

Enzima Lactato Deshidrogenada en Saliva y Fluido Crevicular Gingival en Pacientes Fumadores y No Fumadores con Periodontitis Crónica

Dehydrogenase Lactate Enzyme in Saliva and Gingival Crevicular Fluid in Smoking and Non-Smoking Patients with Chronic Periodontitis

Dalia Abril Guzmán-Gastelum¹; Alejandro Donohue-Cornejo²; Eligio Varela-González¹; Maria Verónica Cuevas-González²; Ricardo Peralta-Estrada¹; Sixta Cobos-Floriano³; Zureya Fontes-García⁴ & León Francisco Espinosa-Cristóbal²

GUZMÁN-GASTELUM, D. A.; DONOHUE-CORNEJO, A.; VARELA-GONZÁLEZ, E.; CUEVAS-GONZÁLEZ, M. V.; PERALTA-ESTRADA, R.; COBOS-FLORIANO, S.; FONTES-GARCÍA, Z. & ESPINOSA-CRISTÓBAL, L. F. Enzima lactato deshidrogenada en saliva y fluido crevicular gingival en pacientes fumadores y no fumadores con periodontitis crónica. *Int. J. Odontostomat.*, 19(3):215-223, 2025.

RESUMEN: La periodontitis crónica (PC) es una enfermedad inflamatoria que daña los tejidos de soporte del diente, considera uno de los problemas orales más frecuentes a nivel mundial, agravada en muchos de los casos por el hábito de fumar. Aunque el lactato deshidrogenado (LDH) se ha relacionado con la afectación de los tejidos periodontales, existen pocos estudios que han evaluado la actividad de LDH en saliva y fluido crevicular gingival (FCG) de pacientes con PC fumadores y no fumadores. El objetivo de este estudio fue determinar el volumen de FCG y la actividad de LDH en FCG y saliva de fumadores con PC. Se seleccionaron sujetos masculinos mayores de 40 años de edad divididos en cuatro grupos: 1) fumadores con PC; 2) fumadores sin PC; 3) no fumadores con PC; y 4) no fumadores sin PC. El diagnóstico de PC se realizó utilizando el índice gingival (IG), índice de placa (IP), índice de cálculo (IC), profundidad de bolsa (PB) y nivel de inserción clínica (NIC). Se recolectaron muestras de saliva y FCG de bolsas periodontales ≥ 4 mm para conocer el volumen del FCG y la actividad de la LDH. El volumen de FCG en saliva y FCG fue significativamente elevado en pacientes con PC (0.50 - 0.56 μ L) comparada con sujetos sin PC (0.24 - 0.47 μ L). La actividad de la LDH fue estadísticamente mayor en sujetos fumadores con PA ($\sim 40 \pm 12$ μ U/mL) y fumadores sin PC ($\sim 16 \pm 6$ μ U/mL). Ambos tipos de muestras (saliva y FCG) obtuvieron concentraciones similares en la actividad de la LDH. La identificación de la LDH en saliva y FCG de pacientes con PC fumadores y no fumadores podría ser una herramienta de diagnóstico periodontal para la identificación, control, prevención y pronóstico de la PC en pacientes fumadores.

PALABRAS CLAVE: periodontitis crónica, lactato de deshidrogenasa, fumar, enfermedad periodontal.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es un estado inflamatorio de los tejidos que conforman al periodonto tales como son encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar, dicha inflamación es de origen multifactorial asociada a una etiología bacteriana (Papapanou *et al.*, 2018). La periodontitis crónica (PC) junto con la caries dental son las enfermeda-

des orales de mayor prevalencia en la población que causan la pérdida de dientes (Mills & Levin, 2022; World Health Organization, 2022). La PC es el tipo más severa de la enfermedad periodontal y caracterizada por la destrucción excesiva del hueso alveolar (Blair & Chapple, 2014; Mills & Levin, 2022). La PC es observada más frecuentemente

¹ Especialidad en Periodoncia, Departamento de Estomatología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

² Maestría en Ciencias Odontológicas, Departamento de Estomatología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

³ Programa de Licenciatura en Contaduría, Departamento de Ciencias Administrativas, Instituto de Ciencias Sociales y Administración, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

⁴ Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Baja California, Campus Mexicali, Mexicali, Baja California, México.

en la población adulta, aproximadamente en 3 de cada 4 adultos en edades tempranas y (Dembowska *et al.*, 2022). Se han identificado factores de riesgo que inciden en el desarrollo y progreso de las periodontopatías, dentro de estos se encuentra el tabaquismo (Chaffee *et al.*, 2021). En el mundo existe una alta incidencia de personas fumadoras, que generalmente inician el hábito de fumar a edades muy tempranas, especialmente en la adolescencia, reportándose que las personas fumadoras tienen más riesgo de desarrollar periodontitis que las no fumadoras (Leite *et al.*, 2018). Los pacientes fumadores presentan mayores índices de placa y cálculo, por consiguiente, gingivitis y periodontitis, existiendo mayor profundidad de sondeo, mayor pérdida de inserción y una pobre respuesta al tratamiento periodontal (Preber & Bergström, 1986; Alexandridi *et al.*, 2018; Leite *et al.*, 2018).

Se considera que el tabaco puede alterar el equilibrio microbiológico bucal, incrementándose el número de bacterias anaerobias. Además por una serie de mecanismos irritativos, térmicos y químicos el tabaco lesiona las células de la mucosa bucal y ocasiona diferentes alteraciones; incluyendo mayores índices de placa, cálculo, así como gingivitis, periodontitis y alteración en la reparación y cicatrización de los tejidos (ALHarthi *et al.*, 2019). Autores han reportado altos índices de placa, mayor profundidad de bolsas periodontales y pérdida de inserción en los tejidos de los pacientes fumadores y una pobre respuesta al tratamiento periodontal (Calsina *et al.*, 2002). Otros autores también han reportado que existe asociación positiva entre la presencia de bolsas periodontales y el tabaquismo, así como una relación directa con el número de cigarrillos fumados (Toledo Pimental *et al.*, 2002).

Los fumadores, en especial los que fuman grandes cantidades de cigarrillos, tienen tendencia de padecer periodontitis por el efecto local de los productos derivados de la combustión y el efecto general por los productos tóxicos del tabaco sobre el organismo (Hao *et al.*, 2023). La morbilidad por periodontitis se incrementa con el aumento a la exposición al tabaco en la cual a mayor cantidad de cigarros diarios y más tiempo fumando, más grave será la enfermedad periodontal (Alexandridi *et al.*, 2018; Toledo Pimental *et al.*, 2002). Dicha enfermedad se diagnostica con base en parámetros clínicos, como son la profundidad de bolsa, pérdida de la inserción y reabsorción ósea mediante el análisis radiográfico (Papapanou *et al.*, 2018).

Por otro lado, los fluidos corporales como la saliva y el fluido crevicular gingival (FCG) están siendo utilizados para evaluar enfermedades sistémicas y para realizar diagnósticos clínicos (Totán *et al.*, 2006; Di Lenardo *et al.*, 2019; Ansari Moghadam *et al.*, 2022). Existen estudios en los que se reporta que la saliva y el FCG son de utilidad para realizar el diagnóstico de la periodontitis debido a que se han identificado diversos marcadores que se podrían utilizar de manera rutinaria en la clínica para poder evaluar la progresión de la enfermedad periodontal (Zappacosta *et al.*, 2007; Baima *et al.*, 2021; Ansari Moghadam *et al.*, 2022). Uno de estos marcadores identificado es el lactato deshidrogenasa (LDH), enzima que normalmente se asocia al citoplasma de las células y sus valores se incrementan cuando existe daño en la membrana de las células durante la inflamación. Por lo que en las enfermedades donde existe daño tisular se liberan enzimas relacionadas con la muerte y destrucción celular, entre las que se encuentran: aspartato aminotransferasa, creatinina cinasa, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, gamma glutamil transferasa, y lactato deshidrogenasa (Ansari Moghadam *et al.*, 2022).

Se sabe que la LDH tiene una actividad que está relacionada con la inflamación gingival y con la destrucción de los tejidos en la periodontitis (Zappacosta *et al.*, 2007; Ansari Moghadam *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023). Por otra parte, se ha analizado la asociación entre los niveles de cotinina en saliva y fluido crevicular en pacientes fumadores y no fumadores con periodontitis (McGuire *et al.*, 1989; Etter *et al.*, 2000). Los valores de cotinina en concentraciones 5 a 6 veces más elevadas en fluido crevicular que en saliva explicaría la susceptibilidad a la destrucción de los tejidos periodontales en los fumadores (McGuire *et al.*, 1989). Aunque la saliva y el FCG han sido propuestos para ser utilizados como medios para realizar diagnóstico de la periodontitis a través de la actividad de la enzima LDH, no existen suficientes estudios que hayan determinado esta actividad enzimática en pacientes fumadores y no fumadores con y sin PA a través de recolección de fluidos salivales y del surco gingival. El objetivo de este estudio fue evaluar el volumen del FCG y la actividad de la enzima LDH en el FCG y saliva de pacientes fumadores crónicos con y sin PC. Los resultados de este estudio podrían proveer de una herramienta clínica diagnóstica sencilla y predecible para evaluar la presencia y evolución de la PC para promover mejores medidas de control y prevención de la PC en pacientes fumadores y no fumadores.

MATERIAL Y MÉTODO

La presente investigación involucró un estudio transversal comparativo a través de un muestreo no probabilístico consecutivo, desarrollado en pacientes masculinos que asistieron voluntariamente y que recibieron atención odontológica en la Clínica de Posgrado del programa de Especialidad en Periodoncia de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ), Chihuahua, México, durante el periodo de junio a diciembre del año 2023. Este estudio recibió la aprobación del Comité de Investigación del programa de Especialidad en Periodoncia y se ajusta a lo establecido en la Declaración de Helsinki (2008). Antes de la evaluación clínica-periodontal, se obtuvo el consentimiento informado firmado de manera voluntaria por cada paciente. Los sujetos incluidos fueron sujetos mayores de 40 años de edad que asistieran a atención clínica odontológica-periodontal. Los sujetos excluidos fueron aquellos con alteraciones sistémicas evidentes no controladas como diabetes, e hipertensión arterial y aquellos sujetos que hubieran tomado analgésicos, antibióticos y corticosteroides en los últimos seis meses. Los grupos de estudio se generaron de acuerdo con la presencia y ausencia de PC y de la actividad de fumar: 1) sujetos sin PC y no fumadores (controles); 2) sujetos sin PC fumadores; 3) sujetos con PC no fumadores; y 4) sujetos con PC fumadores. Los sujetos fumadores fueron establecidos cuando el consumo mínimo al día se de 10 cigarrillos en el momento del interrogatorio. La presencia de PC se estableció de acuerdo con el reporte de clasificación mundial de condiciones y enfermedades peri-implantares y periodontales del 2018 (Papapanou *et al.*, 2018). Así mismo, se desarrollaron diversas evaluaciones clínicas a través de un expediente clínico odontológico-periodontal usando procesos de interrogación y evaluación clínica por expertos en el área de la periodontología. Las variables evaluadas con el uso de interrogatorio y examinación directa se realizaron a través de diversos índices. El índice gingival (IG) se desarrolló de acuerdo con los criterios de Löe y Silness con los siguientes parámetros: 1) encía sana; 2) encía con inflamación leve, cambio en la coloración, ligeramente edematizada y sin sangrado al sondeo; 3) encía con inflamación moderada, encía roja brillante, congestionada sin puntillito y hemorragia a los 30 segundos posteriores al sondeo; 4) encía con inflamación severa, edema, congestión, hemorragia espontánea, zonas ulceradas y rojo intenso. Para medir la higiene oral se usó el índice de placa (IP) a través del Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS) de Green y

Vermillion, el cual consistió en los siguientes parámetros: 1) ausencia de placa; 2) residuos blandos que cubren menos de un tercio de la superficie del diente; 3) residuos blandos y tártaro que cubren más de la tercera parte, pero menos de dos terceras partes de la superficie dental; 4) residuos que cubren más de las dos terceras partes. Para el IP se sumaron los valores obtenidos y se dividen entre el número de superficies examinadas usando los siguientes valores para su evaluación: 1.0 a 1.2 = buena higiene; 1.3 a 3.0 = higiene regular; y 3.2 a 6.0 = mala higiene. Para el índice de cálculo dental (IC) se usaron los mismos parámetros que el IP adaptados al cálculo dental. Las características periodontales se evaluaron con la profundidad de bolsa (PB) expresada en milímetros desde el margen gingival al fondo de la bolsa periodontal y con el nivel de inserción clínica (NIC) la cual se expresa como la distancia en milímetros desde el límite amelocementario hasta el fondo de la bolsa. El examinador fue calibrado por cirujanos dentistas y especialistas en el área de periodoncia clínica para todas las variables usadas en el estudio obteniendo un valor Kappa general de 0,80.

Recolección de la saliva. La saliva se recolectó en las primeras horas de la mañana, solicitándoles con anterioridad que no tomaran alimento ni cepillaran sus dientes una hora antes del muestreo. Previa a la toma de saliva se les pidió a los pacientes que masticaran papel de parafina durante 5 min para inducir la estimulación de la saliva. La saliva se recolectó en tubos eppendorf de 1,7 mL, que se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min a 4°C para remover células escamosas, separando el sobrenadante para realizar los experimentos de la enzima LDH.

Toma y determinación del volumen de FCG. Las muestras de FCG se recolectaron de las zonas mesial, distal o vestibular de cuatro dientes en todos los pacientes utilizando puntas de papel estériles estandarizadas de endodoncia del No. 30 (Hygienic, USA) de acuerdo con lo reportado previamente (Medlicott *et al.*, 1995). Se eliminaron los restos de placa dental de los dientes a muestrear con una cureta periodontal (HuFreydy, USA) cuidando de no involucrar la encía. Se aisló la zona con rollos de algodón y se secó la superficie dentaria con aire de la jeringa triple durante periodos de 5 a 10 s. Se insertaron las puntas de papel a 1 mm dentro del surco gingival durante 30 s sin ejercer presión, descartando las puntas contaminadas con saliva o sangre. Posteriormente, se transportaron a los tubos eppendorf previamente rotulados y se guardaron a -20°C hasta realizar los

experimentos. El volumen del FCG se determinó pesando las puntas de papel antes y después de la toma de la muestra en una balanza analítica (Sartorius, USA). La diferencia de los valores obtenidos en gramos (g) fue convertido hacia unidades de volumen (μL) considerando el valor de la densidad = 1, la diferencia de peso mostró el volumen absorbido en las puntas de papel.

Actividad de la enzima LDH. La actividad de LDH en la saliva se determinó recolectando 80 μL de sobrenadante de la saliva y se incubaron con 0,244 mM de nicotidamida adenín dinucleótido reducido (NADH) en un amortiguador de Tris (81,3 mM) y cloruro de sodio (NaCl, 203,3 mM) a un pH 8,6 en un sustrato con 0,244 mM de NADH y por último se añadieron 170 μL de piruvato (9,76 mM) a las muestras de saliva. Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro de la línea BIO-RAD Benchmark Plus en un rango de absorbancia de 340 nm a intervalos de 15 segundos durante 2 min. La reacción se realiza debido a que en presencia de LDH el piruvato es reducido a lactato con la oxidación simultánea de NADH consumido, éste último es directamente proporcional a la actividad de LDH en la saliva y en las puntas de papel con las muestras. Los resultados obtenidos en el espectrofotómetro se convirtieron hacia unidades de actividad enzimática que corresponden a (1 unidad= μmol de NAD^+ que se incrementa por minuto a 30°C) y son expresados como el total de la

actividad de LDH (μmol unidades/L) por muestra. Se tomó como variable principal a la LDH para detectar una diferencia de 0,4 U/mL con una desviación estándar de $\pm 0,1$. La prueba fue para 2 muestras independientes de 2 colas con un alfa de 0,01 (para compensar por múltiples comparaciones entre los 4 grupos) y con un poder del 90%.

Análisis estadístico. Las calibraciones inter e intraobservador para todos los índices se realizaron a través del análisis Kappa ponderada de Cohen. El IG, IP, IC se expresaron en frecuencias y porcentajes, posteriormente se expresaron en promedios y desviaciones estándar. La PB y NIC fueron expresados en promedios y desviaciones estándar. La normalidad de los datos fue determinada por la prueba de Shapiro-Wilk. La comparación independiente entre grupos para variables paramétricas se utilizó la T de Student y para las variables no paramétricas se usó la prueba U de Mann-Whitney. Para la determinación del nivel de asociación para variables categóricas se utilizó la prueba de Chi cuadrada de Pearson. Las diferencias significativas se determinaron cuando $p < 0,05$.

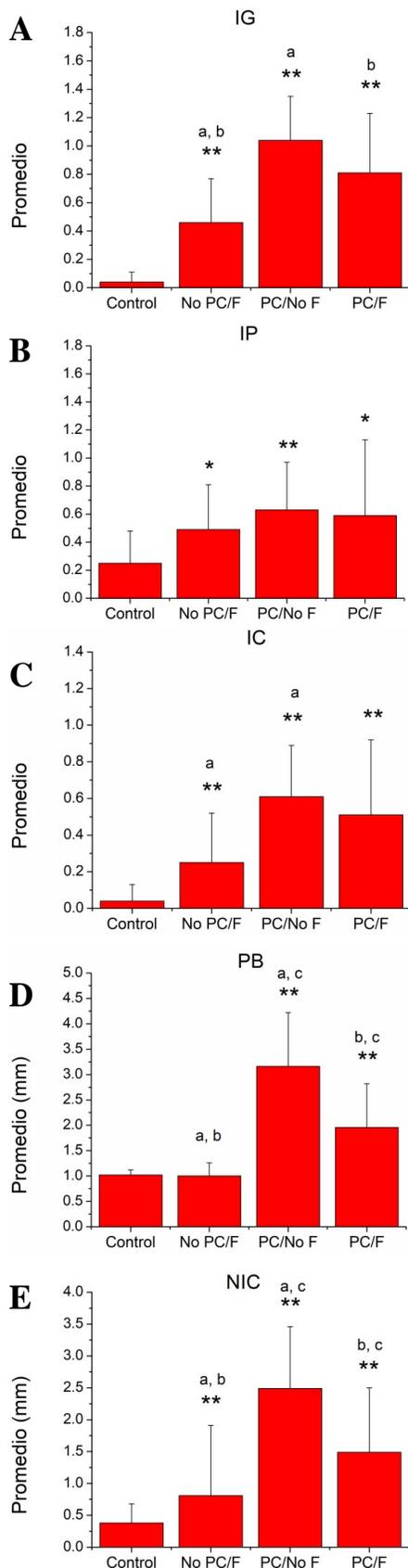
RESULTADOS

En la Tabla I se identifican las características clínicas sociodemográficas, de higiene bucal y periodontales en los grupos de estudio. Los sujetos incluidos fueron esencialmente jóvenes adultos cer-

Tabla I. Características clínicas y periodontales de los diferentes grupos de estudio.

	Sin PC / sin fumar n = 14 sujetos (%)	Sin PC / fuman n = 14 sujetos (%)	PC / sin fumar n = 12 sujetos (%)	PC / fuman n = 18 sujetos (%)	Valor p
Edad (años)	35,1 \pm 5,4	38,2 \pm 8,3	39,3 \pm 7,2	39,4 \pm 7,6	0,321
Índice gingival					
Ausencia	13 (92,9)	13 (92,9)	6 (50)	11 (61,1)	0,009
Leve	1 (7,1)	1 (7,1)	6 (50)	7 (38,9)	
Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Severo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Índice de placa					
Ausencia	13 (92,9)	11 (78,6)	11 (91,7)	15 (83,3)	0,453
Leve	1 (7,1)	3 (21,4)	1 (8,3)	2 (11,1)	
Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5,6)	
Severo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Índice de cálculo					
Ausencia	14 (100)	14 (100)	10 (83,3)	13 (72,2)	0,007
Leve	0 (0)	0 (0)	2 (16,7)	5 (27,8)	
Moderado	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Severo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
NIC (mm)	0,38 \pm 0,08	0,80 \pm 0,06	2,4 \pm 0,27	1,4 \pm 0,23	0,000
PB (mm)	1,02 \pm 0,02	1,0 \pm 0,06	3,16 \pm 0,30	1,96 \pm 0,25	0,000
Volumen FCG (μL)	0,24 \pm 0,06	0,47 \pm 0,24	0,50 \pm 0,25	0,56 \pm 0,26	0,000

La edad, NIC y PB son expresados en promedios y desviaciones estándar, PB = profundidad de bolsa periodontal; NIC = nivel de inserción clínica. Las diferencias significativas entre grupos se determinaron cuando $p < 0,05$.



canos a la cuarta década de vida (35,1 – 39,4 años) distribuidos estadísticamente homogéneo en cada uno de los grupos ($p > 0,05$). El IG y el IC determinó que los pacientes con mayores acumulaciones de placa dentobacteriana y calculo dental (niveles de acumulación leve para ambos índices) fueron principalmente los sujetos con PC que fumaban (61,1 y 12,1%) y no fumaban (50 y 16,7%), determinando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Contrastemente, el IP mostraron niveles de distribución de placa dentobacteriana similar en todos los grupos ($p > 0,05$). Por otro lado, los marcadores periodontales mostraron que los sujetos con PC fumadores y no fumadores tuvieron estadísticamente los niveles altos en la PB (no fumadores = $3,16 \pm 0,305$ mm, y fumadores = $1,96 \pm 0,255$ mm) y NIC (no fumadores = $2,4 \pm 0,27$ mm, y fumadores = $1,4 \pm 0,23$ mm) en comparación con aquellos pacientes que no tuvieron PC (0,38 - 1,02 mm). Finalmente, los volúmenes de FCG fueron más elevados en el grupo de sujetos con PC fumadores ($0,56 \pm 0,26$ μ L) y no fumadores ($0,50 \pm 0,25$ μ L), seguido de sujetos fumadores sin PC ($0,47 \pm 0,24$ μ L) y, finalmente, los sujetos con volúmenes más bajos fueron pacientes sin PC que no fumaban ($0,24 \pm 0,06$ μ L). Lo anterior sugiere que los sujetos incluidos en los diferentes grupos estuvieron distribuidos uniformemente de acuerdo con la edad y el IP; sin embargo, los sujetos con PC, tanto fumadores como no fumadores, demostraron niveles más altos en los marcadores periodontales, sugiriendo estados más severos de la enfermedad periodontal con volúmenes de FCG más elevados.

En la Figura 1 se muestran las características clínicas periodontales de los diferentes grupos de pacientes con PC y F. Los indicadores de higiene bucal determinaron que los estados de IG, IP e IC (Fig. 1a, 1b y 1c) demostraron niveles estadísticos más elevados en los grupos de sujetos con PC fumadores y no fumadores, así como fumadores sin PC comparado con el grupo control (sujetos no fumadores y sin PC) ($p < 0,05$). Así mismo, los marcadores periodontales mostraron profundidades al sondeo estadísticamente mayores en sujetos fumadores y no fumadores con PC (1,96 – 3,16 mm) en comparación con los sujetos fumadores y no fumadores sin PA (1,0 - 1,02 mm) (Fig. 1d). Mientras que para el NIC los sujetos con PC fumadores y no fumadores, así como sujetos fumadores sin PC demostraron significativamente niveles más severos de la enfermedad (0,81 - 2,49 mm) en comparación con el grupo control (0,38 mm) (Fig. 1e). Particularmente, el grupo de sujetos con PC no fumadores presentaron los niveles estadísticamente más altos en todos los marcadores clínicos y periodontales, seguido secundariamente por los sujetos con PC fumadores ($p < 0,05$). Lo anterior sugiere que la actividad de fumar se relaciona directamente con el aumento de la enfermedad periodontal, en este caso la PC; sin embargo, la presencia aislada de la PC (sin la presencia de fumar) se asocia con estadios más severos de la enfer-

Fig. 1. Características clínicas periodontales de los diferentes grupos de pacientes con PC y F. IG = índice gingival; IP = índice de placa; IC = índice de cálculo; PB = profundidad de bolsa periodontal; NIC = nivel de inserción clínica. * indica diferencias significativas con el grupo control ($p < 0,05$); ** indica diferencias significativas con el grupo control ($p < 0,01$); letras similares indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

medad periodontal. En otras palabras, la actividad de fumar se asocia moderadamente con el incremento de los parámetros clínicos y periodontales en sujetos con y sin PC.

En la Figura 2 se muestran los resultados de la actividad de la LDH en FCG y saliva en los distintos grupos de estudio. En general, las concentraciones de la enzima LDH evaluadas en FCG (fumadores= 40 y 16 μ U/mL, y no fumadores= 20 y 5 μ U/mL) y saliva (fumadores= 38 y 21 μ U/mL, y no fumadores= 16 y 5,7 μ U/mL) tuvieron valores de concentraciones muy similares entre las técnicas (Fig. 2). Así mismo, se encontró que los niveles de la enzima LDH en FCG tuvieron valores estadísticamente más altos en pacientes con PC tanto en pacientes fumadores (40 \pm 12 μ U/mL) como en no fumadores (20 \pm 8 μ U/mL) en comparación que los pacientes sin PC (16 \pm 6 y 5 \pm 3 μ U/mL, respectivamente) (Fig. 2a). Pero también, los pacientes fumadores tuvieron significativamente mayor actividad de la LDH en FCG (16 - 40 μ U/mL) en comparación con aquellos sujetos no fumadores (5 - 20 μ U/mL) (Fig. 2b). Por otro lado, la concentración de LDH en saliva también determinó niveles mayores de la enzima en pacientes con PC fumadores (38 \pm 9 μ U/mL) y no fumadores (16 \pm 5 μ U/mL) comparado con los pacientes sin PC (21 \pm 7 y 5,7 \pm 3 μ U/mL, respectivamente) (Fig. 2c). Así mismo, los sujetos fumadores presentaron estadísticamente niveles más elevados de la enzima tanto en pacientes con y sin PC (21- 38 μ U/mL) en comparación de aquellos pacientes no fumadores (5,7 - 16 μ U/mL) (Fig. 2d). Particularmente, los sujetos fumadores con PC y fumadores sin PC presentaron estadísticamente los niveles más elevados de la enzima LDH en FCG y saliva comparada con los otros sujetos. Lo anterior sugiere que la actividad de fumar podría actuar como un predisponente en la aparición de estados más severos de la enfermedad periodontal, facilitando la evolución y progresión de la periodontitis crónica, incluso en pacientes que aun no tienen la enfermedad.

DISCUSIÓN

Este estudio determinó que la identificación de la enzima LDH analizada desde el FCG y saliva resultaron en evaluaciones muy similares de acuerdo con las concentraciones obtenidas en la enzima LDH para ambas formas de recolección. Adicionalmente, se encontró que los sujetos fumadores con y sin PC podrían significativamente desarrollar mayores cantidades de FCG y niveles más elevados de la enzima LDH en FCG y saliva. Esto sugiere que los pacientes con PC tienen niveles de la enzima LDH considerablemente más elevados en FCG y saliva que los otros grupos; pero también se podría proponer que la actividad de fumar podría actuar como un factor que facilita la aparición y progresión de las enfermedades periodontales a estados más severos de la enfermedad, como la PC. Hasta nuestro conocimiento, este es el primer trabajo que ha determinado la actividad de la LDH en saliva y FCG como un biomarcador potencialmente utilizable en el diagnóstico, control, y prevención de PC en sujetos

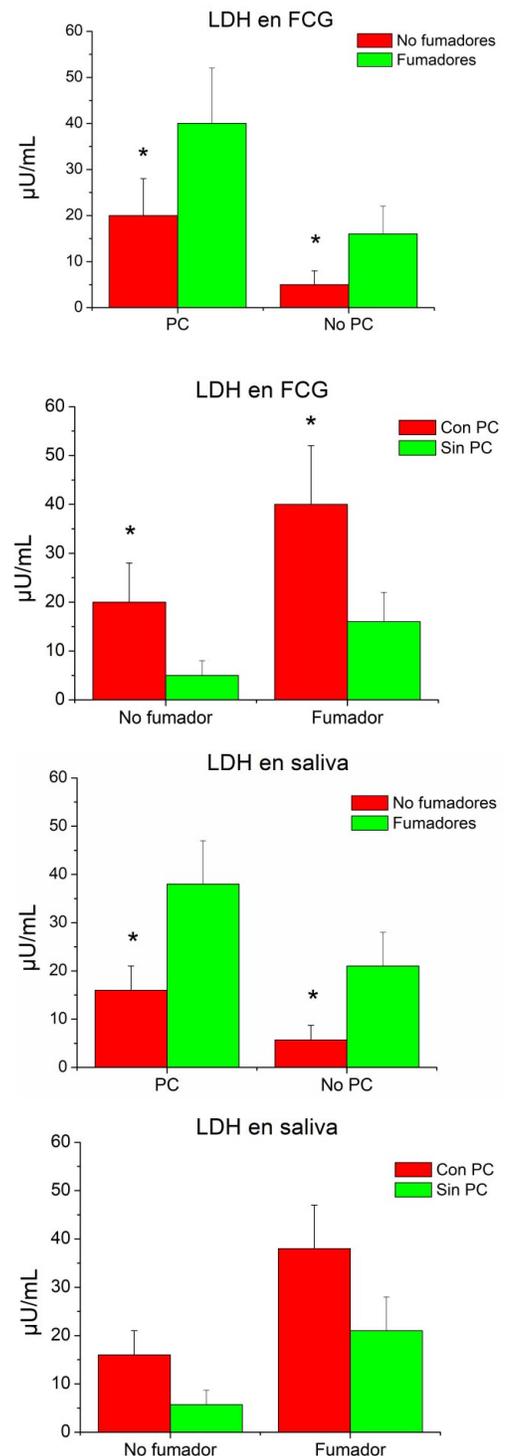


Fig. 2. Concentración de FCG y actividad de la LDH en FCG y saliva en los distintos grupos de estudio. IG = índice gingival; IP = índice de placa; IC = índice de cálculo; PB = profundidad de bolsa periodontal; NIC = nivel de inserción clínica. * indica diferencias significativas entre subgrupos ($p < 0,05$); ** indica diferencias significativas con el grupo control ($p < 0,01$).

fumadores y no fumadores que viven en la zona norte de nuestro país. Estos resultados son resaltables debido a que sujetos propiamente fumadores podrían desarrollar la aparición y un avance gradual de las enfermedades orales, acelerando la aparición de la enfermedad respecto al hábito persistente de fumar. Esta información podría ser de gran ayuda en el control y prevención de enfermedades orales consideradas como un problema de salud pública asociadas al consumo de tabaco en nuestra población.

Recientemente, se ha propuesto el uso de los fluidos corporales como la saliva y el FCG como marcadores biológicos para detectar enfermedad periodontal, tal es el caso de la enzima intracelular LDH utilizada en este estudio (Totán *et al.*, 2006; Di Lenardo *et al.*, 2019). La determinación de la actividad de la enzima LDH indica que existe un proceso destructivo de los tejidos periodontales, pues en condiciones normales esta enzima se encuentra en el interior de las células, y debido al edema o destrucción de la membrana celular, esta enzima intracitoplasmática se libera hacia el medio extracelular llegando al fluido crevicular gingival y la saliva, donde se puede comprobar su actividad (Ansari Moghadam *et al.*, 2022). En este estudio, los volúmenes del FCG resultaron mayores en los pacientes fumadores con y sin PC al compararlos con los pacientes sanos. En la encía estrictamente normal se puede o no recolectar el FCG, lo que puede explicar que el grupo de pacientes sanos también muestre niveles altos del FCG. Así mismo, en éste estudio la actividad de la enzima LDH aumentó de forma significativa en el FCG y saliva de los pacientes fumadores con PC cuando se compararon con el resto de los grupos (Fig. 2), sugiriendo que el uso del tabaco daña a los tejidos periodontales por lo que se libera esta enzima hacia el fluido crevicular gingival (Alexandridi *et al.*, 2018; Leite *et al.*, 2018; Hao *et al.*, 2023). Autores han reportado que la nicotina contribuye al progreso de la enfermedad periodontal ya que ésta provoca una vasoconstricción con lo que se compromete la irrigación sanguínea (Chaffee *et al.*, 2021). Pero también, otros autores han evaluado la enzima LDH de saliva y FCG de pacientes con periodontitis y pacientes sanos, reportando mayor actividad enzimática de la LDH en los pacientes enfermos (Zappacosta *et al.*, 2007), coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio. Otros autores han estudiado a pacientes fumadores y su relación con las enfermedades orales concluyendo que fumar cigarro causa incremento del volumen del FCG (McLaughlin *et al.*, 1993) y la disminución de la enzima en FCG en fumadores crónicos (Preber & Bergström, 1986).

Es bien sabido que la enzima LDH es un indicador de un alto nivel de daño celular y su actividad aumentada es consecuencia de tejidos periodontales lesionados que, al mismo tiempo, son reflejo de la encía inflamada (Ansari Moghadam *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2023). Debido a que el FCG está más en contacto con el tejido periodontal, al menos teóricamente, debería reflejar más exactamente lo que ocurre a nivel tisular periodontal. Esto indica que la enzima LDH determinada en pacientes fumadores y no fumadores en FCG y saliva podría actuar como marcador bioquímico del periodonto en el proceso salud-enfermedad, lo cual podría predecir la aparición de enfermedades periodontales, como la PC, incluso antes de la manifestación clínica de la PC. Aunque este estudio podría recomendar el uso de FCG y saliva para la determinación de la enzima LDH para el diagnóstico y pronóstico de la PC en pacientes fumadores y no fumadores, es necesario utilizar nuevas y mejores estrategias metodológicas y moleculares para el mejor entendimiento clínico de estos biomarcadores enzimáticos en el desarrollo, progresión y prevención de la PC. El mejoramiento de la técnica de recolección de la muestra, principalmente en FCG, representa una de las limitaciones más importantes debido a la escasez de volumen inicial en todos los pacientes; mientras que la saliva, por su notoria abundancia en la mayoría de los pacientes, representa una técnica más sencilla, predecible y atraumática, en el caso de los pacientes. Indudablemente, otras investigaciones clínicas, biomoleculares e histopatológicas son necesarias para el entendimiento más claro en el uso seguro y predictivos de estas técnicas de evaluación para la identificación, seguimiento y evaluación de la PC en pacientes fumadores. Adicionalmente, también es necesario otras investigaciones de asociación que determinen mucho mejor la relación en la predisposición de la PC en paciente fumadores a través del uso de la enzima LDH en muestras de saliva y FCG.

En conclusión, este estudio determinó que la identificación de la enzima LDH a través del FCG y saliva de pacientes fumadores con y sin PC resultaron en técnicas de evaluación muy similares. También se encontró que la actividad de la enzima LDH estuvo incrementada de manera significativa en la saliva y el FCG de los pacientes fumadores con PC. Adicionalmente, se identificó que la actividad de fumar puede actuar como un factor predisponente en la aparición y desarrollo de las enfermedades periodontales debido al aumento de la concentración de la LDH en pacientes fumadores sin PC. Aunque estos resultados consideran que la actividad de la LDH

puede relacionarse como un marcador biológico indicativo del daño tisular provocado por el efecto del tabaco y la enfermedad periodontal, actuando como un elemento diagnóstico y pronóstico de la PC, es necesario nuevos y mejores enfoques de evaluación clínica y molecular que garanticen el uso seguro y predecible de estas herramientas diagnósticas en la identificación, control y prevención de la PC en pacientes fumadores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al programa de Especialidad de Periodoncia del Departamento de Estomatología del Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ, y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo y las facilidades brindadas para el desarrollo de este estudio.

GUZMÁN-GASTELUM, D.A.; DONOHUE-CORNEJO, A.; VARELA-GONZÁLEZ, E.; CUEVAS-GONZÁLEZ, M.V.; PERALTA-ESTRADA, R.; COBOS-FLORIANO, S.; FONTES-GARCÍA, Z. & ESPINOSA-CRISTÓBAL, L.F. Dehydrogenase lactate enzyme in saliva and gingival crevicular fluid in smoking and non-smoking patients with chronic periodontitis. *Int. J. Odontostomat.*, 19(3):215-223, 2025.

ABSTRACT: Chronic periodontitis (CP) is an inflammatory disease that damages the supporting tissues of the teeth. It is considered one of the most common oral problems worldwide, aggravated in many cases by smoking. Although lactate dehydrogenase (LDH) has been linked to periodontal tissue involvement, few studies have evaluated LDH activity in the saliva and gingival crevicular fluid (GCF) of smokers and non-smokers with CP. This study aimed to determine the volume of GCF and LDH activity in GCF and saliva of smokers with CP. Male subjects over 40 were selected and divided into four groups: 1) smokers with CP; 2) smokers without CP; 3) non-smokers with CP; and 4) non-smokers without CP. The diagnosis of CP was made using the gingival index (GI), plaque index (PI), calculus index (CI), pocket depth (PD), and clinical attachment level (CAL). Saliva and FCG samples were collected from periodontal pockets ≥ 4 mm to determine FCG volume and LDH activity. The FCG volume in saliva and FCG was significantly elevated in CP patients (0.50 - 0.56 μ L) compared to non-CP subjects (0.24 - 0.47 μ L). LDH activity was statistically higher in AP smokers ($\sim 40 \pm 12$ μ U/mL) and non-CP smokers ($\sim 16 \pm 6$ μ U/mL). Both sample types (saliva and FCG) had similar concentrations of LDH activity. Identification of LDH in saliva and FCG from CP smokers and non-smokers could be a periodontal diagnostic tool for the identification, control, prevention, and prognosis of CP in smokers.

KEY WORDS: chronic periodontitis, lactate dehydrogenase, smoking, periodontal disease.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandridi, F.; Tsantila, S. & Pepelassi, E. Smoking cessation and response to periodontal treatment. *Aust. Dent. J.*, 63(2):140-9, 2018.
- ALHarthi, S. S. Y.; Natto, Z. S.; Middle, J. B.; Gyrko, R. & O'Neill, R.; Steffensen, B. Association between time since quitting smoking and periodontitis in former smokers in the National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) 2009 to 2012. *J. Periodontol.*, 90(1):16-25, 2019.
- Ansari Moghadam, S.; Ahmadi Moghadam, F. S. & Alijani, E. Diagnostic accuracy of salivary biomarkers including lactate dehydrogenase and hemoglobin A1c for screening chronic periodontitis. *Dis. Markers.*, 2022:1119038, 2022.
- Baima, G.; Corana, M.; Iaderosa, G.; Romano, F.; Citterio, F.; Meoni, G.; Tenori, L. & Aimetti, M. Metabolomics of gingival crevicular fluid to identify biomarkers for periodontitis: A systematic review with meta-analysis. *J. Periodontol. Res.*, 56(4):633-45, 2021.
- Blair, F. M. & Chapple, I. L. C. Prescribing for periodontal disease. *Prim. Dent. J.*, 3(4):38-43, 2014.
- Calsina, G.; Ramón, J.-M.; Echeverría, J.-J. Effects of smoking on periodontal tissues. *J. Clin. Periodontol.*, 29(8):771-6, 2002.
- Chaffee, B. W.; Couch, E. T.; Vora, M. V. & Holliday, R. S. Oral and periodontal implications of tobacco and nicotine products. *Periodontol.* 2000., 87(1):241-53, 2021.
- Dembowska, E.; Jaron, A.; Gabrysz-Trybek, E.; Bładowska, J. & Trybek, G. Evaluation of common factors of periodontitis and cardiovascular disease in patients with the acute coronary syndrome. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, 19(13):8139, 2022.
- Di Lenardo, D.; Silva, F. R. P. D.; de Carvalho França, L. F.; Carvalho, J. D. S.; Alves, E. H. P. & Vasconcelos, D. F. P. Evaluation of Biochemical Parameters Present in the Saliva of Patients with Chronic Periodontitis: Results from a Meta-Analysis. *Genet. Test. Mol. Biomarkers.*, 23(4):255-63, 2019.
- Etter, J. F.; Vu Duc, T. & Perneger, T.V. Saliva cotinine levels in smokers and nonsmokers. *Am. J. Epidemiol.*, 151(3):251-8, 2000.
- Hao, C.-P.; Cao, N.-J.; Zhu, Y.-H. & Wang, W. The impact of smoking on periodontitis patients' GCF/serum cytokine profile both before and after periodontal therapy: a meta-analysis. *BMC Oral Health*, 23(1):60, 2023.
- Leite, F. R. M.; Nascimento, G. G.; Scheutz, F.; López, R. Effect of smoking on periodontitis: A systematic review and meta-regression. *Am. J. Prev. Med.*, 54(6):831-41, 2018.
- McGuire, J. R.; McQuade, M. J.; Rossmann, J.A.; Garnick, J. J.; Sutherland, D. E.; Scheidt, M. J. & Van Dyke, T. E. Cotinine in saliva and gingival crevicular fluid of smokers with periodontal disease. *J. Periodontol.*, 60(4):176-81, 1989.
- McLaughlin, W. S.; Lovat, F. M.; Macgregor, I. D. M. & Kelly, P. J. The immediate effects of smoking on gingival fluid flow. *J. Clin. Periodontol.*, 20(6):448-51, 1993.
- Medlicott, N. J.; Tucker, I. G.; Rathbone, M. J.; Holborow, D. W. Determination of small sample volumes in the analysis of drugs at specific sites in the oral cavity. *J. Periodontol. Res.*, 30(2):144-6, 1995.
- Mills, A. & Levin, L. Inequities in periodontal disease prevalence, prevention, and management. *Quintessence. Int.*, 53(2):122-32, 2022.
- Papapanou, P. N.; Sanz, M.; Buduneli, N.; Dietrich, T.; Feres, M.; Fine, D. H.; Flemmig, T. F.; Garcia, R.; Giannobile, W. V.; Graziani, F.; Greenwell, H.; Herrera, D.; Kao, R. T.; Kebschull, M.; Kinane, D. F.; Kirkwood, K. L.; Kocher, T.; Kornman, K. S.; Kumar, P. S.; Loos, B. G.; Machtei, E.; Meng, H.; Mombelli, A.;

- Needleman, I.; Offenbacher, S.; Seymour, G. J.; Teles, R. & Tonetti, M. S. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Periodontol.*, 89 Suppl 1:S173-S182, 2018.
- Preber, H. & Bergström, J. Cigarette smoking in patients referred for periodontal treatment. *Scand. J. Dent. Res.*, 94(2):102-8, 1986.
- Toledo Pimental, B.; González Díaz, M.E.; Alfonso Tarraú, M. S.; Pérez Carrillo, A. & Rodríguez Linares, M. L. Tabaquismo y enfermedad periodontal. *Rev. Cuba. Med. Mil.*, 31(2):94-9, 2002.
- Totan, A.; Greabu, M.; Totan, C. & Spinu, T. Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases? *Clin. Chem. Lab. Med.*, 44(5):612-5, 2006.
- World Health Organization (WHO). *Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061484>. Published 2022. Accessed January 10, 2025.
- Zappacosta, B.; Manni, A.; Persichilli, S.; Boari, A.; Scribano, D.; Minucci, A.; Raffaelli, L.; Giardina, B. & De Sole, P. Salivary thiols and enzyme markers of cell damage in periodontal disease. *Clin. Biochem.*, 40(9-10):661-5, 2007.
- Zhang, Z.; Cui, S.; Fu, Y.; Wang, J.; Liu, J. & Wei, F. Mechanical force induces mitophagy-mediated anaerobic oxidation in periodontal ligament stem cells. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 28(1):57, 2023.

Autor de correspondencia:
Dr. León Francisco Espinosa Cristóbal
Maestría en Ciencias Odontológicas
Departamento de Estomatología
Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez
Ciudad Juárez
Chihuahua
MÉXICO

E-mail: leohamet@hotmail.com