

Asociación entre niveles patológicos de amiloide A sérico y periodontitis

Association between serum amyloid A pathologic levels and periodontitis

Dr. C. Carlos Martín Ardila Medina ^I; Dr. Jader Bedoya García ^{II}; Dra. Isabel Cristina Guzmán Zuluaga ^I

I Universidad de Antioquia. Antioquia, Colombia.

II Universidad de Chile. Chile.

RESUMEN

Fundamento: la proteína amiloide A sérica es producida en respuesta a la liberación de citoquinas por parte de monocitos y macrófagos, después de un estímulo de fase aguda como es la infección.

Objetivo: determinar los niveles séricos de amiloide A y su asociación con pacientes diagnosticados con periodontitis crónica.

Métodos: se realizó un estudio observacional de corte transversal, el universo estuvo constituido por 80 pacientes con periodontitis crónica y 28 personas sin periodontitis como grupo control. El diagnóstico de periodontitis crónica se basó en criterios definidos con anterioridad. Todos los participantes respondieron un cuestionario relacionado con características sociodemográficas. Para calcular los niveles de amiloide A sérico se realizó una prueba de ensayo enzimático.

Resultados: los niveles de amiloide A sérico patológicos se asociaron con la periodontitis ($p=0,002$) y se correlacionaron de manera significativa con mayor edad ($r=2,42$; $p=0,01$); sin embargo, la regresión logística ajustada por edad mostró asociación estadística significativa solo con periodontitis (OR=5,6; intervalo de confianza del 95 % 1,7-19).

Conclusiones: la probabilidad de presentar niveles patológicos de amiloide A sérico en pacientes con periodontitis crónica es seis veces la de los pacientes sin periodontitis, lo cual podría ser un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares.

DeCS: PROTEÍNA AMILOIDE A SÉRICA; PERIODONTITIS CRÓNICA; PRUEBAS ENZIMÁTICAS CLÍNICAS; FACTORES DE RIESGO; ESTUDIO OBSERVACIONAL.

ABSTRACT

Background: serum amyloid A protein is produced in response to the cytokines released by monocytes and macrophages after an acute-phase stimulus such as infection.

Objective: to determine the serum levels of amyloid A protein and its association with patients diagnosed with chronic periodontal disease.

Methods: a cross-sectional observational study was conducted. The universe was composed of 80 patients with chronic periodontitis and 28 people without periodontal affections as a control group. Diagnosis of chronic periodontal disease was based on criteria stated previously. All the participants answered a questionnaire related to sociodemographic characteristics. A clinical enzymatic trial was carried out to calculate the levels of pathological serum amyloid A.

Results: pathological levels of serum amyloid A were associated with periodontitis ($p=0,002$) and were correlated significantly with older age ($r=2,42$; $p=0,01$). Nevertheless, logistic regression adjusted by age showed remarkable statistical association only with periodontal disease (OR=5,6; interval from 95 % 1,7-19).

Conclusions: probability of presenting pathological levels of serum amyloid A in patients with chronic periodontal disease is six times the one of the patients without this affection. That could be a risk factor for cardiovascular diseases.

DeCS: SERUM AMYLOID A PROTEIN; CHRONIC PERIODONTITIS; CLINICAL ENZYME TESTS; RISK FACTORS; OBSERVATIONAL STUDY.

INTRODUCCIÓN

La proteína amiloide A (AA) sérica es producida en respuesta a la liberación de citoquinas por parte de monocitos y macrófagos, después de un estímulo de fase aguda como es la infección. Sus niveles aumentados son considerados un marcador sistémico de condiciones inflamatorias agudas y crónicas, donde se convierte en un indicador y potencial mediador de la inflamación en los tejidos.¹ Se considera que la periodontitis es una enfermedad inflamatoria e infecciosa crónica, se ha sugerido que la exposición a niveles leves o moderados de mediadores inflamatorios sistémicos pueden ser la base para un riesgo cardiovascular incrementado en pacientes con periodontitis.² De igual forma, se ha infor-

mado que niveles elevados de AA podrían ser un marcador valioso de riesgo cardiovascular, en pacientes con enfermedad periodontal.³ Debido a que AA ha mostrado una amplia diversidad y una reacción activa más rápida, ha conducido a que algunos investigadores propongan que podría ser un marcador mejorado de la actividad de la enfermedad.^{4,5}

Aunque un número considerable de estudios han investigado AA como marcador inflamatorio,^{1,4,5} muy pocas investigaciones lo han realizado en pacientes con periodontitis crónica. El objetivo del estudio fue determinar los niveles séricos de amiloide A y su asociación con periodontitis crónica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional de corte transversal, el universo estuvo constituido por 80 pacientes con periodontitis crónica y 28 personas sin periodontitis como grupo control. Se empleó un muestreo no probabilístico en los pacientes que asistieron a la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia Medellín, Colombia desde el segundo semestre de 2010 hasta el primer semestre de 2013.

Los criterios de inclusión aplicados a los individuos participantes abarcaron pacientes de ambos sexos, mayores de 35 años con diagnóstico de periodontitis crónica. Se excluyeron personas que informaran tratamiento periodontal en el último año, ingestión de antibióticos en los últimos 90 días o ingestión crónica de antiinflamatorios no esteroideos. Se excluyeron también individuos con tratamiento de ortodoncia, sujetos con enfermedades autoinmunes, diabéticos, embarazadas y lactantes.

Criterios definidos con anterioridad determinaron el diagnóstico de periodontitis crónica.⁶ Como grupo control se incluyeron 28 individuos sin evidencia de periodontitis.

A todos los participantes se les solicitó responder acerca del consumo de tabaco (fumador/no fumador). Esta variable junto con las variables género (masculino/femenino) y edad (en años cumplidos) fueron incluidas en el análisis con el fin de determinar asociaciones con los niveles de AA.

Para calcular los niveles de AA se realizó una prueba de inmunoensayo enzimático sándwich (ELISA) donde se utilizó un MAb purificado contra Hu AAS (ELISA Kit KHA0012 Invitrogen Co. Flynn Road, Camarillo-CA). Las muestras obtenidas se diluyeron 1:200 con tampón diluyente

estándar y se procesaron según indicaciones del fabricante. Las densidades ópticas se obtuvieron a 450 nm en ELISYS-1 lector y multiplicada para el factor de diluyente. Los resultados originales del kit se obtuvieron al utilizar una curva estándar y la regresión lineal ($RR = 0,98$), que se expresa en ng/ml, convertidas en mg/L para el análisis estadístico. Hasta 10 mg/L de AA se tomaron como valor normal con base en lo descrito en la literatura.⁷

Para medir la profundidad al sondaje se utilizó una sonda calibrada (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL) en seis sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) en todos los dientes, donde se excluyó el tercer molar. Los exámenes clínicos de los pacientes se realizaron por dos clínicos entrenados y calibrados. El nivel de inserción clínica, la presencia de placa y el sangrado al sondaje también se evaluaron en cada sitio del diente.

Los pacientes que participaron en la investigación recibieron información relacionada con los objetivos del estudio, aspecto que se constató con la firma del consentimiento informado de manera voluntaria. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia.

Análisis estadístico: las diferencias en las variables continuas y categóricas se analizaron con una prueba t independiente (los datos se distribuyeron normal) y una prueba de chi cuadrado. La asociación entre niveles patológicos de AA y periodontitis se determinó con pruebas de chi cuadrado, al igual que la asociación entre niveles patológicos de AA con género y hábito de fumar. La correlación entre niveles patológicos de AA y edad se estableció mediante correlación

de Pearson, se realizó un análisis de regresión logística crudo y ajustado para determinar el valor discriminativo de la proteína de fase aguda con la periodontitis. Los valores $p < 0,05$ fueron considerados con estadística significativa. Todos los análisis se realizaron con el software estadístico (SPSS versión 21, Chicago, IL).

RESULTADOS

En la investigación observacional de corte transversal se estudiaron 80 pacientes con periodontitis crónica y 28 personas sin periodontitis, se describe la distribución por género en los dos grupos y otras características sociodemográficas que no presentaron diferencias; esto permitió que los dos grupos fueran comparables. Se observa también que los dos grupos de pacientes presentaron diferencias en los parámetros clínicos periodontales estudiados.

Se muestran los niveles de AA en los dos grupos, donde son más elevados en el grupo de pacientes con periodontitis ($p = 0,03$) (tabla 1). Además, es importante resaltar que en el análisis bivariado se observó una asociación significativa entre periodontitis y niveles patológicos de AA ($p = 0,002$); sin embargo, no se encontró asociación entre niveles patológicos de AA con las variables género y hábito de fumar. Por otra parte, la correlación de Pearson entre niveles patológicos de AA y aumento de la edad fue significativa ($r=2,42$; $p=0,01$).

Con esta información, se realizó un análisis de regresión logística con el fin de determinar si la periodontitis crónica está relacionada con altos niveles de AA y si la variable edad podría presentar alguna influencia. En el modelo crudo, la periodontitis crónica se asoció con niveles patológicos de AA; sin embargo, al ajustar el modelo se incluyó la variable edad, se observó que la

asociación niveles patológicos de AA con periodontitis continuaba con diferencias estadísticas significativas pero la variable edad dejó de asociarse con gran significación (tabla 2).

DISCUSIÓN

En la investigación se estudió AA debido a su capacidad informada para influir sobre el metabolismo lipídico ¹ y la escasa información publicada acerca del tema en enfermedad periodontal.

Las enfermedades cardiovasculares y un incremento en la reacción de fase aguda con niveles elevados de AA comparten algunos factores de riesgo que incluyen hábito de fumar y edad avanzada. ⁸ En el estudio se observó que al contrastar fumadores con no fumadores no se hallaron diferencias significativas en los niveles patológicos de AA. Resultados similares se encontraron cuando se contrastaron las variables edad y género. De esta forma se permite dilucidar la influencia de la periodontitis sobre los niveles patológicos de AA. En este contexto, es importante destacar que, el progreso de las enfermedades cardiovasculares y la periodontitis parece sobreponerse con respecto a algunos factores de riesgo esenciales, incluidos entre ellos el aumento en los niveles sistémicos de reactantes de fase aguda proinflamatorias tales como AA. ⁹

Se ha propuesto que la exposición prolongada de niveles aumentados de mediadores inflamatorios sistémicos puede ser la base para un incremento del riesgo cardiovascular en pacientes con periodontitis. ¹⁰ Las citoquinas proinflamatorias, derivadas en el lugar confinado de la enfermedad, estimulan los hepatocitos para generar proteínas de fase aguda, ¹¹ que se aumentan en adultos sanos con modestas

Tabla 1. Características demográficas, parámetros periodontales y niveles de amiloide A sérico (AA) en los dos grupos estudiados

Parámetro	Pacientes con periodontitis	Personas sin periodontitis	Prueba estadística y significancia
Edad (años ± DE)	46 ± 9,4	45,9 ± 6,4	t test NS
Género			χ^2
% femenino	76,25	64,28	NS
% masculino	23,75	35,72	NS
Consumo de tabaco			χ^2
% no fumadores	75	92,9	NS
% fumadores	25	7,1	NS
PS (mm ± DE)	3,7 ± 1,1	1,7 ± 0,3	t test p = 0,002
NIC (mm ± DE)	4,4 ± 1,3	1,8 ± 0,3	t test p < 0,0001
% placa bacteriana	55	23	χ^2 p = 0,03
% SS	50	25	χ^2 p = 0,002
AA (mg/L ± DE)	18,2 ± 18,3	7,3 ± 2,5	t test p = 0,03

DE= desviación estándar; NS= no significativa; PS= profundidad al sondaje; NIC= nivel de inserción clínica; SS= sangrado al sondaje; χ^2 = chi cuadrado

Tabla 2. Regresión logística para niveles patológicos de amiloide A sérico en pacientes con periodontitis crónica

Variable	Modelo Crudo OR (IC 95 %)	Valor p	Modelo ajustado* OR (IC 95 %)	Valor p
Periodontitis crónica	5,5 (1,7 - 18)	0,005	5,6 (1,7 - 19)	0,005
Edad (años)			1 (0,9 - 1,07)	NS

* Ajustado por edad; IC = intervalo de confianza; NS = No significativo

condiciones periodontales.¹² Como se describió con anterioridad, la infección periodontal puede ser una inflamación crónica sub-diagnosticada que contribuye a respuestas inflamatorias sistémicas que a su vez pueden aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares.¹³

En el estudio se observaron niveles patológicos altos de AA en pacientes con periodontitis crónica, al constatar con los bajos niveles observados en los controles sanos. Los pocos estudios publicados acerca del tema dificultan comparar estos resultados. Sin embargo, en modelos animales de enfermedad periodontal se demostró que la infección periodontal arrojó niveles elevados de AA.^{14, 15} Por otra parte, estudios previos examinaron AA como marcadores séricos de inflamación sistémica en pacientes con periodontitis antes y después de terapia no quirúrgica, y antes y después de la extracción de todos los dientes presentes, sin incluir un grupo control sano; estos aspectos metodológicos dificultan la comparación con la investigación.^{16, 17}

Es importante señalar que AA habita en las lipoproteínas de alta densidad, aspecto que puede complicar el comportamiento de las lipoproteínas en la pared del vaso, lo que aumenta así la oxidación de las mismas y el progreso de las lesiones ateroscleróticas.¹⁸

En consecuencia, niveles elevados de AA situados en un subgrupo de pacientes pueden indicar un riesgo importante para las enfermedades cardiovasculares, en comparación con los pacientes con periodontitis que presentan concentraciones normales de AA.¹⁷ En especial la AA también ha demostrado ser un predictor de eventos cardiovasculares.^{1, 8}

CONCLUSIONES

Los resultados de la investigación muestran niveles patológicos de amiloide A sérico en pacientes con periodontitis crónica, donde se sugiere que concentraciones elevadas de este marcador inflamatorio podrían contribuir al aumento de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sun L, Ye RD. Serum amyloid A1: Structure, function and gene polymorphism. *Gene*. 2016 May 25;583(1):48-57.
2. D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Clin Periodontol*. 2013 Apr;40 Suppl 14:S85-105.
3. Velsko IM, Chukkapalli SS, Rivera MF, Lee JY, Chen H, Zheng D, et al. Active invasion of oral and aortic tissues by *Porphyromonas gingivalis* in mice causally links periodontitis and atherosclerosis. *PLoS One*. 2014 May 16;9(5):e97811.
4. Meng YQ, Cao X, Wen ZS, Liu QW, Tan ZH, Duan H, et al. Preoperative level of serum amyloid A is superior to C-reactive protein in the prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus*. 2014 Sep-Oct;27(7):670-7.
5. Abbas MH, Choudhry MN, Hamza N, Ali B, Amin AA, Ammori BJ. Admission levels of serum amyloid a and procalcitonin are more predictive of the diagnosis of acute appendicitis compared with C-reactive protein. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2014 Dec;24(6):488-94.

6. Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012 Dec;83(12):1449-54.
7. Ioannidis JP, Tzoulaki I. Minimal and null predictive effects for the most popular blood biomarkers of cardiovascular disease. *Circ Res*. 2012 Mar 2;110(5):658-62.
8. Colón W, Aguilera JJ, Srinivasan S. Intrinsic Stability, Oligomerization, and Amyloidogenicity of HDL-Free Serum Amyloid A. *Adv Exp Med Biol*. 2015;855:117-34.
9. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Links between atherosclerotic and periodontal disease. *Exp Mol Pathol*. 2016 Feb;100(1):220-35.
10. Stewart R, West M. Increasing Evidence for an Association Between Periodontitis and Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2016 Feb 9;133(6):549-51.
11. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*. 2007 Oct 18;449(7164):819-26.
12. Loos BG, Craandijk J, Hoek FJ, Wertheim-van Dillen PM, van der Velden U. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *J Periodontol*. 2000 Oct;71(10):1528-34.
13. Rydén L, Buhlin K, Ekstrand E, de Faire U, Gustafsson A, Holmer J, et al. Periodontitis Increases the Risk of a First Myocardial Infarction: A Report From the PAROKRANK Study. *Circulation*. 2016 Feb 9;133(6):576-83.
14. Rivera MF, Lee JY, Aneja M, Goswami V, Liu L, Velsko IM, et al. Polymicrobial infection with major periodontal pathogens induced periodontal disease and aortic atherosclerosis in hyperlipidemic ApoE(null) mice. *PLoS One*. 2013;8(2):e57178.
15. Aoki-Nonaka Y, Nakajima T, Miyauchi S, Miyazawa H, Yamada H, Domon H, et al. Natural killer T cells mediate alveolar bone resorption and a systemic inflammatory response in response to oral infection of mice with *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol Res*. 2014 Feb;49(1):69-76.
16. Graziani F, Cei S, La Ferla F, Vano M, Gabriele M, Tonetti M. Effects of non-surgical periodontal therapy on glomerular filtration rate of the kidney: an exploratory trial. *J Clin Periodontol*. 2010 Jul;37(7):638-43.
17. Vuletic S, Taylor BA, Tofler GH, Chait A, Marcovina SM, Schenck K, et al. SAA and PLTP activity in plasma of periodontal patients before and after full-mouth tooth extraction. *Oral Dis*. 2008 Sep;14(6):514-9.
18. Krishack PA, Bhanvadia CV, Lukens J, Sontag TJ, De Beer MC, Getz GS, et al. Serum Amyloid A Facilitates Early Lesion Development in Ldlr^{-/-} Mice. *J Am Heart Assoc*. 2015 Jul 17;4(7):e001858.

Recibido: 4 de mayo de 2016

Aprobado: 6 de julio de 2016

Dr. C. Carlos Martín Ardila Medina. Doctor en Ciencias Epidemiológicas. Profesor Titular Universidad de Antioquia. Antioquia, Colombia. Email: martinardila@gmail.com