

ARTICULO ORIGINAL

ESTUDIO ODONTOLOGICO Y BIOQUIMICO DEL METABOLISMO OXIDATIVO DURANTE EL EMBARAZO *

Marta Corvalán¹, Héctor Molina², María Abud³,
Clara Ponce⁴, Alejandra Batistelli⁵.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue tratar de conocer si la saliva de mujeres que cursan su segundo trimestre de embarazo, con bocas activas (gingivitis), pueden ejercer efectos antioxidantes sobre la lipoperoxidación que ocurre al ingerir un alimento lipídico (aceite insaturado).

El estudio se realizó en 42 mujeres, 22 embarazadas en el segundo trimestre y 20 no embarazadas, a todas se les hizo un análisis bioquímico de saliva antes y después de realizar tratamiento odontológico para control de la placa bacteriana.

Los resultados obtenidos nos indican que hay una producción de especies reactivas del oxígeno, que se manifiesta al actuar sobre el aceite y producir malonildialdehído, además la superóxido dismutasa en mayor grado y la glutarion peroxidasa ejercen sus efectos protectores; el ácido úrico parece ser el mejor antioxidante salival y es en el segundo trimestre de la gestación donde se producen las variaciones más significativas, siendo evidente que el tratamiento odontológico mejora el desbalance oxidativo, encontrado en bocas con gingivitis.

PALABRAS CLAVES:

Saliva, embarazo, gingivitis, peroxidación, antioxidantes.

ABSTRACT

This study was aimed at determinig whether the saliva of second-trimester pregnant women with active gingivitis has antioxidant effects on the lipoperoxidation observed when a fatty meal (unsaturated oil) is ingested.

The study was carried out in 42 women, 22 who were in the second trimester of pregnancy. A biochemical analysis of saliva before and after dental treatment in order to compare the effects of bacterial plaque on salivary composition.

Our results show that oxygen reactive species are produced, whose presence is manifested by malonyldialdehyde production from oil, superoxide dismutase and, to a lesser extent, glutathione peroxidase exert their protecting effects; uric acid seems to be the major salivary antioxidant. It is during the second trimester of pregnancy where more significant changes are seen, and it is apparent that dental treatment improves the oxidative disbalance seen in patients with active gingivitis.

KEYWORDS:

Saliva, pregnancy, gingivitis, peroxidation, antioxidants.

* Proyecto aprobado y subsidiado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Cuyo. (K-016)

¹ Profesora Adjunta Química Biológica. Facultad de Odontología. U.N de Cuyo.

² Profesor Titular Química Biológica. Facultad de Medicina. U.N de Cuyo.

³ Jefe de Trabajos Prácticos Química Biológica. Facultad de Medicina. U.N. de Cuyo.

⁴ Jefe de Trabajos Prácticos Química Biológica. Facultad de Medicina. U.N de Cuyo.

⁵ Odontóloga. Centro de Salud Nº14. Ministerio de Salud, Mendoza.

INTRODUCCION

Estudios odontológicos previos, en animales y en el hombre, han demostrado que la inflamación gingival se presenta, cuando hay una irritación local y existencia de placa bacteriana¹. Se acepta que la gingivitis durante el embarazo, no es nada más que la intensificación de una gingivitis previa al mismo, por acción de estrógenos y progesterona, sobre el endotelio de la microvasculatura, que aumenta la permeabilidad capilar y exagera la salida de líquido plasmático, al iniciarse el proceso inflamatorio². También, durante el embarazo, se ha encontrado que las salivas de mujeres embarazadas con gingivitis, tienen aumentado su calcio y potasio, así como su fluido gingival.

Hallazgos similares se han observado en terapias anticonceptivas, pero condicionado a la existencia de una situación inflamatoria previa, ya que de lo contrario, el comportamiento gingival es normal³.

Normal y continuamente se producen en nuestro organismo especies reactivas del oxígeno (ERO) que tienen como blanco o "target" las membranas celulares produciendo sobre las mismas, fenómenos de peroxidación lipídica (LP); pero simultáneamente el hombre posee un sistema intra y extracelular muy bien organizado contra esta LP⁴. Este sistema incluye, micromoléculas, como las vitaminas "C", "E" y "A", el glutatión, etc. y macromoléculas, como las enzimas Superóxido dismutasa (SOD), Glutatión peroxidasa (GSHpx), catalasa, entre otras⁵. Se sabe que la saliva humana juega un papel esencial en mantener las funciones fisiológicas de los tejidos orales⁶. El proceso de masticación y digestión de alimentos ingeridos, promueve una serie de reacciones, entre ellas la LP, por lo que la saliva podría participar en mecanismos de defensa contra la misma⁷.

El objeto de este trabajo, basado en uno anterior⁸, donde se trabajó con salivas de mujeres embarazadas y se estudió el metabolismo oxidativo en bocas activas (no específicamente gingivitis) y donde no se tuvo en cuenta una selección adecuada de pacientes ni un número significativo de muestras, pero si se encontraron variaciones importantes bioquímicas en el

segundo trimestre (2T), es tratar de conocer si las salivas de mujeres con gingivitis que cursan este periodo de gestación en forma normal, pueden ejercer un efecto antioxidante sobre la LP que ocurriría al añadirle, aceite comestible con elevada proporción de ácidos grasos insaturados y analizar simultáneamente la presencia de ERO y algunos mecanismos de defensa, especialmente uno poco o nada estudiado, el ácido úrico (AU), como complemento de los que actúan normalmente en nuestro organismo⁹.

Finalmente se quiere conocer si el tratamiento odontológico en las embarazadas del 2T, determina en la saliva, una disminución de las ERO y un incremento en los mecanismos de defensa.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron 20 mujeres no embarazadas (NE) y 22 mujeres embarazadas que cursaban su 2T de gestación. Todas pertenecían a una zona del departamento de Guaimallén (Mendoza, Argentina), que concurrían al Centro de Salud N° 14 y cuyas edades oscilaban entre 20 y 35 años. A cada una de ellas se le realizó una ficha odontológica con datos como C.O.P (Cariado- Obturado -Pérdido), índice de Loe y estado general de la cavidad oral. Todas tenían signos de gingivitis: en las NE el IL, era menor a 0,5 y el COP estaba disminuido, mientras que en las embarazadas el IL va de 2,5 a 4 y el COP estaba aumentando. Además, se les realizó un estudio clínico y bioquímico de rutina para descartar efectos secundarios de alguna patología agregada: diabetes, hipertensión, infecciones urinarias, toxoplasmosis, chagas, sífilis, HIV y hepatitis B. Se les interrogó sobre antecedentes alimentarios, tiempo y número de embarazos, y todo tipo de características que pudieran orientar e influir en los objetivos de nuestro trabajo. Las condiciones socioeconómico-culturales eran muy similares en todas las mujeres estudiadas.

La recolección de saliva se hizo en ayunas en horas de la mañana, utilizándose saliva total estimulada por masticación con un material inerte ("elastiquines"). Se recogieron en recipientes estériles, directamente, que se mantenían en refrigerador entre 0°C y 4°C hasta su procesamiento (no mayor de 6 horas), previa filtración por gasa.

El análisis bioquímico se realizó en el Departamento de Química Biológica de la U.N de Cuyo. Las técnicas utilizadas fueron las universalmente aceptadas, con drogas pro análisis, de calidad Sigma. Por duplicado y por espectrofotometría se analizaron todas las muestras de salivas. Para estudiar la producción de ROL se midieron las Especies Reactivas del Oxígeno (ERO): Radical Superóxido: $O_2^{\bullet-}$, Radical Oxhidrilo: $\bullet OH$ y Agua oxigenada $H_2O_2^{10}$. Para conocer el grado de peroxidación lipídica (LP) se determinó el total de las sustancias reactantes del ácido barbitúrico (TBARS) expresadas como Malonildialdehído (MDA)¹¹.

Los mecanismos endógenos de defensa de saliva total, se estudiaron al determinar la actividad de las enzimas "scavenger": SOD y GSHpx^{12,13} que eliminan el $O_2^{\bullet-}$ y el H_2O_2 respectivamente. Se incorporó como novedad a una micromolécula "quencher", el AU (9) probable antioxidante en saliva contra $HO^{\bullet}$, $ClO^{\bullet}$ y $LOO^{\bullet}$ (oxhidrilo, radical hipoclorito y lipoperoxilo). Se estudiaron las salivas antes (Pre) y después (Post) del tratamiento odontológico y se incubaron las muestras con un aceite insaturado (Girasol, ® que contiene 70% de ácido linoleico y oleico, con un Índice de Iodo de 130) durante 10 minutos a 37°C, en un termoagitador, evaluándose las 42 muestras antes y después de la incubación.

Se evaluó el estado de la placa bacteriana en las pacientes, utilizando un revelador, Eritrocina, y luego se procedió a realizar la higiene oral con cepillo Pro-suave 525 ® de tres hileras (Esmedent) con fibras tynex -blando, para lograr vedamiento o eliminación de foco séptico. Posteriormente se hizo un enjuagatorio oral con un antiséptico¹⁴, compuesto por timol, eucaliptol, salicilato de metilo, esencia de menta y esencia de menta verde, tomándose nuevamente, muestras de saliva. Se enseñó a las pacientes como debían mantener la higiene oral y se los citó nuevamente para evaluar los resultados del vedamiento.

RESULTADOS

En las tablas 1, 2 y 3 se presentan los valores obtenidos en mujeres no embarazadas Pre-tratamiento y embarazadas Post-tratamiento. Estos valores están expresados como promedio: $\bar{x}$, más

la desviación estándar: DE. La estimación de los cambios significativos son para una P: 0,05.

En la Tabla 1 se estudian las NE utilizadas como controles. No se observan presencia de ERO ni MDA y los antioxidantes: AU, SOD y GSHpx no sufren variaciones significativas (S), comparando todos los parámetros antes y después de la incubación con aceite insaturado. El pH, flujo salival y filancia, representan los valores aceptados en condiciones normales (6).

En la Tabla 2, embarazadas del 2T sin tratamiento odontológico, se observa que aparecen las ERO y aumentan (S) después de la incubación. Lógicamente está ausente el MDA antes de incubación, pero aparece (S) tras la incubación. Las enzimas SOD y GSHpx no sufren variaciones (S) en esta experiencia, El pH está disminuido, el flujo salival se mantiene similar a las NE y la filancia está disminuida en el 36% de las muestras estudiadas.

En la Tabla 3, las mismas mujeres embarazadas del 2T, pero con tratamiento odontológico, muestran al igual que en la Tabla 1, ausencia de ERO y MDA, antes de la incubación y aparecen (S) después de la misma, pero con valores inferiores a las NE. El AU aumenta (S) después de la incubación, pero con valores superiores a los de la Tabla 1, no observándose variaciones (S) en la incubación semejantes a los valores obtenidos en las NE Tabla 2. El pH se normaliza, el flujo salival conserva sus valores similares en los tres casos estudiados y la filancia disminuye en el 100% de las salivas totales analizadas.

DISCUSION

Al analizar las patologías en general y en especial las orales, comprobamos que en su mayoría están directa e indirectamente relacionadas con las ERO (5). No está hasta ahora dilucidado, si las ERO son causa o efecto de un proceso determinado, pero si es válido preguntarse: ¿Qué moléculas pueden bloquear o prevenir las reacciones de iniciación y propagación, producidas por las ERO? ¿Cuál es su poder antioxidante e interpretar dónde están localizadas y cuál es su mecanismo de acción?. Actualmente sabemos que hay mecanismos celulares macro y micromoleculares que actúan permanentemente como "scavenger" o "quencher"

**TABLA 1. CONTROL
(NO EMBARAZADAS) (n=20)**

PARÁMETROS	INCUBACIÓN		SIGNIFICANCIA
	ANTES	DESPUES	
ERO (nmol/mL/min)			
MDA (nmol/L)			
AU (mg/L)	0,55±0,92	0,60±0,25	NS
SOD (UF)	9,50±0,92	10,32±1,11	NS
GSHpx (UI/L)	16,11±3,35		NS
pH	7,00±0,50		
Flujo salival (mL/hora)	32,00±15,00 N		
Filancia	100% N		

N=Normal NS=No Significativo

**TABLA 2. CONTROL
(EMBARAZADAS) (n=22)**

PARÁMETROS	INCUBACIÓN		SIGNIFICANCIA
	ANTES	DESPUES	
ERO (nmol/mL/min)	0,11±0,01	0,31±0,02	S
MDA (nmol/L)		14,10±2,90	S
AU (mg/L)	0,65±0,50	0,95±0,60	NS
SOD (UF)	32,61±2,18	31,90±1,40	NS
GSHpx (UI/L)	17,45±3,90	15,70±3,60	NS
pH	6,28±0,52		
Flujo salival (mL/hora)	32,48±19,63 N		
Filancia	64% N 36% <		

N=Normal <=Disminuida S=Significativo NS=No Significativo

**TABLA3. CONTROL
(EMBARAZADAS POST TRATAMIENTO) (n=22)**

PARÁMETROS	INCUBACIÓN		SIGNIFICANCIA
	ANTES	DESPUES	
ERO (nmol/mL/min)		0,05±0,01	S
MDA (nmol/L)		4,13±1,60	S
AU (mg/L)	1,75±0,70	2,40±0,70	S
SOD (UF)	60±2,10	60±1,70	NS
GSHpx (UI/L)	15,32±4,80	14,80±6,10	NS
pH	7,19±0,265		
Flujo salival (mL/hora)	32,53±14,60 N		
Filancia	100% <		

N=Normal <=Disminuida S=Significativo NS=No Significativo

respectivamente (4), siendo lógico pensar y esperar, que también actúen en la saliva y nos muestren que al alterarse el balance entre la producción de ERO y los mecanismos de defensa, determinen un "estrés oxidativo" salival, que puede agravar aún más, las patologías orales más frecuentes tales como: caries y gingivitis¹⁵.

Vemos que los datos obtenidos en este trabajo con la actividad de la GSHpx revelan que no hay variaciones (S), lo que daría a entender que la producción de H₂O₂ en saliva es escasa o la actividad de la enzima es constante y eficiente.

Observamos también, que si no existen ERO ni MDA en bocas con gingivitis leves de NE, al aparecer en el 2T de embarazo, con gingivitis aumentada, permiten suponer cierta responsabilidad de estos parámetros sobre esta patología prevalente. El aumento de la actividad de la SOD respecto a lo encontrado en las NE significaría un excelente mecanismo de defensa (endógeno) debido a la producción progresiva de radical superóxido durante el embarazo. La presencia de MDA indicaría la confirmación de LP a causa del accionar de las ERO sobre las cadenas insaturadas de los ácidos grasos del aceite comestible, de consumo diario en nuestro medio y esta LP se vería disminuida después del tratamiento post-incubación. Pero lo más importante para nosotros y en nuestras condiciones experimentales, es confirmar en salivas lo que Becker y col. (9), habían postulado respecto al AU y su efecto antioxidante en diferentes tejidos.

CONCLUSION

Todo lo antes mencionado, permite concluir, que sí existe asociación entre la saliva total estimulada y el metabolismo oxidativo (producción y eliminación de ERO), habiendo observado, que en las mujeres NE hay un balance oxidativo y que se altera durante el embarazo, en especial en el 2T y que, las correcciones, pueden ser atribuidas a la SOD y al AU salival.

BIBLIOGRAFIA

1. Listergarten, M. Pathogenesis of periodontitis. J.Clin.Periodontol.13:426-435, 1986.
2. Jensen,J.,Lijemark,W. The effects of female sex hormones on sub-

gingival plaque.J.Periodontol. 52: 599-603, 1981.

3. Pankhurst,C., Waite,I.,Hicks,K. The influence of oral contraceptive therapy on the periodontium-duration of drug therapy.J. Periodontol. 52:617-620, 1981
4. Halliwell,B. Oxidants and human disease: some new concepts. FASEB J.1:358-364, 1989.
5. Molina,H.,Corvalán,M., Abud,M., Maggio,S. Clinical and biological aspects of oxygen free radicals. Acta Bioq.Clin.Latinoam. 4:513-518, 1993.
6. Barrios,G., Caffesse,R. Odontología: su fundamento biológico. 1ªEd.Vol.1 pp 171-173. Bogotá.Ed.Astral. 1993.
7. Terao,J., Nagao,A. Antioxidative effects of human saliva on lipid peroxidation. Agr.Biol. Chem. 55:869-872,1991.
8. Molina,H., Corvalán,M., Maggio,S., Abud,M. Oxidative stress: defense mechanisms and parameters involved. Pren. méd, arg. 80:153-156, 1993.
9. Becker,F.Towards the physiological function of uric acid. Free Radic. Biol. Med.14:615-631,1993.
10. Torrelles,J.,Guerin,M. Murexide bleaching: a new direct assay method for characterizing oxygen species. Biochemie. 71:1231-1234, 1989.
11. Richard,M., Portal,B. Malondialdehyde kit evaluated for determining lipoprotein fraction that react with thiobarbituric acid. Clin.Chem. 38:704-709, 1992.
12. Segura Aguilar, J. A new direct method for determining superoxide dismutase activity. Chem.Biol. Interactions. 86:69-78, 1993.
13. Flohe,L. Glutathione peroxidase brought into focus. Free Radic.Biol. 5:223-254, 1982.
14. Gazy,M. Unusual pigmentation on gingiva: report of two different types. Oral Surg.Med. Pathol. 62:646-650, 1986.
15. Vernillo,A., Schwartz,N. The effects of phenytoin on human gingival fibroblasts in culture. J. Periodontol. Res. 22:307-311, 1987.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la inestimable colaboración de las biotecnólogas Miriam García (Facultad de Medicina, U.N de Cuyo) y María Quintal (Centro de Salud N°14), en el desarrollo de este trabajo.

Correspondencia:

Martha García de Corvalán.
Castellanos 1202 - Domeya 5519
Guaimallen, Mendoza, Argentina.