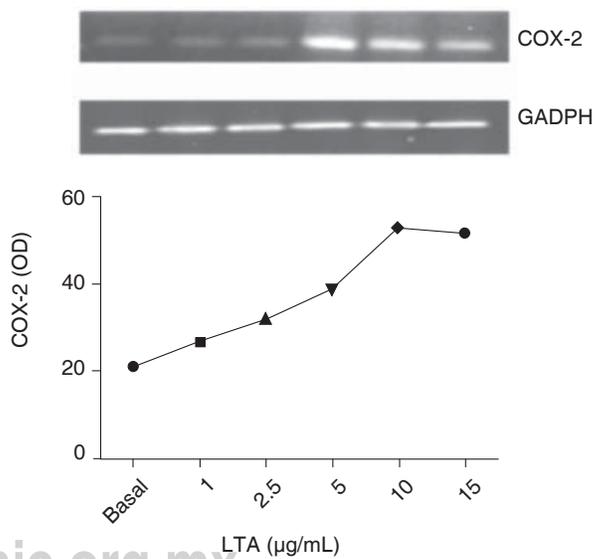
### DISCUSIÓN

El papel fundamental de los microorganismos en la etiopatogenia de las patologías pulpares y periapicales está claramente establecido desde mediados del siglo XX, cuando fue demostrado por los estudios de Kakehashi, Moller y Sundqvist que la presencia de bacterias dentro de los conductos radiculares era determinante para el desarrollo de las lesiones endodóncicas.<sup>2</sup>

La caries dental es la principal vía de entrada de microorganismos a los conductos radiculares y está principalmente asociada a microorganismos Gram positivos que poseen el ácido lipoteicoico como principal agente patogénico.<sup>11,12</sup> Una vez que los microor-



**Figura 2.** Dosis respuesta del efecto del ácido lipoteicoico sobre la expresión de IL-1 en cardiomiocitos. Las células H9c2 ( $1 \times 10^6$ ) se sembraron en cajas de 6 pozos y se incubaron durante toda la noche a 30 °C. Posteriormente las células se trataron con las dosis indicadas de ácido lipoteicoico y al término, las células se procesaron para la obtención de RNA, cuantificación y reacción de RT-PCR. Análisis densitométrico del gel obtenido. La imagen es un experimento representativo de tres ocasiones por separado.



**Figura 3.** Dosis respuesta del efecto del ácido lipoteicoico sobre la expresión de COX-2 en cardiomiocitos. Las células H9c2 ( $1 \times 10^6$ ) se sembraron en cajas de 6 pozos y se incubaron durante toda la noche a 30 °C. De igual manera que en los experimentos anteriores, las células fueron tratadas con las dosis indicadas de ácido lipoteicoico y al término, las células se procesaron para la obtención de RNA, cuantificación y reacción de RT-PCR. Análisis densitométrico del gel obtenido. La imagen es un experimento representativo de tres ocasiones por separado.

ganismos cariogénicos desmineralizan el esmalte o el cemento, invaden los túbulos dentinarios y son identificados por las primeras células reconocedoras de antígenos: las células dendríticas, que se encuentran asociadas a la capa odontoblástica y se desencadena una respuesta inflamatoria en los tejidos pulpaes; que de no eliminarse el agente causal, evoluciona hasta llegar a la necrosis del tejido pulpar e iniciar las patologías periapicales.<sup>2,12,13</sup>

Estudios previos han demostrado que el ALT al igual que el LPS, son potentes inductores de citocinas inflamatorias y otros factores involucrados en la respuesta inflamatoria y en la destrucción tisular; de hecho el LPS es reconocido como uno de los estímulos más potentes para inducir la formación de citocinas, mediadores químicos de la inflamación y metaloproteinasas en macrófagos, monocitos, células del ligamento periodontal y fibroblastos gingivales humanos.<sup>14</sup>

Sin embargo, en cuanto al ALT hay poca información, siendo el ALT el equivalente del LPS en bacterias Gram positivas y siendo éstas las primeras en colonizar la cavidad oral y establecerse en la placa dentobacteriana. De este modo, se le ha dado mayor énfasis al LPS, en el caso de las células pulpaes y odontoblastos.<sup>14</sup> Estudios previos han demostrado la inducción del factor de crecimiento endotelial vascular por LPS a través de los receptores TLR4 y CD14. No obstante, Telles<sup>15</sup> encontró que el ALT también es capaz de inducir VEGF en células pulpaes de ratón, a través de su receptor TLR2.

La mayoría de los microorganismos patógenos, así como su principal sustrato, la pulpa necrótica, pueden ser removidos durante los procedimientos endodóncicos; sin embargo, esto no siempre se logra completamente en la práctica clínica debido a las limitaciones que ofrece la compleja anatomía radicular, donde éstos pueden estar alojados en túbulos dentinarios, ramificaciones, deltas apicales, istmos, y de esta manera reestablecer la infección.<sup>16-18</sup>

Los microorganismos asociados a lesiones periapicales persistentes se caracterizan por limitarse a un pequeño número de especies microbianas (generalmente una sola especie), con predominio de microorganismos Gram positivos anaerobios facultativos.<sup>19-21</sup>

Tal es el caso de *Enterococcus faecalis*, coco Gram positivo que posee una pared celular con antígenos del grupo D (ácido lipoteicoico glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática); microorganismo preponderante en las infecciones endodóncicas persistentes, el cual gracias a sus características fenotípicas y microbiológicas particulares es capaz de sobrevivir en medios ambientes áridos con poca cantidad de oxígeno y nutrientes, así como también es

capaz de formar biopelículas entre microorganismos de su misma especie o con otros microorganismos y de sobrevivir frente a protocolos de irrigación, medicaciones intraconducto y materiales de obturación.<sup>22,23</sup>

La incidencia de bacteriemia es escasa en casos de tratamiento no quirúrgico del conducto radicular, pero los microorganismos pueden extenderse más allá del ápice radicular. Puesto que la endocarditis infecciosa es una enfermedad muy grave, los pacientes susceptibles deben recibir antibióticos, de acuerdo con las guías actuales de la Asociación Americana del Corazón, antes de los procedimientos odontológicos capaces de causar bacteriemia, en un intento de limpiar la circulación de bacterias que puedan establecerse en las válvulas cardíacas dañadas.<sup>2</sup> El porcentaje de bacteriemias reportadas provocadas por procedimientos odontológicos varía dependiendo del procedimiento; en cuanto a endodoncia va de un 9-32% al colocar aislamiento absoluto aunado a un > 20% al realizar un procedimiento endodóncico y esto sin contar con las variables de infección.<sup>24</sup>

Aunque la teoría de la infección focal, en lo que respecta a los dientes con pulpa sin vitalidad y a los sometidos a tratamiento endodóncico, ha sido desaprobada, está aumentando la evidencia de una relación real entre enfermedad oral y sistémica. Recientes estudios epidemiológicos y basados en casos, han demostrado una relación positiva entre periodontitis y enfermedades cardio y cerebrovasculares, así como el nacimiento de niños prematuros con peso bajo. En 1993, De Stefano et al comunicaron que los sujetos con periodontitis experimentaban un aumento del 25% del riesgo de enfermedad cardíaca coronaria, comparados con los individuos con una enfermedad periodontal mínima.<sup>2</sup>

Meyer y Taylor revelan que los mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 1 beta y las prostaglandinas juegan un papel importante en las enfermedades del corazón. Las toxinas bacterianas inician la expresión de IL1 $\beta$  que impide la fibrinólisis, pero facilita la coagulación y trombosis. Las enfermedades de las aortas son asociadas a la secreción de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estas citocinas mejoran la acumulación de colesterol y la proliferación del músculo liso que resulta presumiblemente en un adelgazamiento de las paredes vasculares. Así, la vía ALT que activa mediadores inflamatorios es implicada como un importante mecanismo en la patogénesis de las enfermedades del corazón y también de la aterosclerosis.<sup>25</sup>

Sabemos que la inflamación de la pulpa dental es similar a la de otros tejidos conectivos, mediada por factores celulares y moleculares. Unas de las principales moléculas involucradas en la respuesta inflamatoria son las prostaglandinas, como PGE2, PGF2a,

asociadas ampliamente al dolor pulpar, y a la destrucción tisular por regulación de citocinas y enzimas como las metaloproteinasas.<sup>14</sup>

Se han visto respuestas sistémicas en tratamientos de endodoncia resultantes de la penetración de las bacterias a los tejidos, así como bacteriemias transitorias. Además, se ha demostrado que la endotoxina de los microorganismos es capaz de penetrar a los tejidos periapicales y está presente en cantidades suficientes como para inducir una enfermedad como la endocarditis infecciosa. La evidencia soporta la premisa de que la enfermedad pulpar y periapical conduce a una exposición sistémica a las bacterias orales y así a un recurso potencial de mediadores inflamatorios sistémicos capaces de iniciar o empeorar condiciones asociadas a enfermedades cardíacas.<sup>24</sup>

Nosotros, en este estudio, quisimos caracterizar la expresión de TNF $\alpha$ , IL-1 y COX-2 en H9c2 tratadas con LTA, para esto obtuvimos un cultivo celular con células H9c2 en donde realizamos experimentos de tipo dosis-respuesta para caracterizar la inducción de los genes a través del RT-PCR.

Nuestros resultados mostraron que la expresión de TNF $\alpha$ , IL-1 y COX-2 se logra desde la aplicación de la dosis mínima (1  $\mu$ g/mL); sin embargo, encontramos una inducción más intensa al aplicar una dosis de 10  $\mu$ g/mL provocando los niveles más altos de expresión. Y a su vez, esta expresión comenzó a declinar con 15  $\mu$ g/mL probablemente debido a saturación de receptores celulares o muerte celular por toxicidad.

Los peptidoglicanos y el ácido lipoteicoico actúan como ligandos de los receptores TLR-2 y aunque ambos agentes inducen la expresión de moléculas proinflamatorias, se ha demostrado que estos ligandos producen respuestas biológicas diferentes. No se han esclarecido las bases moleculares que expliquen de qué forma los peptidoglicanos y el ácido lipoteicoico actúan de forma sinérgica, lo que permitiría determinar cuáles son los eventos en la señalización que conduce a falla de órganos y de esta forma proponer nuevas terapias para contrarrestar sus efectos. Deben realizarse más estudios que apoyen el papel del ácido lipoteicoico como un importante factor de virulencia.

## CONCLUSIONES

En el presente estudio, se encontró que el ácido lipoteicoico indujo la expresión genética de las células H9c2 de una manera dependiente de la dosis; el ácido lipoteicoico es considerado como el principal factor de virulencia de las bacterias Gram positivas; funciona como una molécula de adhesión que facilita la asociación de las bacterias a las células, la colonización y la invasión en tejidos.

A su vez, en esta investigación se demuestran las posibles consecuencias de una atención endodóncica deficiente que conlleve a la activación de procesos biológicos ocasionados por la interacción de los microorganismos con las células del huésped, y que no sólo den lugar a la evolución no favorable del tratamiento endodóncico, sino que se propicie el desarrollo de algún trastorno sistémico como la endocarditis infecciosa.

La AHA ha actualizado sus recomendaciones para la cobertura antibiótica profiláctica de los pacientes médicamente comprometidos. Estas guías no se basan en estudios clínicos controlados, sino en un análisis de artículos relevantes. Se ofrecen como ayuda a los clínicos y no como una norma de cuidado o sustituto del juicio clínico. Si existe cualquier duda sobre la necesidad de profilaxis antibiótica, el clínico debe solicitar una consulta con el médico del paciente.

Por otra parte, es importante desarrollar más estudios clínicos que permitan abatir la lisis bacteriana en el torrente sanguíneo e impedir la liberación de ALT y peptidoglicanos y con ello disminuir el riesgo de infecciones como la endocarditis infecciosa.

Quedan por responder muchas preguntas sobre el papel exacto de las bacterias orales en el comienzo y la progresión de los trastornos sistémicos. Se deberá aclarar si realmente existe una relación causa efecto entre enfermedad periodontal y sistémica, así como la relevancia de las infecciones de origen endodóncico para la enfermedad sistémica. Sin embargo, no existe evidencia científica de que las bacterias restantes en los túbulos dentinarios después de un tratamiento endodóncico correctamente realizado, actúen como focos de infección capaces de causar enfermedades sistémicas crónicas.

## REFERENCIAS

1. Chávez de Paz L. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *JOE*. 2007; 33 (6).
2. Burns RCS. *Vías de la pulpa*. 7a. ed. Harcourt. 1999.
3. Peña L. *Inmunología*. Manual Moderno. España. 1999.
4. Venegas G, Cardoso P. Ácido lipoteicoico: receptores y mecanismo de transducción. *REB*. 2006; 25: 002.
5. Seung HH, Je Hak K, Martin M, Michalek S, Nahm M. Pneumococcal lipoteichoic acid (LTA) is not as potent as staphylococcal LTA in stimulating toll like receptor 2. *Infection and Immunity*. 2003; 71: 10.
6. Guyton and Hall. *Manual del tratado de fisiología médica*. McGraw Hill Interamericana. México. 1999.
7. Swantek JL, Tsen MF, Cobb JA. IL-1 receptor associated kinase modulates host responsiveness to endotoxin. *J Immunol*. 2000; 164: 4301.
8. Woodcock EA, Matkovich SJ. Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005; 37.
9. Beshay NM, Zordoky OS. H9c2 cell line is a valuable *in vitro* model to study the drug metabolizing enzymes in the heart. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2007; 56.

10. Anderson R, Becker A. *El corazón. Estructura normal y patológica*. Mosby Doyma. México. 1994.
11. Weine F. *Tratamiento endodóncico*. 5a. ed. Madrid. España. Harcourt. 2000.
12. Hargreaves KM, Goodis HE. *Seltzer and Bender's dental pulp*. Quintessence Books. 2002.
13. Murray P, Smyth T et al. Analysis of pulpar reactions to restorative procedures, materials, pulp capping and future therapies. *Crit Rev Oral Bio Med*. 2002; 13 (6): 509-520.
14. Ontiveros AG, Gutiérrez G, Lazo MR. Efecto del lipopolisacárido (LPS) y el ácido lipoteicoico (LTA) sobre la ciclooxigenasa-2 (COX-2) en células pulpares humanas. *Revista Odontológica Mexicana*. 2008; 12 (4): 177-183.
15. Telles, P. Hanks, C. lipoteichoic acid up regulates VEGF expression in macrophages and pulp cells. *J Dent Res*. 2003; 82: 466-470.
16. Siren E, Haapasalo M, Ranta K, Salmi P, Kerosuo E. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J*. 1997; 30 (2): 91-95.
17. Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J*. 2001; 34: 1-10.
18. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1997; 30 (5): 297-306.
19. Chavez De Paz L, Dahlen G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J*. 2003; 36 (7): 500-508.
20. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. *J Endod*. 2000; 26 (10): 593-595.
21. Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*. 2001; 34 (6): 429-434.
22. Siqueira JF, Rocas I, Souto R, de Uzeda M, Colombo A. Actinomyces species, streptococci, and *Enterococcus faecalis* in primary root canal infections. *J Endod*. 2002; 28 (3): 168-172.
23. Rocas I, Siqueira J, Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004; 30: 315-20.
24. Wilson, Walter et al. Prevention of infective endocarditis. *Journal of American Heart Association*. 2007; 116: 1736-1754.
25. Meyer, D. Taylor, P. Oral Pathogens: from dental plaque to cardiac disease. *Current Opinion in Microbiology*. 1998; (1): 88-95.

Dirección para correspondencia:  
**Gloria Gutiérrez-Venegas**  
E-mail: gloria@fo.odonto.unam.mx