

MODIFICĂRILE UNOR PARAMETRI SERICI ȘI SALIVARI LA FEMEILE GRAVIDE CU AFECȚIUNI DENTARE

CAMELIA DALAI¹, C. DALAI², F. BODOG³, RALUCA IURCOV⁴, IOANA IGNAT ROMANUL⁵, A. C. ROMANUL⁶, OTILIA MICLE⁷, MARIANA MUREȘAN⁸

^{1,2,3,4,5,6,7,8}Universitatea din Oradea

Cuvinte cheie: gingivită, carii dentare, gravidă, ser salivă

Rezumat: Introducere: Saliva joacă un rol important în menținerea sănătății orale datorită numeroșilor factori innăscuți și dobândiți având un rol protector asupra țesuturilor orale.(1) Modificările compoziției salivare din timpul sarcinii induc răspuns din partea țesuturilor gingivale la factorii locali cu apariția plăcii și tartrului dentar.(2) Scop: Scopul acestui studiu a fost de a investiga concentrațiile de calciu, fosfat, uree, proteine totale și AST (aspartat aminotransferază), ALT (alanin aminotransferază), ALP (fosfatază alcalină) din ser și salivă și de a evalua măsura în care dozarea enzimelor poate servi ca un instrument în diagnosticarea afecțiunilor dentare la femeile gravide. Material și metodă: Lotul studiat a fost împărțit în următoarele grupe: (1) femeile gravide cu carii dentare n = 12 (2), femeile gravide cu gingivită n = 15 (3), femei negravidă n = 15. Rezultatele au fost comparate cu un grup de control asemănător cu grupurile de studiu privind vârsta, IMC (index de masă corporală), tensiunea arterială. Toate determinările biochimice au fost făcute pe 912 HITACHI Roche Diagnostics. Rezultate: Femeile însărcinate cu carii dentare au avut o concentrație salivară mai mare a AST 7.23 ± 6.12 U/L comparativ cu lotul martor 2.87 ± 1.9 U/L ($p=0,03$). Am obținut diferențe semnificative între ser și salivă pentru unii parametri. Pentru alți parametri nu s-au observat diferențe semnificative între ser și salivă ($p > 0.05$) (vezi tabelul nr.3). Concluzii: Creșterea enzimelor salivare reflectă o activitate biologică în țesutul gingival. Saliva poate fi utilizată ca modalitate de diagnostic la femeile gravide cu afecțiuni dentare.

Keywords: gingivitis, dental caries, pregnant women, serum saliva

Abstract: Introduction: Saliva plays an important part in the maintenance of oral health as it contains many innate and acquired factors with a protective role on the oral tissue.(1) Changes in salivary composition during pregnancy induce an increased response of the gingival tissues to local factors, such as plaque, tartar and hard tissues.(2) Purpose: The aim of the study was to investigate the concentrations of salivary and serum concentrations of calcium, phosphate, urea, total proteins and ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase) and to assess whether the activities of the enzymes can serve as a tool for the diagnostic of tooth disorders in pregnant women. Materials and methods: The studied batch was divided in the following groups: (1) pregnant women with dental caries n=12 (2) pregnant women with gingivitis n=15 (3) non-pregnant women n =15. The results were compared to a control group matched with the study groups in terms of age, BMI, blood pressure. All determinations were done on HITACHI 912 Roche Diagnostics. Results and discussions: Pregnant women with dental caries had a higher salivary AST 7.23 ± 6.12 U/L than non-pregnant women 2.87 ± 1.9 ($p = 0.03$). We obtained significant variations between serum and saliva for some parameters (see table no. 4). For other parameters, no important differences between serum and saliva ($p > 0.05$) were noticed. Conclusions: An increased salivary enzyme reflects the biological activity in the gingival tissue. Saliva can be used as diagnostic tests in pregnant women with tooth disorders.

INTRODUCERE

Saliva joacă un rol important în menținerea sănătății orale datorită numeroșilor factori innăscuți și dobândiți având un rol protector asupra țesuturilor orale. Difuziunea ionilor salivari precum calciul și fosforul conservă smalțul dentar format din hidroxiapatită, o sare pe bază de fosfat de calciu. Multe studii au demonstrat că hormonii influențează compoziția salivară la femei.

Saliva conține apă, molecule organice și anorganice expuse modificărilor hormonale la femei. Astfel, sarcina, menstruația, terapia de substituție hormonală poate avea un efect direct asupra întregului organism inclusiv asupra metabolismului țesuturilor parodontale.(1)

Modificările compoziției salivare din timpul sarcinii induc răspuns din partea țesuturilor gingivale la factorii locali cu apariția plăcii și tartrului dentar. În starea fiziologică de graviditate, pH-ul și debitul salivar redus asociat cu modificări ale nivelurilor de electroliți salivari au fost demonstrate.(2,3)

O componentă importantă a salivei sunt enzimele. Răspunsul organismului la infecția parodontală cuprinde producția mai multor tipuri de enzime eliberate din celulele stromei, celulele epiteliale, inflamatorii sau bacteriene. Analiza acestor enzime în secreția salivară poate contribui la clarificarea patogenezei și să realizeze un diagnostic rapid al bolii parodontale.(4)

¹Autor corespondent: Dalai Camelia, Str. Privighetorii, Nr. 18, Oradea, România, E-mail: cameliadalai@gmail.com, Tel: +40740 236973
Articol intrat în redacție în 11.07.2012 și acceptat spre publicare în 30.08.2012

ACTA MEDICA TRANSILVANICA Decembrie 2012;2(4):135-138

ASPECTE CLINICE

Enzimele intracelulare sunt eliberate pe rând din celulele distruse ale țesutului parodontal în lichidul crevicular și în salivă la fel ca în fluidele din jur.

Câteva enzime precum aminotransferaza, fosfataza alcalină, lactat dehidrogenaza, gama-glutamyl transferaza sunt folosite pentru a identifica boala parodontală și pentru a măsura eficiența terapiei parodontale.(5,6,7,8)

În prezent, saliva este o resursă biologică importantă utilă pentru a realiza noi teste diagnostice. Are câteva avantaje importante: poate fi recoltată non-invaziv de la oameni fără a fi necesară o pregătire anterioară sau un echipament special.(6) Patologia orală se reflectă în modificările parametrilor biochimici salivari.

SCOP

Scopul acestui studiu a fost de a investiga concentrațiile de calciu, fosfat, uree, proteine totale și AST (aspartat aminotransferază), ALT (alanin aminotransferază), ALP (fosfatază alcalină) din ser și salivă și de a evalua măsura în care dozarea enzimelor poate servi ca un instrument în diagnosticarea afecțiunilor dentare la femeile gravide. Al doilea obiectiv a fost să observăm dacă activitatea enzimelor orientează diagnosticul de gingivită sau carie în timpul sarcinii.

MATERIAL ȘI METODĂ DE LUCRU

Cercetările noastre au fost efectuate pe 27 de femei gravide sănătoase cu vârsta cuprinsă între 18 și 39 ani, în a cincea și a noua lună de sarcină, selectate dintre pacientele Spitalului de Obstetrică-Ginecologie Oradea. Toți subiecții au semnat un consimțământ informat înainte de înscrierea în cercetare. Studiul a fost aprobat de comitetul instituțional de etică.

Lotul studiat a fost împărțit în următoarele grupe:

- (1) femei gravide cu carii dentare n = 12
- (2) femei gravide cu gingivită n = 15
- (3) femei negravide n = 15

Rezultatele au fost comparate cu un grup de control asemănător cu grupurile de studiu privind vârsta, IMC (index de masă corporală), tensiunea arterială. Criteriul de diagnostic al cariei dentare a fost distrucția țesuturilor dure dentare urmată de carii coronare și radiculare. Criteriul de diagnostic al gingivitei a fost reprezentat de edem gingival, colorația roșie-vioacee a marginii gingivale, sângerări gingivale spontane sau induse de periajul dentar sau masticație. Probe venoase materne au fost colectate pe nemâncate. Sângele a fost recoltat în vacuainere. Exemplele au fost transportate la laborator imediat după recoltare și centrifugate la 1500g pentru 10 minute cu scopul de a separa serul. Probele de salivă nestimulată au fost recoltate în condiții de repaus între orele 7.30 și 10.30 a.m. Pacienții au stat la pat și au scuipat în recipiente sterile de plastic în decursul a 5 minute, timp în care saliva s-a acumulat în planșel bucal. Probele de salivă au fost centrifugate (forța de centrifugare: 1,000g) timp de 10 minute pentru a îndepărta bacteriile și alte reziduuri. Fluidul clar rezultat a fost folosit pentru examinările biochimice. Toate determinările biochimice au fost făcute pe 912 HITACHI Roche Diagnostics folosind reactivi Diasys. Ureea a fost determinată cu urease – GLDH: test UV enzimatic.(9,10)

Acidul uric a fost măsurat cu testul fotometric enzimatic folosind TBHBA (2, 4, 6-tribromo-3-hydroxybenzoic acid) (Cat. No. 1 3021 99 10 704).(9,10) Analiza totală a calciului a fost realizată cu un test fotometric folosind cresolphthalein complexone (Cat.No.1 1121 99 10 704).(9,10) Fosfatul anorganic a fost măsurat folosind fosfomolibdat/metoda UV (Cat. No.11489348216).(9,10) Pentru a determina ALP am folosit testul fotometric kinetic potrivit IFCC (cat No 1 044199 10 704) (9, 10, 11). Un test UV optimizat modificat potrivit

IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) a fost folosit pentru a determina AST (Cat. No.1 2701 99 10 704) and ALT (Cat. No.1 2601 99 10 70).(9,10,12) Pentru a măsura proteinele totale am folosit testul fotometric potrivit metodei biuretului (Cat. No. 1 2311 99 10 704).(9,10)

Datele sunt exprimate ca medie ± SD (deviația standard). Pentru a stabili importanța diferențelor a fost aplicat testul studentului. Valorile P<0.05 au fost considerate din punct de vedere statistic semnificative.(13)

REZULTATE

Parametrii biochimici sunt prezentați în tabelul nr. 1. Nu s-a constatat o diferență semnificativă de vârstă, greutate, înălțime, tensiune arterială între femeile gravide și femeile din grupul de control la momentul înscrierii în studiu (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 1. Valori ale parametrilor biochimici la femeile gravide cu gingivită și carii

	AST U/L	ALT U/L	Uree g/l	Calciu mg/d l	Fosfat mg/d l	ALP U/l	Acid uric g/L	Proteine Totale g/L
Lot 1 ser	16.45 ± 5.05	10.7 ± 3.56	0.15 ± 0.04	8.78 ± 0.49	3.49 ± 0.55	-	3.13 ± 0.50	-
Lot 1 Salivă	7.23 ± 6.12	3.58 ± 2.53	0.24 ± 0.17	4.05 ± 3.04	12.3 ± 4.74	12.1 ± 10.25	2.81 ± 3.33	1.58 ± 1.03
Lot 2 ser	15.17 ± 1.82	10.5 ± 2.35	0.11 ± 0.04	8.78 ± 0.8	3.89 ± 0.48	-	3.12 ± 0.96	-
Lot 2 salivă	5.45 ± 3.38	3.02 ± 2.47	0.26 ± 0.14	3.82 ± 1.22	15.0 ± 4.96	10.2 ± 8.41	3.14 ± 1.62	1.12 ± 0.71
Control salivă	2.87 ± 1.90	1.72 ± 0.91	-	-	-	4.94 ± 1.50	2.63 ± 1.44	-

Tabelul nr. 2. Valorile parametrilor clinici la loturile studiate

	Mediu de proveniență	Vârstă (ani)	Greutate (kg)	Înălțime (m)	Tensiunea arterială sistolică (mmHg)	Tensiunea arterială diastolică (mmHg)	Vârsta sarcinii (săptămâni)
Lot 1 n=12	41.66 % U 58.33 % R	30.1 ± 4.95	69.5 ± 14.69	1.65 ± 0.06	115.6 ± 13.25	70.8 ± 9.70	33.85 ± 7.60
Lot 2 n=15	40% U 60% R	27.08 ± 4.67	74.08 ± 12.67	1.67 ± 0.03	112.0 ± 11.12	71.91 ± 10.09	25.95 ± 8.81
Lot de control (n= 15)	70% U 30% R	26.09 ± 3.74	67.02 ± 9.80	1.65 ± 0.05	116.9 ± 9.53	70.55 ± 8.31	-

Femeile gravide care prezintă carii dentare au avut un AST salivar mai mare decât femeile negravide (p=0.03) (tabelul nr. 3). Nicio diferență semnificativă nu a fost observată între parametrii din tabelul nr. 3 la cele două loturi, nici în ser, nici în salivă (p>0.05).

Am obținut variații semnificative între ser și salivă a parametrilor studiați cu excepția ureei la lotul 1 și acidului uric la ambele loturi (tabelul nr. 3).

ASPECTE CLINICE

Tabelul nr. 3. Valoarea p pentru grupurile studiate

	Lot 1 Ser Lot 2 Ser	Lot 1 Salivă Lot 2 Salivă	Lot 1 Ser Lot 2 Ser	Lot 1 Salivă Lot 2 Salivă	Lot 1 Salivă Lot Control Salivă	Lot 2 Salivă Lot Control Salivă
	p	p	p	p	p	p
AST	>0.05	0.24	0.0001	0.0001	0.03	0.04
ALT	>0.05	0.68	0.0001	0.0001	0.03	> 0.05
Uree	>0.05	0.62	0.21	0.004	-	-
Acid uric	>0.05	0.75	0.78	0.98	> 0.05	> 0.05
Calciu	>0.05	0.81	0.0003	0.0001	-	-
Fosfat	>0.05	0.22	0.0001	0.0001	-	-
ALP	-	0.66	-	-	0.03	0.05
Total proteine	-	0.24	-	-	-	-

DISCUȚII

Receptorii pentru estrogen și progesteron sunt situați în țesuturile parodontale. În sarcină are loc o creștere a nivelului acestor hormoni steroizi care induce un răspuns al țesuturilor. Matricea extracelulară, vasele gingivale și fibroblaștii au de suferit. Estrogenul reglează proliferarea celulară, diferențierea și keratinizarea și astfel el pare să stimuleze sinteza de matrice. Împreună cu progesteronul crește producția locală de mediatori ai inflamației, în special prostaglandine E₂ (PGE₂), un stimulent al activității osteoclastice.(14)

Cercetarea noastră s-a realizat pe salivă nestimulată întrucât acest tip de salivă predomină în cea mai mare parte a zilei, menține sănătatea orală reflectând astfel statusul fiziologic al cavității orale și a întregului organism. Saliva conține multe enzime. Enzimele AST, ALT se află în celule și nivelurile lor variază în funcție de tipul de celule. Acestea sunt enzimele intracelulare care participă la procesul metabolic al celulelor și sunt prezente în marea lor majoritate în celulele țesuturilor moi.

Celulele eliberează aceste enzime în spațiul extracelular în timpul proceselor de necroză tisulară sau în caz de traumatisme, fiind detectabile și în circulația periferică. Dacă țesutul parodontal este distrus datorită edemului sau distrugerii membranei celulare, aceste enzime intracelulare sunt eliberate treptat în lichidul gingival și în salivă unde activitatea lor poate fi măsurată.(5,7) A fost observat un nivel crescut de ALT în lichidul gingival și a fost raportat ca fiind un posibil marker al bolii parodontale.(15)

Rezultatele noastre au demonstrat un nivel crescut al AST și ALT în saliva femeilor gravide cu gingivită și carii dentare comparativ cu grupul de referință. Aceste rezultate au susținut modificările metabolice în gingiile inflamate. Din moment ce nivelul sanguin al transaminazelor pacienților au valori normale, aceasta indică faptul că AST-ul salivar are ca organe distrucțiile gingivale. Diferența dintre ser și salivă demonstrează că nu este rezultatul unei simple filtrări din sânge în salivă, ci reprezintă un argument pentru sursa enzimatică din celulele orale distruse. Fosfataza alcalină este numele dat unui grup de enzime hidrolitice, descrise ca ortofosfat-monoesterfosfohidrolaza care funcționează prin eliberarea de fosfat anorganic din fosfat esteri. La adulții sănătoși, ALP seric provine din ficat, oase și intestine. Activitatea enzimatică crește odată cu începerea activității osteoformatoare.(16) Într-un studiu histologic s-a observat că ALP este prezent în vasele gingivale,

periost și fibre periodontale, dar și în corionul gingival jucând un rol important în metabolismul celular, în depunerea de smalt, matrice dentinară, keratinizare și calcificare.(16)

Nivelul de ALP în gingiile sănătoase este redus. O cantitate crescută a fost observată în membrana periodontală localizată în regiunea dintre cement și os alveolar. Am descoperit o concentrație salivară crescută a ALP la femeile gravide cu gingivită și carii dentare ceea ce indică o reacție metabolică a enzimelor determinată de o inflamație locală. Determinarea acestor enzime poate fi folosită pentru a monitoriza modificările patologice la nivelul celulelor gingivale și oferă un diagnostic precis și informații prognostice importante despre afecțiunile dentare ale femeilor gravide.

Nu am descoperit nicio diferență între concentrațiile salivare de calciu și fosfat la femeile gravide cu gingivită dar nici la cele cu carii dentare. Laine în 2002 a subliniat, de asemenea, că sarcina nu induce pierderi considerabile de calciu sau alte minerale de la nivelul dinților. Alți cercetători au constatat o scădere considerabilă a nivelului de calciu între săptămâna a 21-a și a 40-a de sarcină în comparație cu lotul control dar și o scădere a fosfatului în săptămâna 21.(17) Formarea oaselor fătului cere 25 până la 30g calciu, aproape toată cantitatea fiind necesară în a doua jumătate a perioadei de sarcină. Înainte de osificarea majoră fetală de la sfârșitul sarcinii, absorbția intestinală de calciu este crescută la mamă și masa ei osoasă crește.(18) Scăderea concentrației de calciu și fosfor în ultimul trimestru de sarcină ar putea crește incidența cariei.

În studiul nostru diferența dintre ureea salivară și serică la femeile gravide cu gingivită este crescută considerabil (p=0.004). Acest lucru se poate datora liberei filtrări sau unui proces local catabolic al proteinelor. Producții acestui proces catabolic sunt amoniacul, aminoacizii și ureea care pot modifica echilibrul pH-ului. Colonizarea bacteriană are loc printr-o adeziune specifică, ireversibilă între receptorii dobândiți ai peliculei și moleculele bacteriene numite adevine. În cele din urmă se formează placa bacteriană matură. Oxigenul și nutriții sunt limitați în zonele profunde și acumularea de reziduuri crește producția de placă dentară. Concentrații mari de uree în placa bacteriană favorizează depunerea de calciu și fosfor în placa dentară. Mai departe, procesele se pot repeta pe placa dentară calcificată. Pentru lotul 1 format din femei gravide care prezintă carii dentare diferența dintre ureea salivară și cea serică nu este semnificativă (p=0.21).

Proteinele totale salivare nu diferă în lotul 1 comparativ cu lotul 2 (p=0.24). A fost observată o creștere în prima parte a sarcinii urmată de o scădere în apropierea nașterii a proteinelor salivare și a activității α-amilazei.(19) Pe baza cercetării noastre am concluzionat că activitățile enzimelor AST, ALT, ALP au crescut semnificativ în saliva femeilor gravide cu leziuni dentare comparativ cu cea a femeilor sănătoase. Aceasta este probabil consecința proceselor patologice existente la nivelul țesuturilor dure și moi de unde aceste enzime intracelulare sunt eliberate în salivă. Simplitatea tehnicii non-invasive de recoltare a salivei a susținut teste salivare ca fiind o metodă folositoare pentru diagnosticarea și prognozarea evoluției afecțiunilor dentare la femeile gravide.

CONCLUZII

1. La femeile gravide cu gingivită sau carii dentare, activitatea salivară a ALP, AST, ALT reflectă situația biologică a țesuturilor gingivale.
2. Nivelurile salivare ridicate de AST observate de către noi pe perioada sarcinii sunt asociate cu distrucții tisulare gingivale.

ASPECTE CLINICE

3. Nu s-au constatat modificări salivare importante ale calciului și fosforului la loturile noastre de studiu.
4. Enzimele salivare testate pot fi utilizate pentru a diagnostica și prognoza afecțiunile dentare la femeile gravide.

REFERINTE

1. Rockenbach MI, Marinho SA, Veeck EB, Lindemann L, Shinkai RS. Salivary flow rate, pH, and concentrations of calcium, phosphate, and sIgA in Brazilian pregnant and non-pregnant women. *Head & Face Medicine*. 2006;2:44.
2. Laine MA. Effect of pregnancy on periodontal and dental health. *Acta Odontol Scand*. 2002;60:257-264.
3. González M, Montes de Oca L, Jiménez G. Changes in saliva composition of pregnant and non-pregnant patients. *Perinatol reprod hum*. 2001;15:195-201.
4. Todorovic T, Dozic I, Barrero MV, Besir L, Pejovic J, Marjanovic M, Knezevic M. Salivary enzymes and periodontal disease *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006;11:E115-9.
5. Numabe Y, Hisano A, Kamoi K, Yoshie H, Ito K, Kurihara H. Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology*. 2004;40:115-9.
6. Kaufman E, Ira B. Lamster. The diagnostic application of saliva A review. 2002;13(2):197-212.
7. Ozmeric N. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta*. 2004;343:1-16.
8. Cesco RT, Ito IY, Albuquerque RF Jr. Levels of aspartate aminotransferase in saliva of patient with different periodontal conditions. *J Clin Periodontol*. 2003;30:752-5.
9. Thomas L. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.
10. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and molecular diagnostics*. 4th. ed. ELSEVIER Saunders Company; 2006.
11. Tietz NW, Rinker D, Shaw LM. IFCC method for alkaline phosphatase. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983;21:731-48.
12. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40:718-33.
13. <http://www.physics.csbsju.edu/stats/t-test.html>.
14. Rai B, Kaur J, Kharb S. Pregnancy gingivitis and periodontitis and its systemic effect. *The Internet Journal of Dental Science*. 2009;6(2).
15. Kamma JJ, Nakou M, Persson RG Association of early onset periodontitis microbiota with aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol*. 2001;28:1096-1105.
16. Vandana KL, Savitha B. Role of alkaline phosphatase in fibrogenesis or fibrolysis. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2004;8:70-2.
17. Salvolini E, Di Giorgio R, Curatola A, Mazzanti L, Fratto G. Biochemical modifications of human whole saliva induced by pregnancy *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 1998;105:656-66.
18. Kumar R, Cohen WR, Epstein FH. Vitamin D and calcium hormones in pregnancy. *N Engl J Med*. 1980;302:1143-1145.
19. Salvolini E, Di Giorgio R, Curatola A, Mazzanti L, Fratto G. Biochemical modifications of human whole saliva induced by pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:656-660.