

ARTÍCULO ORIGINAL

LA CARIES Y SU RELACIÓN CON LOS RADICALES LIBRES DEL OXÍGENO EN NIÑOS DE EDAD ESCOLAR*

Marta Corvalán,¹ Asunción González,² Héctor Molina,³ María Abud⁴

RESUMEN. Corvalán M, González A, Molina H, Abud M. La caries y su relación con los radicales libres del oxígeno en niños de edad escolar. CES Odont 1996; 9: 115-117. Día a día aparecen más enfermedades relacionadas con los radicales libres del oxígeno y el metabolismo oxidativo. En la mayoría de los casos no se sabe si son causa o efecto de un proceso determinado, pero sigue siendo valioso saber qué moléculas pueden bloquear o prevenir las reacciones de iniciación de los radicales libres, actuando como antioxidantes, e interpretar dónde están localizadas y cuál es su mecanismo de acción, lo que permitiría revertir las lesiones citotóxicas encontradas en los seres humanos. En el presente trabajo, realizado con saliva total de 95 niños de una zona rural de la provincia de Mendoza (Argentina), los resultados obtenidos permiten confirmar que en los procesos cariosos existe un estrés radicalario, aparición de xantina-oxidasa que produce radicales libres y disminución de la superóxido-dismutasa que trata de frenarlos. Este estrés radicalario o desbalance oxidativo puede ser corregido por mecanismos endógenos de defensa (vitamina C, glutatión) y tratamiento adecuado de las caries.

Palabras claves: Caries dental, Radicales libres, Oxígeno, Niños.

ABSTRACT. Corvalán M, González A, Molina H, Abud M. Dental caries and its relationship to free oxygen radicals among schoolchildren. CES Odont 1996; 9:115-117. Many diseases have been related to free oxygen radicals and oxidative metabolism. Although, in most cases it is unknown if they are the cause or the result of the disease process, it is important to understand which molecules or enzymes may prevent or inhibit radical-initiated reactions. Therefore it becomes increasingly important to understand which molecules function as antioxidants, their possible location and mechanisms which could lead to the reversal of cytotoxic lesions in human beings. The results of this study, performed in 95 children from a rural area in the province of Mendoza (Argentina), show that a significant production of oxygen-free radicals is detected derived from xanthine-oxidase activity in the total saliva of children with cavities, as well as a decrease of superoxidase-dismutase activity without variation either in ascorbic acid or glutathione. Therefore, an oxidative stress that might be inhibited with dental treatment was found in dental caries.

Key words: Dental caries, Free radicals, Oxygen, Children.

INTRODUCCIÓN

La saliva de las glándulas mayores y menores constituye una de las secreciones más importantes del organismo, con un volumen diario aproximado de 1000 ml (adulto normal).

La interfase entre la saliva y los tejidos bucales es el sitio de muchas reacciones bioquímicas que afectan la integridad de los tejidos blandos y duros de la boca, no obstante ser la saliva uno de los principales sistemas de defensa natural de la cavidad oral; se puede afirmar que ella es la antítesis de una solución homogénea, siendo muy difícil preparar una mezcla más heterogénea.¹

Día a día se conocen los componentes de la saliva y la función que desempeña cada uno de ellos.² Pero hasta ahora poco se sabe sobre la influencia del metabolismo oxidativo en todas las bocas sanas o en los procesos cariosos, específicamente de los radicales libres del oxígeno (RLO): radical superóxido (O₂⁻), radical oxhidrilo (OH⁻), agua oxigenada (H₂O₂), etc.;³ así mismo es escaso el conocimiento sobre los mecanismos de defensa de que dispone la saliva total para eliminar o defenderse de los RLO, entre ellos el glutatión (GSH), el ácido ascórbico (vit C), la superóxido-dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), etc.⁴

Muchas enfermedades están involucradas en el metabolismo oxidativo; sin embargo, en la mayoría de los casos no se sabe si son causa o efecto del mismo. De allí que sea importante dilucidar si la saliva cuenta con moléculas efectivas que prevengan las reacciones citotóxicas de los metabolitos del oxígeno. Por consiguiente, es importante conocer cuáles compuestos pueden funcionar como antioxidantes, dónde están localizados y qué mecanismos de acción podrían tener.⁵

El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar en niños de edad escolar de una zona rural de Mendoza (Argentina), la existencia o no de RLO en la saliva total de bocas sanas y con caries y, además, establecer cómo se comportan los mecanismos de defensa en las dos situaciones, tratando de determinar valores de referencia de parámetros no convencionales, hasta ahora no estudiados y, finalmente, observar las variaciones bioquímicas en el metabolismo oxidativo, posteriores al tratamiento odontológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron al azar 13 niños con bocas sanas, 58 con bocas activas (caries) y 24 con caries controladas

*Estudio auspiciado por el Consejo de Investigaciones Científicas de la Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza (Argentina).

¹Licenciada en Farmacia y Bioquímica, Profesora Adjunta, Facultad de Odontología; ²Odontóloga, Profesora Titular, Facultad de Odontología;

³Doctor en Bioquímica, Profesor Titular, Facultad de Ciencias Médicas; ⁴Licenciada en Bioquímica, Jefe de Trabajos Prácticos, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza (Argentina).

(tratadas), que corresponden al grupo de los 58. Pertenecían a escuelas rurales de la provincia de Mendoza, con una edad entre seis y 14 años, y de distinto sexo.

Se obtuvieron muestras de saliva, después de haber estimulado su producción por medio de la masticación de "elastiquines". La saliva se recogió directamente en envases descartables y refrigerados entre 0°C y 4°C, previa filtración por gasa, para ser enviada a la Cátedra de Química Biológica de la Universidad Nacional de Cuyo. La recolección de las muestras se hizo entre las 11 y las 12 horas, después de una merienda y de un enjuague bucal.

En el proceso intervino el personal de la Cátedra de Odontología Preventiva y Sanitaria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Cuyo, con la participación de alumnos de los últimos años de la carrera y de docentes e investigadores de las Cátedras de Química Biológica de las Facultades de Odontología y de Medicina de la misma Universidad.

Aunque no existe, para niños, una clasificación específica de caries, puede decirse que los tejidos más afectados en ellos fueron el esmalte y la dentina, que evolucionaron en caries grandes, macro y micropenetrantes, siendo la preocupación principal la de tratar las piezas permanentes, especialmente los primeros molares.⁶ El tratamiento se hizo varias veces, hasta lograr bocas inactivas, seleccionando los niños que tenían menor número de caries. Como material provisional de obturación se empleó I.R.M. (mezcla de óxido de zinc con eugenol mejorado) y como material definitivo la amalgama de plata, empleándose uno u otro según criterio clínico.⁷

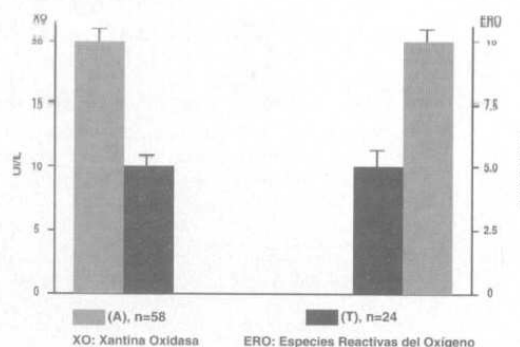
Las experiencias se evaluaron con técnicas universalmente aceptadas. Para la producción de RLO se utilizó la medición de la actividad de la xantina-oxidasa (XO),⁸ el contenido de las especies reactivas del oxígeno (ERO)⁹ y la probable peroxidación lipídica, dosificando el malonil dialdehído (MDA).¹⁰ Los mecanismos de defensa endógenos de la saliva total para contrarrestar los RLO se estudiaron por la dosificación de la glutatión-peroxidasa (GSHpx);¹¹ de (GSH);¹² Vit C;¹³ (CAT);¹⁴ (SOD);¹⁵ y el de antioxidantes totales (AOT).¹⁶ Todas las muestras fueron analizadas por duplicado por métodos espectrofotométricos.

RESULTADOS

Los datos obtenidos en las determinaciones bioquímicas se expresan como promedios ($\bar{x}$) (desviación estándar (DE)). Los mismos están incluidos en las figuras 1, 2 y 3, en las cuales se observan las variaciones en saliva total de bocas sanas (S), activas (A) y tratadas (T), recordando que se trataron 95 niños: (S), n=13; (A), n=58 y (T), n=24.

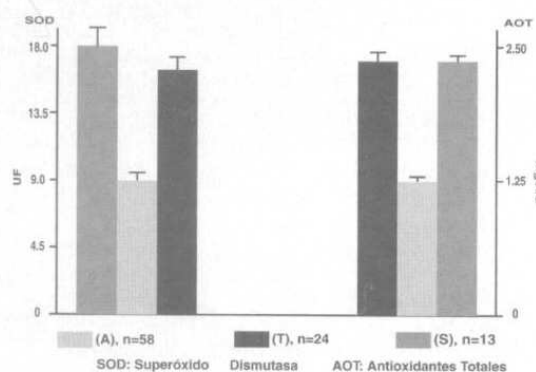
En la Fig. 1 se observa, respecto de la producción de los RLO, que tanto la XO como las ERO están ausentes en bocas S, aparecen en bocas A y disminuyen aproximadamente en un 50% en bocas T. El MDA está ausente en los tres tipos de bocas, confirmando que la saliva total carece de una proporción significativa de lípidos que puedan originarlo.¹⁰

Fig. 1. Producción de radicales libres de oxígeno en bocas activas y tratadas.



En la Fig. 2 se ve el comportamiento de los AOT y la SOD (que representan una medida de los mecanismos de defensa endógena); se determinan sus valores de referencia en bocas S, disminuyen paralelamente en bocas A y se recuperan casi en un 100% en bocas T.

Fig. 2. Mecanismos de defensa y poder antioxidante en bocas sanas, activas y tratadas.



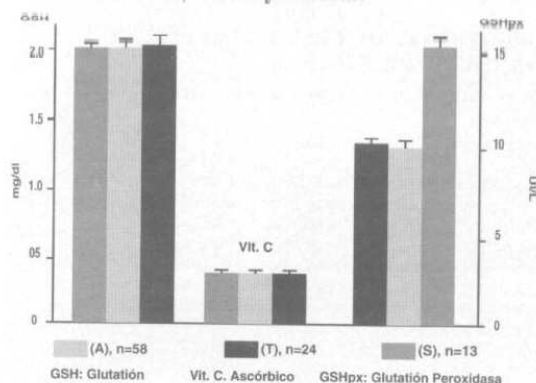
En la Fig. 3 se observa que las micromoléculas Vit C y GSH están presentes en bocas S y sus valores se mantienen similares en bocas A y T. También se aprecia que la GSHpx (enzima antioxidante) esté presente en la saliva total: sus valores disminuyen en la saliva de bocas A y no se recuperan después del tratamiento, respecto de los de referencia (S), asemejándose a los A.

Con la técnica utilizada no se encontró actividad de la enzima CAT en ningún caso, lo que hace suponer que su sustrato, H₂O₂, tiene una permanencia muy fugaz en la saliva o que sus proporciones son infinitamente pequeñas.

DISCUSIÓN

En Argentina, la caries afecta aproximadamente a un 90% de la población, incluidos los niños,¹ hallándose algunas zonas geográficas más protegidas por el tipo de alimentación (cárnica y vegetariana). Sabido es que el nivel

Fig. 3. Mecanismos de defensa macro y micromoleculares en bocas sanas, activas y tratadas.



socioeconómico no es el principal determinante de esta patología, ya que se han observado índices significativos de caries en lugares de alto y bajo nivel, debido a que la ingesta de glúcidos es considerable en ambos.

En el presente estudio se observó la venta de golosinas dentro de los establecimientos escolares, lo que, sumado a la falta de educación sanitaria, predispone a la población infantil a la presencia constante de enfermedades de los tejidos duros del diente, que terminan en su destrucción parcial o total con sus sabidas consecuencias (las lesiones gingivo-periodontales son poco frecuentes en niños).

La prevalencia de las caries varía en función de la edad, costumbres, actitudes y situación económica de una población en particular.¹⁷ En el caso presente, estudiar esta enfermedad en niños de edad escolar (los dientes jóvenes son más susceptibles a las caries que los viejos), en escuelas rurales de la provincia de Mendoza, permite ver un panorama localizado, donde se vuelcan no solamente los objetivos clínicos y bioquímicos de este trabajo, sino también la difusión de técnicas de higiene oral, normas básicas de nutrición¹⁸ y todas las estrategias a nivel social que evitan la prevalencia de esta enfermedad multifactorial, para la mayoría infecciosa y reversible en sus primeros estadios.¹

Todo lo antes mencionado permite reforzar por qué se trata de relacionar la saliva total con el metabolismo oxidativo (producción de radicales libres y defensa contra los mismos). Sin lugar a dudas que la presencia de la X-O, enzima responsable de la producción de los RLO, comprobada simultáneamente por la dosificación de los mismos ERO en bocas con caries, es un hallazgo importante. Y también lo es el saber que en bocas S ambos parámetros, en las condiciones del experimento, no fueron detectables.

Si a ello se le agrega que existen mecanismos de defensa que actúan permanentemente (GSH y Vit C) y otros que actúan mejor en bocas tratadas (SOD y AOT), resulta obligatorio pensar que son fundamentales para discernir si los RLO (al igual que en otras enfermedades) son la causa o el resultado de las caries, enfermedad anatómicamente específica pero bioquímicamente contradictoria.¹⁹

No obstante que las conclusiones de este trabajo sólo dan una idea parcial de lo que puede ocurrir en la saliva, ellas ayudan a comprender mejor el estudio odontológico-bioquímico de la misma.

Sería importante estudiar no sólo la saliva total, sino la parotídea, y también caries y enfermedad periodontal en otras edades y con pacientes fisiológicamente sanos para ver si el comportamiento del metabolismo oxidativo realmente tiene importancia y si existe, con un adecuado número de casos, algún paralelismo con este trabajo.

No fue posible interpretar, en las condiciones experimentales de este trabajo, por qué en salivas de bocas T no se recuperan los valores de GSHpx.

Agradecimientos.

Los autores agradecen la colaboración de la Lic. M. Michaut (pasante), de V. Guyet y C. Fazio (becarias) y de M. García (técnica) en el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nikiforuk G. Caries dental. Buenos Aires: Editorial Mundi, 1986.
2. Molina H. Fundamentos de bioquímica odontológica. Mendoza: Editorial Facultad de Ciencia Médicas, 1986.
3. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1089; 1: 358-364.
4. Molina H, Corvalán M, Abud M, Maggio S. Oxidative stress: defense mechanisms and parameters involved. *Pren Med Arg* 1993; 80: 153-156.
5. Molina H, Maggio S, Abud M, Corvalán M. Clinical and biological aspects of oxygen free radicals. *Acta Bioq Clin Latinoam* 1993; 4: 513-518.
6. Suddick R, Hyde R. The biological basis of dental caries. New York: Harper & Row, 1980.
7. Hume W. An analysis of the release and the diffusion through dentin of eugenol from zinc oxide-eugenol mixtures. *Dent Res* 1989; 63: 881-884.
8. Bray R. Spectrophotometric studies on the reduction of xanthine oxidase. *Biochem J* 1962; 83: 11-18.
9. Torreilles J, Guerin M. Murexide bleaching: a new direct assay method for characterizing oxygen species. *Biochemie* 1989; 71: 1231-1234.
10. Ledwozyw A, Stepien A. The relationship between plasma lipids and peroxidation. *Cline Chem Acta* 1986; 25: 275-284.
11. Pagliuci D, Valentine W. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-165.
12. Beutler E, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Cline Med* 1963; 61: 882-889.
13. Holasek A, Flashka H. Métodos de análisis clínico. Barcelona: Editorial Reverte, 1964.
14. Aebi H, Suter H. Catalase in vitro. *Methd Enzym* 1989; 105: 121-126.
15. Misra H, Fridovich Y. The role of anion in the antioxidantation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247: 3170-3175.
16. Miller N, Davies M. Measurement of total antioxidant status. *Clin Sci* 1993; 84: 407-412.
17. Bánóczy J. The evolution of dental education. A european perspective. *J Dent Educ* 1993; 634-636.
18. Molina H, Corvalán M, Grattoni S, Abud M, Maggio S. Infant malnutrition and oxidative metabolism. *Pren Med Arg* 1996; 83: 193-196.
19. Krinsky N. Mechanism of action of biological antioxidants. *Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 248-254.

Correspondencia:

Marta Corvalán
Universidad Nacional de Cuyo
Casilla de Correo 33
5500 Mendoza, Argentina