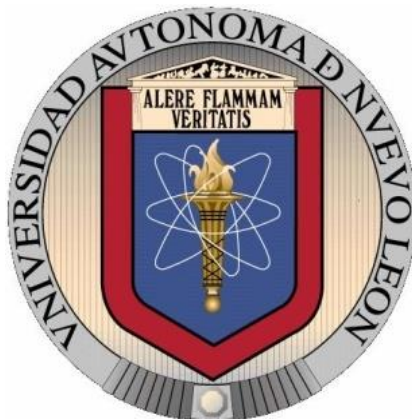


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



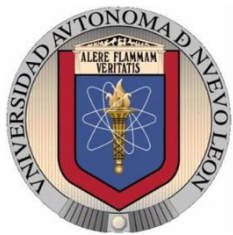
**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO
AMINOTRANSFERASA EN SALIVA DE PACIENTES
EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD
PERIODONTAL**

POR

FERNANDO DE JESÚS MARTÍNEZ ARRONIZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

FEBRERO, 2020



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO
AMINOTRANSFERASA EN SALIVA DE PACIENTES
EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD
PERIODONTAL**

POR

FERNANDO DE JESÚS MARTÍNEZ ARRONIZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

FEBRERO, 2020

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ DE TESIS

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO AMINOTRANSFERASA
EN SALIVA DE PACIENTES EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL**

COMITÉ DE TESIS

Dra. Gloria Martínez Sandoval
Director de Tesis

Dra. María Gabriela Chapa Arizpe
Co-Director de Tesis

Dra. Aída Ortega Cambranis
Asesor

Dra. Citlalli Gambóa Estéves
Asesor

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ ACADÉMICO

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO AMINOTRANSFERASA
EN SALIVA DE PACIENTES EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA
ENFERMEDAD PERIODONTAL**

COMITÉ ACADÉMICO DE MAESTRÍA

Presidente

Secretario

Vocal

DEDICATORIA

Dedicatoria:

A mi familia por su apoyo incondicional... siempre.

A mis amigas y amigos.

La humildad nos hace comprender que tenemos mucho por mejorar, mucho por aprender y ocuparnos por la tarea de crecer.

Andrea M.B

AGRADECIMIENTOS

A los académicos y asesaras de la Universidad Autónoma de Nuevo León y de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por su apreciable y valioso apoyo y tiempo en la realización de esta tesis.

Muchas Gracias.

TABLA DE CONTENIDO

Sección

AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	ix
NOMENCLATURA	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1.INTRODUCCIÓN	1
2.HIPÓTESIS	3
3.OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general	4
3.2 Objetivos específicos	4
4.ANTECEDENTES	5
4.1 Enfermedad Periodontal.	5
4.1.1 Patógenos Periodontales y Biopelícula.	8
4.2 Periodonto y Periododntitis.	9
4.3 Biomarcador o Marcador Biológico.	11
4.4 Aspartato Aminotransferasa (AST).	12
4.5 Saliva.	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS	14
5.1 Diseño de Estudio.	14
5.2 Universo de Estudio.	14
5.3 Tamaño de Muestra.	14
5.4 Criterio de Selección.	14
5.5 Descripción de procedimientos.	15
5.5.1 Evaluación de pacientes.	15

5.5.2 Toma de Muestra Salival.	15
5.5.3 Análisis de Aspartato Aminotransferasa.	16
5.5.3.1. Preparación de Muestras y del Espectrofotómetro.	16
5.5.3.2 Preparación de Reactivos	17
5.5.3.3 Preparación de Muestra a analizar.	18
5.6 Interpretación de los datos de Absorbancia.	20
5.7 Consideraciones Éticas	20
6.RESULTADOS	21
6.1 Análisis estadístico.	22
7.DISCUSIÓN	24
8.CONCLUSIÓN	28
9.ANEXOS	29
9.1 Consentimiento Informado	29
9.2 Historia Clínica	29
9.3 Periodontograma	30
10.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
11.RESUMEN BIOGRÁFICO	35

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>	<u>Página</u>
1. Periodonto clínicamente sano	5
2. Gingivitis.	5
3. Estadío I Periodontitis Inicial	6
4. Estadío II Periodontitis Moderada.	6
5. Estadío III Periodontitis severa con potencial para pérdida dental adicional.	6
6. Estadío IV Periodontitis severa con potencial para la pérdida de la dentición.	6
7. Asociación entre diversas alteraciones sistémicas y los patógenos de cavidad oral.	7
8. Recolección de saliva.	16
9. Celdas para medición en espectrofotómetro	17
10. Espectrofotómetro Génesis 20	17
11. Reactivo de trabajo (RT)	18
12. Micropipeta Rainin	19
13. Lectura de Absorbancia	19
14. Aspartato aminotransferasa	25
15. Formación de Malato	25

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
1	Resultados de las muestras de saliva	22
2	Análisis estadístico	22
3	Sustancias y concentraciones de los reactivos	24

NOMENCLATURA

ATS	Aspartatoaminotransferasa.
EMB	Grupo de mujeres embarazadas.
EP	Grupo de mujeres con enfermedad periodontal.
EMB/EP	Grupo de mujeres embarazadas y con enfermedad peiodontal.
FGC	Saliva y fluido gingival crevicular.
NIC	Nivel de inserción clínico.
PS	Profundidad al sondaje.

RESUMEN

En la enfermedad periodontal se observan procesos inflamatorios en los que participan moléculas que, además de concentrarse en la saliva, pueden ser útiles como indicadores de daño tisular. Mediante la cuantificación espectrofotométrica de los niveles de aspartato aminotransferasa en saliva, el presente estudio reporta un incremento de dicha enzima en la saliva de pacientes con enfermedad periodontal, en pacientes grávidas y en pacientes grávidas con enfermedad periodontal, en comparación con mujeres sanas. Lo anterior sugiere que la saliva contiene biomarcadores que pueden cuantificarse mediante métodos no invasivos, sencillos y rápidos. Aunado a lo anterior, el presente estudio sugiere que con este método es posible determinar un diagnóstico temprano de la enfermedad periodontal y así diseñar tratamientos adecuados para las pacientes, además de evitar complicaciones en el embarazo. **Objetivo:** Determinar los niveles de aspartato aminotransferasa en saliva no estimulada en pacientes grávidas y no grávidas con y sin enfermedad periodontal. **Metodología:** Se analizaron muestras de saliva de pacientes grávidas en el segundo trimestre de gestación y no grávidas entre 20 y 35 años de edad a (con y sin enfermedad periodontal) que acudieron a la clínica de la Facultad de Estomatología de la BUAP. El análisis se realizó con un kit para la determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa en un espectrofotómetro con longitud de onda de 340 nm. **Resultados:** los niveles de aspartato aminotransferasa en pacientes grávidas con y sin enfermedad periodontal aumentan en comparación con mujeres sanas y no grávidas. **Conclusiones:** la saliva es un fluido cuyos biomarcadores como la AST puede emplearse para determinar el estado de enfermedad periodontal en pacientes grávidas y así evitar complicaciones en el parto.

ABSTRACT.

Inflammatory processes are observed in periodontal disease. Many molecules are present in saliva and may be useful as indicators of tissue damage. Amino transferase is an enzyme that could be quantified by spectrophotometric methods. In this study, increased levels of salivary AST of pregnant patients with or without periodontal disease were observed in comparison to healthy women. This suggests that saliva contains useful biomarkers that can be quantified by non-invasive, simple and rapid methods. In addition, the present study suggests that it is possible to determine an early diagnosis of periodontal disease with this method, and thus design appropriate treatments for patients, in addition to avoiding complications in pregnancy. **Objective:** To determine aspartateaminotransferase levels in unstimulated saliva of pregnant and non-pregnant patients with and without periodontal disease. **Methodology:** Saliva samples were analyzed from pregnant and non-pregnant patients in the second trimester of pregnancy, and between 20 and 35 years old (with and without periodontal disease). Women attended at the clinic of the School of Stomatology (BUAP). The analysis was carried out with a kit for the quantitative determination of aspartateaminotransferase in a spectrophotometer with a wavelength of 340 nm. **Results:** Aspartateaminotransferase levels in gravid patients (with and without periodontal disease) are increased in comparison to healthy and non-pregnant women. **Conclusions:** saliva is a fluid whose biomarkers such as AST can be used to determine the state of periodontal disease in gravid patients in order to avoid complications in childbirth.

1. INTRODUCCIÓN.

La etiología de la enfermedad periodontal está asociada con infecciones de patógenos anaerobios que crecen y se reproducen en el surco gingival. En la etapa inicial, se observa inflamación gingival provocada principalmente por la placa bacteriana que descansa en los órganos dentarios adyacentes a la encía. En esta etapa no se pierden estructuras de soporte subyacentes y se desarrolla lo que se conoce como gingivitis. En su forma más grave, la enfermedad periodontal evoluciona a una periodontitis, caracterizada por inflamación crónica de los tejidos, sangrado gingival, formación de bolsas periodontales; destrucción del ligamento periodontal, del cemento radicular y del hueso alveolar, en consecuencia pérdida de órganos dentarios.

La prevalencia e incidencia de la enfermedad periodontal se identifican principalmente en la población adulta, especialmente en pacientes que presentan afecciones inmunológicas, cambios hormonales, antecedentes hereditarios de lesiones bucales, conductas de poca higiene oral, tabaquismo, entre otras. De hecho, año con año se incrementa el número de evidencias clínicas y científicas que sugieren una importante asociación entre la enfermedad periodontal y diversas alteraciones sistémicas no orales, tales como: cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, infecciones del tracto respiratorio, padecimientos cardiovasculares y neurodegenerativos, y situaciones adversas del embarazo. No obstante, queda por establecer si los patógenos periodontales estimulan el desarrollo de las alteraciones sistémicas no orales, o si la enfermedad sistémica provoca el aumento de la población bacteriana en el periodonto.

La microbiota puede causar inflamación oral, pero también puede contribuir directamente a la inflamación sistémica, aumentando la liberación de toxinas o la fuga de microorganismos hacia el torrente sanguíneo. La asociación entre la inflamación oral y la inflamación sistémica es fundamental para comprender cómo la enfermedad periodontal está involucrada en el desarrollo de una alteración no oral.

Establecer un diagnóstico precoz de la enfermedad periodontal, favorecería la detección temprana de posibles complicaciones tanto orales como no orales, y con esto se podrían implementar estrategias preventivas, tratamientos óptimos y eficaces. Lo anterior podría ser posible considerando que la respuesta a la enfermedad periodontal incluye la liberación de biomarcadores que pueden identificarse fácilmente en la saliva y en el fluido gingival crevicular. De esta manera, se establecerían métodos no invasivos y de fácil recolección para determinar cuantitativamente la actividad inflamatoria y el nivel de destrucción tisular oral o sistémico.

Un biomarcador o marcador biológico es una molécula cuya concentración puede determinarse de manera cuantitativa para ser evaluada como indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. Entre las moléculas que se han estudiado como biomarcadores en la saliva y en el fluido gingival crevicular se encuentran enzimas, inmunoglobulinas, hormonas, interleuquinas, citoquinas, quimioquinas, prostaglandinas, toxinas bacterianas.

La aspartato aminotransferasa (ATS) es una enzima citoplasmática presente principalmente en algunos tejidos corporales como el hígado, corazón y músculo esquelético. La liberación de AST hacia el medio extracelular está asociada con daño y destrucción tisular, por lo que la medición de los niveles de esta enzima en la saliva, como ya lo reportan algunos estudios, puede resultar importante en el diagnóstico precoz de la enfermedad periodontal y su posible asociación con complicaciones no orales como lo es el embarazo.

Las infecciones maternas pueden contribuir al desarrollo de enfermedad periodontal y provocar resultados adversos en el embarazo, que incluyen parto prematuro, rotura prematura de las membranas, preeclampsia, aborto espontáneo, retraso del crecimiento intrauterino, bajo peso al nacer, muerte fetal y sepsis neonatal. Aproximadamente el 40% de las mujeres grávidas muestran evidencias clínicas de este padecimiento. Aunado a lo anterior, la detección temprana con métodos de recolección salival no invasivos de enfermedad periodontal podría evitar las complicaciones mencionadas en el embarazo.

2. HIPÓTESIS.

Los niveles de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) se elevan en pacientes embarazadas con y sin enfermedad periodontal, en comparación con pacientes sanas.

3. OBJETIVOS.

3.1 OBJETIVO GENERAL:

Analizar y comparar los niveles aspartato aminotransferasa en la saliva no estimulada de pacientes grávidas con y sin enfermedad periodontal y en pacientes no grávidas con y sin enfermedad periodontal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar las concentraciones de AST en U/L (unidades por litro) en la saliva de las pacientes, empleando el método espectrofotométrico.
2. Comparar los resultados obtenidos para establecer la utilidad del método no invasivo de recolección de saliva y la determinación de los niveles de AST como biomarcador.

4. ANTECEDENTES.

4.1 Enfermedad periodontal.

La enfermedad periodontal es uno de los padecimientos inflamatorios más comunes en la población adulta. Se ha reportado que aproximadamente 3.9 billones de personas en el mundo tienen enfermedad periodontal, por lo que se ha considerado incluso, como una pandemia que se acompaña de discapacidad, deterioro del habla, baja autoestima y disminución en la calidad de vida (1, 2-3). Las lesiones periodontales pueden afectar la encía sana (Fig.1), provocando inflamación de ésta, condición que se conoce como gingivitis (Fig. 2), la cual, se considera como la forma leve o moderada de la enfermedad. Si la inflamación es crónica, la enfermedad evoluciona hasta su forma severa conocida como periodontitis (Fig. 3) en sus diferentes etapas. En la etapa inicial, es decir, en la gingivitis inducida por biopelícula dental (Fig.2) se observa inflamación gingival sin pérdida de órganos dentarios; mientras que, en la etapa avanzada, periodontitis, se manifiestan complicaciones como sangrado y pérdida de órganos dentarios (Fig. 4,5,6) (Caton Jack G. 2018)



Figura 1.Periodonto clínicamente Sano



Figura 2. Gingivitis



Figura 3. Estadío I: Periodontitis inicial



Figura 4. Estadío II: Periodontitis moderada



Figura 5. Estadío III: Periodontitis severa con potencial para pérdida dental adicional



Figura 6. Estadío IV Periodontitis Severa con potencial para pérdida de la dentición.

Figuras1-6 : fotografías de pacientes propios que representan el estado físico clínico de las diferentes estadíos de la enfermedad Periodontal basados en la Severidad.

La etiología de la enfermedad periodontal se debe a ciertas bacterias de la cavidad oral. El estudio de los patógenos periodontales y la inflamación ha recibido mucha atención en los últimos años debido a su potencial influencia en la periodontitis y en el desarrollo de enfermedades sistémicas. Las evidencias, cada vez en aumento, señalan que existen asociaciones entre las enfermedades orales con diversos padecimientos no orales como el cáncer colorectal, enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales, diabetes tipo 2, infecciones del tracto respiratorio, patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, complicaciones en el parto, entre otras (3) (Fig. 2).

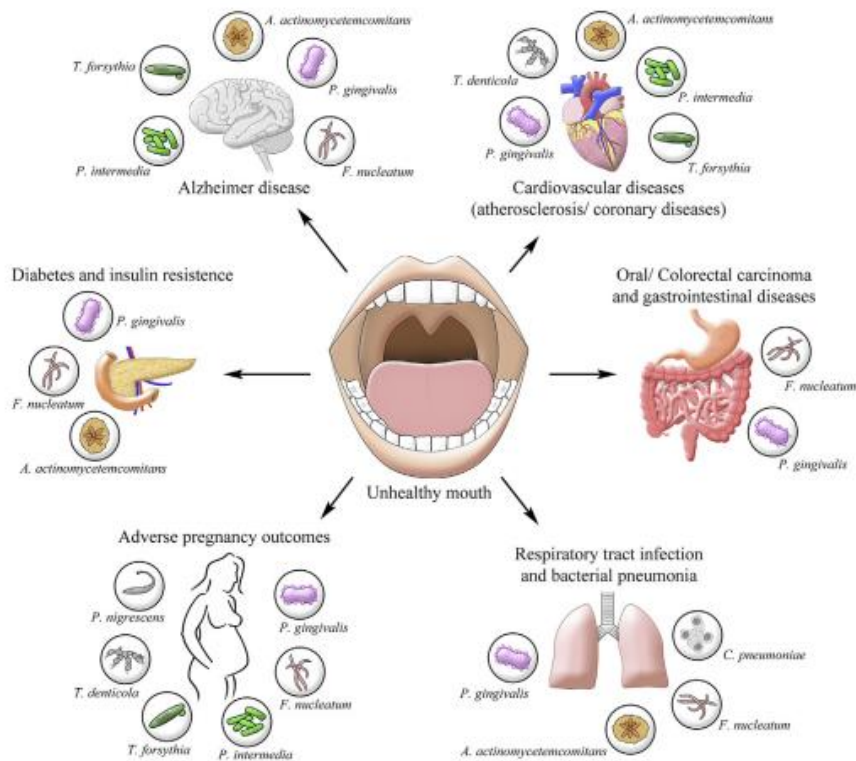


Figura 7. Asociación entre de diversas alteraciones sistémicas y los patógenos de la cavidad oral. Imagen adaptada de Bui *et al*, 2019 (3).

Sin embargo, aún queda por establecer si los patógenos periodontales específicos estimulan el desarrollo de enfermedades sistémicas, o si la enfermedad sistémica provoca el crecimiento y desarrollo de bacterias (biopelícula) en la cavidad oral. Si estos patógenos son los causantes de enfermedades sistémicas no orales, entonces serían el objetivo obvio para diseñar intervenciones terapéuticas. No obstante, por lo menos, en un sentido básico y práctico, estos microbios resultan ser marcadores biológicos que pueden predecir la susceptibilidad para desarrollar un padecimiento no oral.

Los patógenos periodontales pueden promover el desarrollo de enfermedades no orales de manera directa o indirecta, ya que pueden migrar hacia el torrente sanguíneo. La acumulación de bacterias en los órganos dentarios debido a una pobre higiene dental y/o a factores ambientales induce una respuesta inflamatoria que puede resultar en periodontitis y la pérdida ósea (7-3) y podría ser también dañina sistémicamente para el huésped (3).

4.1.1 Patógenos periodontales y biopelícula.

En la cavidad oral coexisten alrededor de 500 a 700 taxones bacterianos, que integran lo que se conoce como microbiota, microflora o microbioma oral (8,10-3). La saliva, el epitelio gingival y el biofilm, son los sitios principales donde se alojan estos patógenos. Sin embargo, alrededor de 30 especies de bacterias, principalmente patógenos anaerobios Gram-negativos, producen endotoxinas que pueden contribuir directamente al desarrollo de la enfermedad periodontal ya alteraciones sistémicas.

Muchos de los microorganismos del microbiota oral se adhieren a la superficie de los órganos dentarios formando una capa o biofilm que se conoce como placa dento bacteriana. En esta capa, las bacterias pueden sobrevivir de tal forma que desarrollan resistencia tanto a los mecanismos inmunológicos del hospedero como a tratamientos con antibióticos (11-3). A medida que esta capa madura, se promueve la disbiosis, es decir, el cambio progresivo de bacterias Gram-positivas a especies Gram-negativas anaerobias que infectan y debilitan el tejido gingival, iniciando procesos inflamatorios y

en consecuencia la enfermedad periodontal (12-3). Cualquier trauma epitelial de la encía como el hecho de cepillarse los dientes, usar hilo dental, e incluso masticar, puede desencadenar el rompimiento de capilares sanguíneos que se encuentren en proximidad de la placa dento bacteriana, y así promover la entrada de patógenos al torrente sanguíneo (14-3). De hecho, la bacteremia se ha observado en pacientes sometidos previamente a tratamientos dentales.

4.2 Periodonto y periodontitis.

El periodonto es la unidad funcional que mantiene y protege al órgano dentario dentro del hueso alveolar, se encuentra formado por diferentes estructuras anatómicas el cemento radicular, el ligamento periodontal, el hueso alveolar y la encía que recubre a estas estructuras; en su porción externa forma parte de la mucosa de la cavidad oral, en la porción interna la encía forma parte de la mucosa masticatoria y se encuentra formada por tejido conectivo fibroso denominado lámina propia, está cubierta por epitelio, recubre al hueso alveolar, se encuentra en contacto directo con el diente y se continúa con el ligamento periodontal. La encía adherida está unida firmemente a la superficie del hueso alveolar y del cemento radicular. La encía libre rodea al cuello del órgano diente y termina el fondo del surco gingival. Éste surco se forma una vez que el diente ha erupcionado, tiene forma de “V” y es poco profunda ubicada entre la encía libre y la superficie dentaria. El epitelio está formado por: el epitelio sulcular (extensión del epitelio bucal no queratinizado y vertiente interna de la encía libre) y el epitelio de unión (deriva del epitelio reducido del esmalte) que es la estructura que forma la verdadera unión del diente con la encía y se le denomina unión dento-gingival, fundamental para la salud dental (T Cate 1996).

La periodontitis se caracteriza por ser una enfermedad infecciosa de etiología multibacteriana en la que se observa pérdida de los tejidos de soporte del diente (ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar) (Listgarten, 1986). Clínicamente se puede determinar la pérdida de inserción clínica y la formación de bolsas periodontales (Flemmig, 1999; González y Rivera, 2017). Esta enfermedad es multifactorial y está asociada a factores microbianos, factores asociados al huésped o

genéticos, factores epigenéticos y aquellos relacionados con hábitos personales, como el tabaquismo (Page et al., 1997; González y Rivera, 2017).

Los parámetros para el diagnóstico clínico de enfermedad periodontal como el nivel de inserción clínico (NIC) y profundidad al sondeo (PS), son de fácil uso, eficaces y poco invasivos. Sin embargo, éstos solo permiten diagnosticar la enfermedad al momento de efectuar la evaluación. La evaluación radiográfica de la pérdida de hueso alveolar y la determinación del NIC mediante una sonda periodontal son también herramientas útiles e indispensables para el diagnóstico (Goodson, 1992). Actualmente se tiene un nuevo esquema de clasificación para las enfermedades y condiciones periodontales y periimplantares, situación que se realizó para facilitar el diagnóstico y decisión de tratamiento, esta nueva clasificación se realizó en conjunto por la Academia Americana de Periodontología (AAP) y la Federación Europea de Periodontología (EFP). Dentro de las enfermedades Gingivales inducidas por placa bacteriana se describen aquellas que son modificadas por factores de riesgo sistémico y entre ellas encontramos a las asociadas a hormonas sexuales como los cambios que se suscitan en el embarazo y que pueden favorecer a la enfermedad periodontal. (Caton Jack G.2018)

En la actualidad la investigación en el diagnóstico de las enfermedades periodontales ha sido dirigida hacia métodos no invasivos que puedan ser cuantificados mediante la identificación de biomarcadores o marcadores biológicos de destrucción (Taba, 2005). La saliva y el fluido gingival crevicular (FGC) son de fácil recolección y contienen biosustancias sistémicas y locales que se derivan de la enfermedad periodontal, por ello podrían servir para la evaluación de estos biomarcadores de periodontitis y otras enfermedades sistémicas (Ozmeric, 2004; Kim, 2013).

La forma no invasiva del análisis de la saliva y el FGC claramente pueden beneficiar la determinación del estado periodontal actual, así como monitorear la respuesta al tratamiento (Zambon et al., 1985). Estudios relacionados con la patogénesis de las enfermedades periodontales usan marcadores bioquímicos e inmunológicos en saliva y FGC para establecer un parámetro cuantitativo de la extensión de la destrucción periodontal, con lo cual se permitiría predecir el progreso de la enfermedad. Dentro de

los biomarcadores que han sido estudiados en la saliva y el FGC para el diagnóstico periodontal incluyen proteínas, enzimas, inmunoglobulinas, interleuquinas, citoquinas, quimioquinas, prostaglandinas, hormonas, y toxinas bacterianas principalmente (Tabla, 2005; Grupta, 2013).

En la literatura se ha descrito que el aumento de la concentración de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa(ALT), gamma glutamiltranspeptidasa GGT, fosfatasa alcalina(ALP) y de la inmunoglobulina A (IgA)en saliva, están relacionados con la enfermedad periodontal (Grupta, 2013, Kim, 2013; Rathnayake, et al., 2017).

Estas enzimas se elevan en saliva de pacientes con enfermedad periodontal, por ello pueden ser consideradas como biomarcadores de la condición funcional de los tejidos periodontales. Lo anterior propone nuevas formas de diagnóstico y de evaluación para estudiar la eficacia de la terapia de la salud periodontal (Zhang, et al., 2012; Dabra, China, Kaushki, 2013; Konerus, 2014).

4.3 Biomarcador o marcador biológico.

El término biomarcador se usa para medir la interacción entre un sistema biológico y un agente (químico, físico o biológico). Los biomarcadores son sustancias que proveen información sobre el estado normal o patológico de un individuo o de una población y permiten comprender con mayor profundidad a las enfermedades para establecer la prevención, diagnóstico, tratamiento y/o conocer la progresión de la enfermedad, así como la respuesta a la terapia (Albertini, 1999; Vainio, 2004; Vand Den Brand et al., 2002; Schulte, Hauser, 2011). Es una molécula cuyos niveles se pueden cuantificar objetivamente y por lo tanto puede ser útil como un indicador entre procesos biológicos sanos y patológicos.

Algunos de los posibles biomarcadores de destrucción periodontal más estudiados y que cuentan con resultados promisorios son la piridinolina (ICTP), osteocalcina, prostaglandina E2 (PGE2), interleuquina 17 (IL-17) y la aspartatoaminotransferasa (AST). González J., Rivera S., 2017:

4.4 Aspartato aminotransferasa (AST).

La aspartatoaminotransferasa (ATS), también conocida como transaminasa glutámico-oxalacética (GOT), es una enzima que se localiza citoplasmáticamente, se encuentra ampliamente distribuida en el corazón e hígado y en menor grado en el músculo esquelético, riñones, páncreas, vaso, pulmones y cerebro. El daño a estos tejidos da como resultado la liberación de AST al medio extracelular, lo cual se asocia con muerte celular y deterioro tisular (Lamster, 1997).

Chambers y colaboradores en 1984 midieron los cambios del nivel de ATS en FGC durante el desarrollo de periodontitis y reportaron un aumento de los niveles de ATS y pérdida de inserción. Persson y colaboradores (1990) relacionaron la elevación de los niveles de ATS en FGC en los sitios con pérdida de inserción y los valores máximos de ATS con inflamación gingival severa.

Rivera y colaboradores (2006) describieron que la actividad de AST aumentó en forma significativa en el FGC de pacientes con enfermedad periodontal cuando se comparó con los sujetos clínicamente sanos, y sugirieron que los tejidos periodontales dañados liberan enzimas citosólicas al FGC

Se ha observado que en mujeres embarazadas con gingivitis o periodontitis independientemente de su estadio o grado asociada, pueden tener alguno de las siguientes complicaciones: partos prematuros, productos con menor peso al nacer, complicaciones de los estados diabéticos preestablecidos o de diabetes gestacional, sufrir problemas con riesgo de eclampsia o preeclampsia, complicaciones por enfermedades renales preestablecidas o desarrolladas durante la preñez si al embarazo se suma (de manera directa o indirecta) diabetes, diabetes gestacional, eclampsia o preeclampsia (López et al., 2002; Castellanos, y Díaz, 2009; Santos-Pereira, 2007; Offenbacher, Beck, 2007; Toygar et al., 2007).

4.5 Saliva.

La saliva es una solución hipotónica secretada en un 90% por las glándulas salivales mayores, incluyendo a las parótidas, sub-mandibulares y sublinguales. Las glándulas salivales presentan una alta permeabilidad y se encuentran rodeadas por abundantes capilares lo que permite un intercambio más ágil de moléculas. Las personas normalmente sanas producen 600 ml de saliva por día. El 99 % de la saliva es agua, en ella se encuentran moléculas como la amilasa salival, mucopolisacáridos, mucinas lisozimas e iones como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- . Entre sus funciones encontramos: limpieza oral eliminando bacterias y detritus, la amilasa salival, presente en la saliva cataliza la hidrólisis de maltosa y glucosa; la lisozima tiene un efecto bactericida. Esto hace de la saliva un elemento importante del sistema inmune en humanos. En la saliva se puede encontrar factores de riesgo para algunas patologías ya que en ella se puede excretar KI, Pb y Hg, o transmitir virus como el de la rabia, hepatitis, polio.

Actualmente la saliva es considerada como una fuente potencial de marcadores biológicos lo que facilitaría pruebas de diagnóstico con métodos no invasivos. La saliva contiene varios tipos de proteínas en su composición, algunas han sido descritas por su actividad protectora contra enfermedades de la cavidad oral. Las diferencias en las concentraciones de algunas de las proteínas presentes en la saliva se relacionan con sujetos con enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus (Rao, et al; 2006), la fibrosis cística (Minarowski, et al; 2008) cáncer oral (Hu, et al; 2007). La presencia de otras proteínas ha sido relacionada con la presencia de caries dental. El diagnóstico con estudios no invasivos no se encuentra limitado a enfermedades de la cavidad oral, permitirá el diagnóstico de enfermedades sistémicas, síndromes, deficiencias hereditarias y en ginecología, principalmente en mujeres embarazadas podría representar un método seguro, no invasivo de primera elección (StepanPodzimek et al., 2016).

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

El diseño de estudio es comparativo, experimental y prospectivo.

5.2 UNIVERSO DE ESTUDIO.

Fueron seleccionados pacientes embarazadas y no embarazadas entre 20 y 25 años de edad (con o sin enfermedad periodontal) sin considerar periodo de embarazo, la muestra poblacional se seleccionó de las pacientes que acuden a la clínica de la Facultad de Estomatología de la BUAP.

5.3 TAMAÑO DE MUESTRA.

Se incluyó una muestra de 22 pacientes en total y se clasificaron en cuatro grupos experimentales de acuerdo a su diagnóstico previamente realizado: grupo de pacientes sanas (S) con 5 personas; grupo de pacientes con enfermedad periodontal (EP) con 6 mujeres; grupo de pacientes grávidas o embarazadas (EMB) con 5 personas; y grupo de pacientes grávidas con enfermedad periodontal (EMB/EP) con 6 participantes.

5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Fueron inclusión pacientes entre 25 y 35 años de edad embarazadas y no embarazadas con y sin enfermedad periodontal. Se excluyeron pacientes fumadoras, con antecedentes enfermedades hepáticas, vasculares o respiratorias, pacientes diabéticas o enfermedades inmunológicas. Se eliminaron Criterios a aquellas pacientes que no acudieron a la citas.

5.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS.

5.5.1 Evaluación de pacientes e historia clínica.

La evaluación la realizó el investigador previo llenado de la historia clínica y autorización del paciente, se realizó análisis clínico periodontal y de acuerdo a los siguientes criterios se determinó la ausencia o presencia de enfermedad periodontal.

Criterios:	
Descripción	Código
Ausencia de inflamación, sin bolsas periodontales con menos del 10% de zonas afectadas	SANO
Inflamación gingival/leve, moderada o severa con presencia de bolsas periodontales en más del 10% de zonas afectadas.	Enfermedad periodontal

5.5.2 Toma de muestra salival

A las pacientes seleccionadas se les indicó no cepillar sus dientes, ni consumir alimentos por lo menos una hora antes a la toma de saliva. Se les solicitó depositar la saliva no estimulada en un tubo estéril de 15 ml (Fig. 3) hasta conseguir un volumen entre 0.1 y 1 ml de muestra. El tubo se rotuló con las iniciales de la paciente y de acuerdo con su estado de salud. Las muestras se guardaron a 2-8 grados C (Navazesh, 1993) para su posterior análisis en un espectrofotómetro uv-visible.

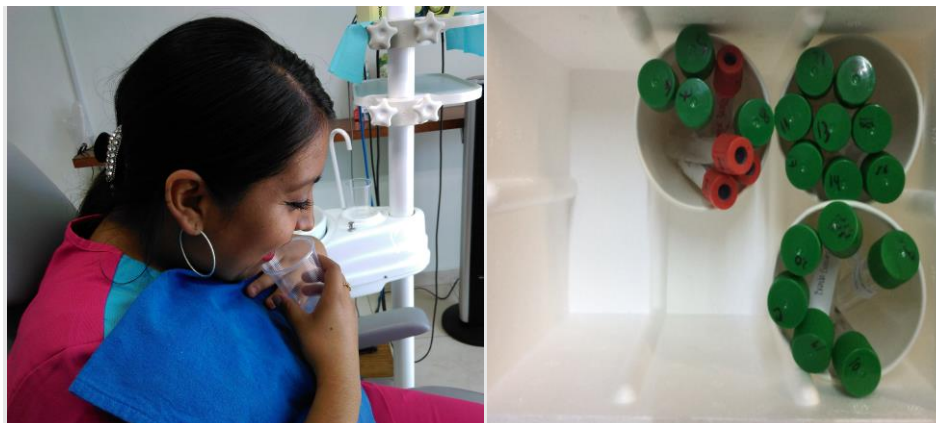


Figura 8. En la imagen izquierda se muestra el procedimiento para recolectar la saliva no estimulada por el método de escurrimiento. En la imagen derecha se muestran los tubos rotulados que contenían la muestra.

5.5.3 Análisis de aspartato aminotransferasa

Una vez obtenidas, las muestras de saliva se analizaron en un espectrofotómetro Genesys 20 (ThermoSpectronic), el cual permite mediciones sencillas en el rango correspondiente a 325-1100 nm. La actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) se determinó espectrofotométricamente y de acuerdo a las instrucciones de los reactivos de la casa comercial Spinreact. El procedimiento se detalla a continuación:

5.5.3.1 Preparación de las muestras y del espectrofotómetro.

Las muestras se incubaron a temperatura ambiente y constante (25° C) durante 30 minutos. Durante este período se preparó el espectrofotómetro de acuerdo con el manual de Thermo Spectronic para medir la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 340 nm. Se utilizaron celdas (cubetas) desechables, estériles y libres de ARNasas, con 1 cm de paso de luz (UVette Eppendorf) (Fig. 4). Así mismo, el blanco del análisis se realizó con agua destilada de acuerdo con las instrucciones de Spinreact (Fig. 5).



Figura 9. Cubetas o celdas desechables para mediciones espectrofotométricas con una base cuadrangular de 1 x 1 cm. Los reactivos para realizar el análisis también se muestran en la imagen (frascos ámbar de tapa blanca y azul).

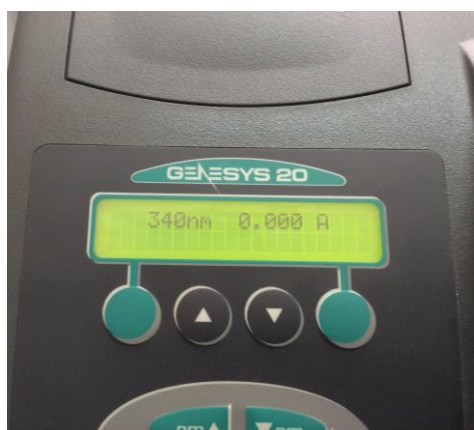


Figura 10. Espectrofotómetro Genesys 20 ajustado a cero de absorbancia (A) a 340 nm con agua destilada.

5.5.3.2 Preparación de los reactivos.

Los reactivos 1 y 2 se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se describen a continuación:

- a) Reactivo 1 (amortiguador): Tris pH 7.8 (80 mmol/l), lactato deshidrogenasa (800 U/l), malato deshidrogenasa (600 U/l), L-aspartato (200 mmol/l).

b) Reactivo 2 (sustrato): NADH (0.18 mmol/l), α -cetoglutarato (12 mmol/l).

A un volumen de reactivo 2 se le añadieron 4 volúmenes de reactivo 1 para obtener el reactivo de trabajo (RT). La determinación de la actividad enzimática de AST se realizó añadiendo 100 μ l de muestra de saliva a 1 ml de RT, por lo que se preparó un volumen total de 30 ml de RT, lo cual correspondió a 6 ml de reactivo 1 más 24 ml de reactivo 2. (Fig. 6).



Figura 11. Preparación de 30 ml de reactivo de trabajo RT. Se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente. Frasco con tapa blanca corresponde al reactivo 1. Frasco con tapa azul corresponde al reactivo 2.

5.5.3 Preparación de las muestras a analizar.

Con una micropipeta de rango de volumen entre 20 y 200 μ l se midió 100 μ l de la primera muestra de saliva y se añadió a 1 ml de reactivo de trabajo (RT) previamente colocado en la celda o cubeta, figura 7. Se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente (25 grados C) se puso en marche el cronómetro y se leyó la absorbancia cada minuto durante tres minutos, figura 8. Para las siguientes muestras se procedió de la misma manera.



Figura 12. Micropipeta (Rainin, de 20-200 μ l) para medir el volumen de saliva.



Figura 13. Lectura de la absorbancia de la muestra (se muestra un ejemplo). Se obtuvieron tres mediciones por muestra.

La AST es una enzima que cataliza la transferencia de un grupo amino del L-aspartato al α -cetoglutarato, produciendo glutamato y oxaloacetato. El oxaloacetato se reduce a malato en presencia de malato deshidrogenasa y de nicotinamín adenín dinucleótido en su forma reducida (NADH). La velocidad en la que disminuye la concentración de NADH en la solución es proporcional a la concentración catalítica de AST en la solución, es decir si en la muestra está presente la enzima AST, entonces habrá una disminución de NADH. Esta disminución puede medirse de acuerdo con el

rango de absorción de NADH, el cual resulta óptimo a la longitud de onda de 340 nm. Por lo tanto, la absorbancia medida es en realidad es en realidad una medida proporcional de lo que queda de NADH sin reaccionar en la solución RT.

5.6 Interpretación de los datos de absorbancia.

La AST es una enzima que cataliza la transferencia de un grupo amino del L-aspartato al α -cetoglutarato, produciendo glutamato y oxaloacetato. El oxaloacetato se reduce a malato en presencia de malato deshidrogenasa y de nicotinamín adenín dinucleótido en su forma reducida (NADH). La velocidad en la que disminuye la concentración de NADH en la solución es proporcional a la concentración catalítica de AST en la solución, es decir si en la muestra está presente la enzima AST, entonces habrá una disminución de NADH. Esta disminución puede medirse de acuerdo con el rango de absorción de NADH, el cual resulta óptimo a la longitud de onda de 340 nm. Por lo tanto, la absorbancia medida es en realidad es en realidad una medida proporcional de lo que queda de NADH sin reaccionar en la solución RT.

5.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud":

- Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.
- Título tercero. De la investigación de nuevos **recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación**. Capítulo I Artículos 61-64 Cuando se realice investigación en seres humanos sobre nuevos (o se modifiquen) recursos profilácticos, dx, terapéuticos o rehabilitación, además deberán solicitar autorización de la Secretaría presentando documentación requerida.

6. RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en el presente estudio. En rosa pálido se agrupan las pacientes sanas (SANA). En azul las pacientes con enfermedad periodontal (EP). En verde las pacientes grávidas o embarazadas (EMB). En rosa las pacientes con enfermedad periodontal y grávidas (EMB/EP). Los datos generales incluyen: número de muestra procesada en el espectrofotómetro; iniciales, edad y estado de salud (incluyendo los meses de gestación si es el caso) de las pacientes. En seguida, se muestra la lectura de las absorbancias (ABS) obtenidas en cada minuto. La columna siguiente, contiene la varianza de las absorbancias entre los minutos, es decir, el valor absoluto de la diferencia entre las absorbancias medidas en los minutos 1 y 2 y los minutos 2 y 3. Los datos de la varianza representan la velocidad de cambio de las absorbancias por minuto, es decir qué tan rápido está disminuyendo NADH por la presencia de AST. Posteriormente, la columna que sigue, muestra el promedio de la varianza ($\Delta A/\text{min}$). Finalmente, se muestra el producto de $\Delta A/\text{min}$ por el factor 1750 en la última columna.

DATOS GENERALES				ABSORBANCIA (ABS)			VARIANZA DE ABS ENTRE LOS MINUTOS (ΔA)		PROMEDIO/MIN	($\Delta A/\text{min}$)*1750
MUESTRA	PACIENTE	EDAD	OBSERVACION	1min	2min	3min	Minutos 1 y 2	Minutos 2 y 3	($\Delta A/\text{min}$)	U/L
20	AS	21	SANA	0.604	0.603	0.604	0.001	0.001	0.001	1.75
15	ARS	22	SANA	0.589	0.589	0.588	0	0.001	0.0005	0.875
9	DD	26	SANA	0.588	0.587	0.588	0.001	0.001	0.001	1.75
12	GE	23	SANA	0.583	0.583	0.584	0	0.001	0.0005	0.875
11	DS	26	SANA	0.579	0.579	0.58	0	0.001	0.0005	0.875
22	LL	35	EP	0.629	0.629	0.627	0	0.002	0.001	1.75
21	MFS	23	EP	0.623	0.622	0.621	0.001	0.001	0.001	1.75
19	BG	23	EP	0.619	0.619	0.618	0	0.001	0.0005	0.875
1	JM	35	EP	0.588	0.59	0.59	0.002	0	0.001	1.75
14	LI	26	EP	0.581	0.581	0.58	0	0.001	0.0005	0.875
17	JD	27	EP	0.581	0.58	0.579	0.001	0.001	0.001	1.75
8	DLT	20	EMB/3/SANA	0.651	0.651	0.651	0	0	0	0
10	SM	35	EMB/3/SANA	0.588	0.587	0.587	0.001	0	0.0005	0.875
6	AH	24	EMB/2/SANA	0.672	0.669	0.668	0.003	0.001	0.002	3.5
18	SG	24	EMB/2/SANA	0.586	0.586	0.584	0	0.002	0.001	1.75
16	CJ	23	EMB/2/SANA	0.579	0.578	0.579	0.001	0.001	0.001	1.75
5	MG	20	EMB/2/EP	0.691	0.691	0.691	0	0	0	0
3	SC	27	EMB/2/EP	0.662	0.66	0.659	0.002	0.001	0.0015	2.625
13	VR	35	EMB/2/EP	0.607	0.606	0.606	0.001	0	0.0005	0.875
7	IQ	20	EMB/2/EP	0.589	0.59	0.59	0.001	0	0.0005	0.875
4	FD	30	EMB/1/EP	0.651	0.649	0.647	0.002	0.002	0.002	3.5
2	AM	25	EMB/1/EP	0.628	0.628	0.627	0	0.001	0.0005	0.875

Tabla 1. Resultados de la muestras de saliva colectada por el método de escurrimiento.

La multiplicación por el factor 1750 se debe a que la actividad enzimática de la AST depende del “ε” (coeficiente de extinción molar o absorptividad) del NADH a 340 nm, el cual tiene un valor de 0.00622 (M⁻¹· cm⁻¹). La actividad en unidades por litro (U/L) de AST es la cantidad de enzima que produce 1 nmol/L de NADH por minuto.

$$U/L = (\Delta A/\text{min}/\text{absortividad}) \times (\text{volumen total}/\text{volumen de la muestra})$$

$$U/L = (\Delta A/\text{min}/0.00622) \times (1.1 \text{ ml}/0.1 \text{ ml})$$

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 1746$$

Aproximando a 1750

$$U/L = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μmol de sustrato por minuto en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L) por ello en la tabla se muestra en la última columna los valores en U/L..

6.1. Análisis estadístico

Se obtuvo el promedio de las U/L por grupo. Los datos se normalizaron con respecto al grupo de pacientes sanas y se graficó el porcentaje (pacientes/sanas) * 100. La desviación estándar y el error estándar se obtuvieron utilizando el programa Excel. Para el análisis estadístico se empleó el programa Sigma Plot, versión 11.0. Se aplicó una prueba t de Student, comparando cada uno de los grupos contra el grupo de pacientes sanas. Los resultados se muestran en la gráfica 1. La comparación de los grupos contra el control muestra una $p \leq 0.001$, indicando que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos comparados. Alfa = 0.005.

SALUD	PROMEDIO	NORMALIZACIÓN	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ERROR ESTÁNDAR	P
SANA	1.225	100	0.47925724	0.21433035	= 1
EP	1.458333333	119	0.45184806	0.1844662	≤ 0.001
EMB	1.575	129	1.29783474	0.58040934	≤ 0.001
EMB/EP	1.458333333	119	1.31735214	0.53780676	≤

					0.001
--	--	--	--	--	-------

Tabla 2. Análisis estadístico

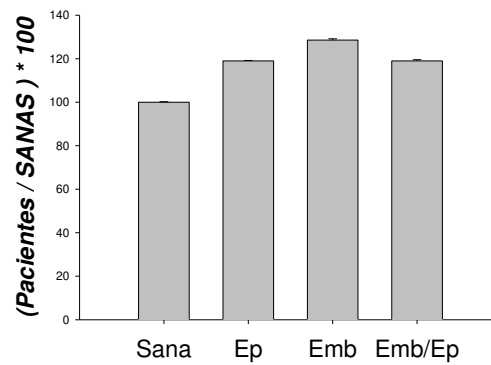


Figura 9. Los grupos de pacientes con enfermedad periodontal (EP), grávidas (EMB), y grávidas con enfermedad periodontal (EMB/EP), también se analizaron con la prueba T. Los resultados mostraron que entre el grupo EP y EMB existe una diferencia significativa ($p \leq 0.001$), al igual que entre EMB y EMB/EP. Entre el grupo EP y EMB/EP no existe diferencia significativa, $p \geq 1$.

7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinaron los niveles de aspartato aminotransferasa (AST) en la saliva no estimulada de pacientes grávidas y no grávidas, que fueron diagnosticadas con enfermedad periodontal o sin enfermedad periodontal. Para la evaluación de las concentraciones de la enzima en unidades por litro (U/L), se empleó el método espectrofotométrico. Este método está basado en la cuantificación de la absorbancia de NADH (nicotin adenín dinucleótido en su forma reducida) que queda en solución una vez que ha reaccionado la enzima AST. La detección de los niveles de AST está basada en el acoplamiento de dos reacciones químicas que se describen a continuación.

Inicialmente se tiene una solución que designamos como reactivo de trabajo (RT). De acuerdo con las instrucciones del fabricante o la casa comercial Spinreact esta solución RT contiene una mezcla de los siguientes reactivos (ver material y métodos):

Reactivo	Sustancias	Concentración
R1 (tampón)	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 U/L
	L-Aspartato	200 mmol/L
R2 (sustrato)	NADH	0.18 mmol/L
	□-cetoglutarato	12 mmol/L

Tabla 3. Sustancias y concentraciones de los reactivos R1 y R2 que se mezclan en la reacción de trabajo RT de acuerdo a las instrucciones de la casa comercial Spinreact.

En presencia de la enzima AST, el grupo amino ($-\text{NH}_3^+$) del L-aspartato (R1) se transfiere al α -cetoglutarato (R2), ya que, como su nombre lo indica, la actividad de la enzima consiste en catalizar la reacción de la figura 10.

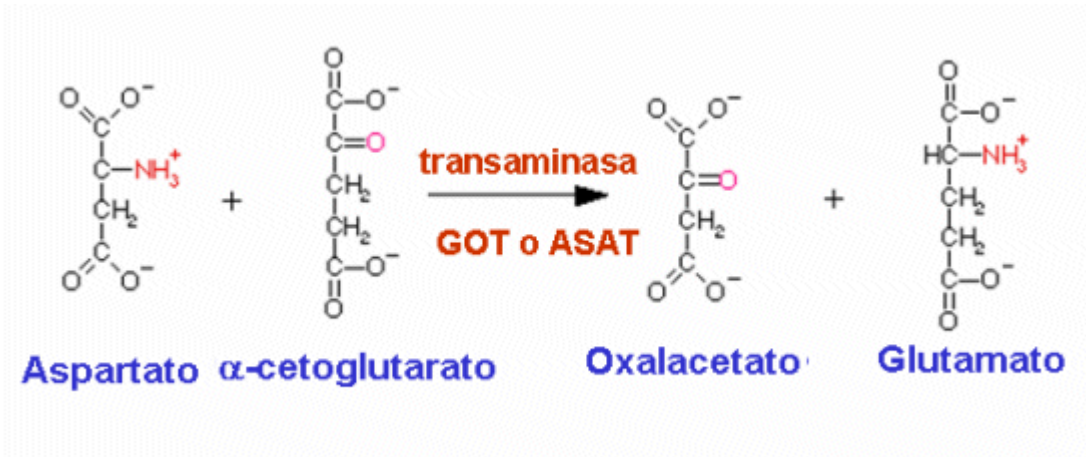


Figura 14. Transferencia del grupo amino del L-aspartato al α-cetoglutarato, formándose como productos oxaloacetato y glutamato. Imagen tomada de la página http://www3.uah.es/bioquimica/Tejedor/BBM-II_farmacia/tema13.htm.

El oxaloacetato reacciona en presencia de la malato deshidrogenasa (MAD) (R1) con el nicotinamínadenín dinucleótido en su forma reducida (NADH) (R2) para formar malato y nicotinamínadenín dinucleótido en su forma oxidada (NAD⁺) de acuerdo con la reacción química siguiente:

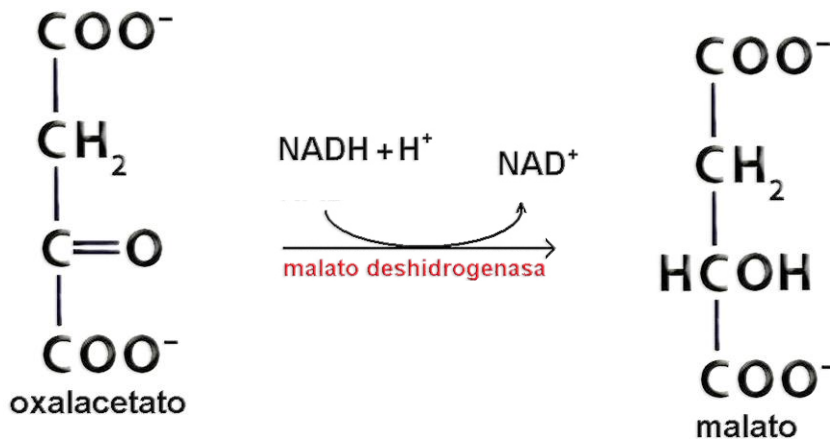


Figura 15. Formación de malato en presencia de malato deshidrogenasa del R1. Imagen tomada y modificada de la página <https://www.biologiasur.org/index.php/component/content/article/164-metabolismo/434-metabolismo-2-soluciones>

Muchos ensayos biológicos se basan en las reacciones reversibles de óxido-reducción de NAD⁺ (forma oxidada) y de NADH (forma reducida) acopladas a sistemas enzimáticos del metabolismo de los aminoácidos. Tal es el caso de la enzima AST. Debido a que la forma reducida (NADH) absorbe luz en una longitud de onda específica de 340 nm, es posible determinar la velocidad (la concentración por minuto) con la que desaparece NADH. NADH, que se encuentra en el R2, reaccionará con el oxaloacetato únicamente si la AST logró catalizar la transferencia del grupo amino del L-aspartato al a-cetoglutarato; por ello, a medida que AST forma oxaloacetato, las concentraciones de la NADH disminuyen, pues está reaccionado con el oxaloacetato (ver las figuras 10 y 11). La velocidad de disminución de las concentraciones de NADH pueden cuantificarse espectrofotométricamente de acuerdo a la longitud de onda de 340 nm, y lo más importante, de acuerdo con las reacciones arriba descritas, esta velocidad es proporcional a la concentración catalítica de AST, es decir a la actividad de AST. Como se describió anteriormente, la actividad enzimática de AST depende del coeficiente de extinción molar del NADH a 340 nm, que es de $0.00622 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, e indica la capacidad de absorción específica del NADH a esa longitud de onda en un medio de 1 cm de ancho por 1 cm de largo (medida de la celda o cubeta usada en el espectrofotómetro).

La actividad medida en unidades por litro (U/L) de AST es entonces la cantidad de enzima que produce 1 nmol/L de NADH por minuto y se calcula a partir del promedio de las diferencias entre las absorbancias medidas por minuto ($\Delta A/\text{min}$) y su multiplicación por el factor de 1750 como se describió anteriormente.

Los resultados de la tabla 1 y el análisis estadístico muestran que los grupos de pacientes con enfermedad periodontal (EP), el grupo de embarazadas (EMB) y de mujeres con enfermedad periodontal y embarazadas (EMB/EP) presentan niveles de AST mayores en comparación con el grupo de mujeres sanas, en una proporción de 19 %, 28 % y 19 % respectivamente para cada grupo. Los datos sugieren que la saliva de las pacientes contiene niveles de AST cuantificables por el método espectrofotométrico y que la tendencia estadística muestra valores significativos ($p = < 0.001$) para cada grupo. De manera interesante, el grupo con niveles más altos de AST resultó ser el de mujeres embarazadas, lo cual sugiere la susceptibilidad de desarrollar bacteremia en

las embarazadas y que ello representa un riesgo alto de sufrir complicaciones en el embarazo. Así mismo y también de manera interesante el grupo EP y el grupo EMB/EP no presentan diferencias significativas, esto quizá se deba a la edad de gestación de las pacientes grávidas en este grupo (1 y 2 meses) en comparación con la edad de gestación del grupo de embarazadas (2 y 3 meses), lo cual podría sugerir que entre mayor edad de gestación mayor susceptibilidad de desarrollar enfermedad periodontal evolutiva a periodontitis, lo cual puede ser más claro al aumentar el número de casos con diferencias en la edad gestacional.


Los datos muestran una clara tendencia de un aumento de los niveles de AST en personas con enfermedad periodontal y que esto se agrava si la paciente es grávida. Un aumento en el número de casos analizados podría suponer una tendencia similar y más contundente. Por lo tanto, existe daño tisular periodontal importante que puede inducir a complicaciones en el parto.

8. CONCLUSIÓN

1. Los biomarcadores enzimáticos en la saliva son cuantificables por métodos espectrofotométricos especialmente si se acoplan a reacciones de óxido-reducción que implique la participación de NAD.
2. La recolección en saliva y la cuantificación de los niveles de biomarcadores enzimáticos que sugieran daño tisular como es el caso de la AST en la enfermedad periodontal, puede aplicarse de manera efectiva al ser un método sencillo y no invasivo para brindar un diagnóstico oportuno así como un tratamiento óptimo para la enfermedad, especialmente si está acompañada al estado de gravidez de las pacientes.
3. El enfermedad periodontal en mujeres grávidas puede detectarse en etapas tempranas mediante la recolección de saliva y la cuantificación de AST con el fin de evitar complicaciones en el parto.

9. ANEXOS

9.1 Hoja de consentimiento informado



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

De acuerdo con las disposiciones contenidas en la Ley General de Salud, título Quinto "Investigación para la salud", Capítulo Único, artículo 100, fracción IV, así como del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, título Segundo "de los aspectos éticos de la investigación en Seres Humanos" capítulo I, Disposiciones comunes, Artículo 13 que señala que en toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y a la protección de sus derechos y bienestar, artículo 14 fracción V, 20, 21 y 22 de dicho reglamento; y de conformidad con los principios éticos contenidos en la Declaración de Helsinki, se me ha explicado e informado que:

El estudio al que me he ofrecido participar y en el estado de embarazo que presento, no se corre riesgo alguno ya que solo será analizada la saliva recolectada y depositada en un recipiente especial para realizar un análisis químico.

Se me ha informado que no existe riesgo de padecer dolor o molestia alguna en la recolección de la saliva.

Se me ha informado que no existe riesgo alguno para el embarazo ni para el ser que está en mi vientre, entendido que es una muestra simple de saliva.

Se me ha informado aclarado y asegurado que puedo preguntar hasta mi complacencia todo lo relacionado con el estudio así como retirar mi consentimiento en cualquier momento que yo lo decida sin que me afecte en mi atención profesional.

Autorizo la publicación de los resultados manteniendo en anonimato mi identidad.

Los gastos de dicha estudio serán cubiertos por el investigador e informo que no he recibido ni recibiré pago alguno por la participación en el estudio.

Con fecha _____ en Puebla Pue., habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas con respecto a mi participación en el estudio yo _____

Acepto participar en el estudio. **EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO AMINOTRANSFERASA EN SALIVA DE PACIENTES EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.**

Nombre y firma de consentimiento informado

FERNANDO DE J. MARTINEZ ARRONIZ
INVESTIGADOR

9.2 Historia clínica.

EXPEDIENTE CLÍNICO

NOMBRE DEL/A ESTUDIANTE QUE ELABORÓ: _____ NO DE FOLIO: _____

PROFESOR RESPONSABLE: _____

FECHA: _____
DD MM AA

HISTORIA MÉDICA GENERAL

1. FICHA DE IDENTIFICACIÓN

PACIENTE	DÍA APELLIDO	NOMBRE COMPLETO
----------	--------------	-----------------

2. ANTECEDENTES NO PATOLÓGICOS (ANP)

NACIONALIDAD	FECHA DE NACIMIENTO			EDAD	SEXO
	DD	MM	AA		
DIRECCIÓN ACTUAL			ESTADO CIVIL		
NO DE FAREJAS SEXUALES			ESCOLARIDAD		
OCUPACIÓN			RELIGIÓN		

3. ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES (MARQUE CON UNA X EN CASO DE ANTECEDENTE)

ENFERMEDADES	FAMILIA								
	ICC	CA	DM	ASMA	CARDIO PATOL.	DIABES	HEPATO COLANGIO	TUMOR-NEOPLASIA	OTROS
MADRE									
ABUELO PATRINO									
ABUELO MATRINO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									
ABUELO MATRNO									

4. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS (APP)

	SI	NO	NO SABE	SI	NO	NO SABE	
SARABERÓN				HIPERTENSIÓN ARTERIAL			
RUDEOLA				ACCIDENTE CEREBRO VASOCULAR			
VARICELA				INFARTO			
TOPIRRENA				ANEMIA			
SALMONELOSIS				HEMORRAGIAS			
TIPO				PADECIERON ENFERMEDADES ARTICULARES			
FALCIFORME				ALERGIAS			
TUBERCULOSIS				GASTRITIS			
NEUMONÍA				ÚLCERA GÁSTRICA			
ERISPELA				PRIVIDA DEL CONOCIMIENTO			
AMIGDALITIS DE REPETICIÓN				CHOLERA ENÓTERIOS			
LESIONES CARDIACAS				EPILEPSIA			
TETANUS				PERDIDA DE PESO SIGNIFICATIVA			
HEPATITIS				SINUSITIS			
OROSIS				ALCOHOLISMO			
DIABETES				TABAQUISMO			
ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL				DEPENDENCIA A DROGAS			
VIROSIS				OTROS*			
HERPES ZOSTER							
OTROS*							
* ESPECIFIQUE:							

DEBIO SER HOSPITALIZADO EN LOS ÚLTIMOS DOS AÑOS: SI () NO () PADRECE ALGUNA ENFERMEDAD HEREDITARIA: SI () NO () ESTABA BAJO TRATAMIENTO MÉDICO POR ALGUNA ENFERMEDAD: SI () NO ()

TOMA ALGUNA MEDICACIÓN SIN RECETA: SI () NO () ES ALÉRGICO A ALGÚN MEDICAMENTO, SOBRE TODO A ANESTÉSICOS, ANTIEMÉTICOS, ANTIPLASMÁTICOS, OTROS: SI () NO ()

HA RECIBIDO TRANSFUSIONES SI () NO () TIENE MARCAPASO SI () NO ()

ESTABA BAJO TRATAMIENTO PSICOLÓGICO O PSIQUIÁTRICO: SI () NO ()

9.3 Periodontograma

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICO	
MENARCA:	
RITMO MENSTRUAL:	
EDAD DE INICIO DE LA VIDA SEXUAL:	MÉTODO DE PLANIFICACIÓN:
NÚMERO DE EMBARZOS:	ÚLTIMO PAPANICOLAU:
CESARIAS:	FECHA APROXIMADA DE LA ÚLTIMA REGLA:
PARTO NATURAL:	ESTÁ EMBARAZADA:
ABORTOS:	ESTÁ AMAMANTANDO:

PERIODONTOGRAMA

DIAGNÓSTICO CLÍNICO: _____
 OBSERVACIONES: _____

Criterios:	
Descripción	Código
Ausencia de inflamación, sin bolsas periodontales con menos del 10% de zonas afectadas	SANO
Inflamación gingival/leve, moderada o severa con presencia de bolsas periodontales en <u>mas</u> del 10% de zonas afectadas.	Enfermedad periodontal

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chambers D., Crawford J., Mukherjee S., Cohen R. (1984). Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol.* 55: 526-530. 46.
- Dabra S, China K, Kaushik A.(2012). Salivary enzymes as diagnostic markers for detection of gingival/periodontal disease and their correlation with the severity of the disease. *J Indian Soc Periodontol.* Jul;16(3):358-64).
- Flemmig TF. 1999. Periodontitis (1999) International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontol;* 4: 35-40.
- González J., Rivera S., (2017): Biomarcadores en el fluido gingival crevicular: Revisión de literatura.-*ODOVTOS-Int. J. Dental Sc.,* 19-3 (September-December): 35-43.
- Goodson J. M.(1992). Diagnosis of periodontitis by Physical measurement interpretation from episodic disease hypothesis. *J Periodontol.* 63: 373-378.
- Gupta G. (2013). Gingival crevicular fluid as a periodontal diagnostic indicator- II: Inflammatory mediators, host-response modifiers and chair side diagnostic aids. *J MedLife.* 15;6(1):7-13
- Hiroshi Ito, Yukihiro Numabe, Satoshi Sekino, Etsuko Murakashi, Hitomi Iguchi, Shuichi Hashimoto, Daisuke Sasaki, Takashi Yaegashi, Kazushi Kunimatsu, Hideki Takai, Masaru Mezawa, Yorimasa Ogata, Hisashi Watanabe, Satsuki Hagiwara, Yuichi Izumi, Yuka Hiroshima, Jun-Ichi Kido, Toshihiko Nagata.(2014). Evaluation of bleeding on probing and gingival crevicular fluid enzyme activity for detection of periodontally active sites during supportive periodontal therapy. *Odontology.* 102:50–56.
- Hu S, Yen Y, Ann D, Wong DT. (2007). Implications of salivary proteomics in drug discovery and development: a focus on cancer drug discovery. *Drug Discov Today.* 12: 911-916.
- Kim JJ.(2013). Salivary biomarkers in the diagnosis of periodontal diseases. *J Calif Dent Assoc.* 41(2):119-24.

Koneru S, Tanikonda R. (2014). Salivaomics - A promising future in early diagnosis of dental diseases. *Dent Res J (Isfahan)* 11(1):11-5

Caton Jack G., Armitage Gary, Berglundh Tord, Chapple Ian L.C., Jepsen Soren, Korman Kenneth S., Mealey Brian

L., Papapanou Panos, Sanz Mariano, Tonetti Maurizio S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions-Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol.* 45:45 (suppl 20);S1-S8.

Jepsen S, Caton L, Albandar JM y col. (2018). Consensus report. Periodontal manifestation of systemic disease and developmental and acquired conditions. *Journal of Clinical Periodontology.* 45. S219-S229.

Lamster I. (1997). Evaluation of components of gingival crevicular fluid as diagnostic tests. *Ann Periodontol.* 2: 123-137.

López N, Smith P, Gutierrez J. (2002). Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: A randomized controlled trial. *J Periodontol.* 73: 911-24.

Minarowski Ł, Sands D, Minarowska A, Karwowska A, Sulewska A, Gacko M, Chyczewska E. 2008. Thiocyanate concentration in saliva of cystic fibrosis patients. *Folia Histochem Cytobiol.* 46: 245-246.

Navazesh m. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad. Sci.* (1993);694:72-77

Offenbacher S, Beck J. (2007). Has periodontal treatment failed to reduce adverse pregnancy outcomes? The answer may be premature. *J Periodontol.* 78: 195-7.

Oringer R., Howell H., Nevins M., Reasner D., Davis G., Sekler J., Fiorellini J. (2001). Relationship between crevicular aspartate aminotransferase levels and periodontal disease progression. *J Periodontol.* 72: 17-24.

Ozmeric N. (2004).Advances in periodontal disease markers.ClinChimActa. 343: 1-16

Page R., Offenbaacher S., Schoeder H., Seymour G., Kornman K. (1997).Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. Periodontology 2000.14: 216-248.

Persson G., DeRouen T., Page Rc.(1990).Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. J Peridontol Res. 25: 81-7. 47.

Rao PV, Reddy AP, Lu X, Dasari S, Krishnaprasad A, Biggs E, Roberts CT, Nagalla SR. (2009) Proteomic identification of salivary biomarkers of type 2 diabetes. J Proteome Res. 8: 239-245.

Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, Sorsa T, Gustafsson A.J. (2013). Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. ClinPeriodontol.40(2):140-7.

Rathnayake N, Gieselmann DR, Heikkinen AM, Tervahartiala T, SorsaT (2017). Salivary Diagnostics-Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. Diagnostics (Basel).20;7(1).

Rivera Álvarez, Sonia;Jorquera Cortez, Rodrigo; González Quesada,Jorge.(2006). Actividad de Aspartato aminotransferasa(ATS) en pacientes con enfermedades periodontal crónica.Odovtos- International Journal of dental Sciences. 8:102-105.

Rivera S., Jorquera R., González J.(2006). Actividad de la Aspartatoaminotransferasa (AST)enpacientes con enfermedad periodontal crónica. Odovtos-Int. J. Dental Sc.

Santos-Pereira SA, Giraldo PC, Saba-Chifi E, Amaral RLG et al. (2007).Chronic periodontitis and pre-term labour in Brazilian pregnant women: An association to be analyzed. J Clin Periodontol. 34: 208-13.

Soto Chávez Alma Alicia, Ruiz Gutiérrez Alondra del Carmen, Martínez Rodríguez Vianeth.(2018).Clasificación de enfermedades periodontales. Revista mexicana de Periodontología. Vol IX:1-2: 24-27.

Taba M., Kinney J., Kim A., Giannobile W. (2005).Diagnostic Biomarkers for Oral and Periodontal Diseases. Dent Clin N Am. 49: 551-71.

Toygar HU, Seydaoglu G, Kurklu S, Guzeldemir E, Arpak N. (2007) .Periodontal health in adverse pregnancy outcome in 3,576 Turkish women. J Periodontol.78: 2081-94.

Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. (2018). Plaque-induced gingivitis. Case definition and diagnostic considerations. Joournalof Clinical Periodontology.45. S44-S67.

Vondrackova Lucie, Duskova Jana, JanatovaTatjana, and ZdenekBroukal.(2016). Disease Markers Volume Article ID 9179632, 8 pages.

Zhang A¹, Sun H, Wang X.(2012).Saliva metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis, and treatment. BiochemBiotechnol.Nov;168(6):1718-27 Appl.

Zambon J. J., Nakamura M., Slots J.(1985).Effect of periodontal therapy on salivary enzymatic activity.J Periodontal Res. 20: 652-9.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Fernando de Jesús Martínez Arroniz

Candidato para el Grado de:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE PERIODONCIA
CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

Tesis: EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ASPARTATO AMINOTRANSFERASA EN SALIVA DE PACIENTES EMBARAZADAS Y SU RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL.

Datos Personales: Nacido en Puebla Puebla el 12 de Mayo de 1967, primer hijo de María de la Luz Arroniz Padilla y E. Fernando Martínez y Nuñez.

Educación: Egresado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en 1993, grado obtenido Cirujano Dentista.

Experiencia Profesional: Profesor I. tiempo completo en la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla desde 1995 a la fecha.