

Tabelul 1

Rezultatul acțiunii tratamentului cu ozon asupra funcției secretorii exocrine a pancreasului la bolnavii cu pancreatită cronică (M ± m)

Indicii secreției pancreatice	Grupa de control (n = 30)	Până la tratament	După tratament	
			Prima grupă (n = 30)	A doua grupă (n = 30)
Tensiunea sucului pancreatic pe ore (ml)	78,6 ± 8,3	39,2 ± 7,4*	64,3 ± 7,8**	42,3 ± 8,1
Concentrația medie a amilazei după stimulare (U/l)	278 ± 31	176,1 ± 19,05*	251,81 ± 24,1**	181,72 ± 26,3
Concentrația medie de alcalinitate a bicarbonatului timp de o oră de la stimulare (U/ml)	105,9 ± 3,1	92,6 ± 5,3*	103,9 ± 4,1**	98,9 ± 4,4
Rata secreției sucului în medie pe oră de la stimulare (ml/min)	2,32 ± 0,21	1,8 ± 0,2*	2,1 ± 0,4	1,9 ± 0,45
Debitul amilazei în medie pe oră de la stimulare (u/min/kg/corp)	7,29 ± 0,6	5,01 ± 1,01*	5,46 ± 1,03	5,26 ± 1,04
Debitul bicarbonaților în medie pe oră de la stimulare (u/min/kg)	3,14 ± 0,6	2,6 ± 0,7*	3,11 ± 1,3**	2,81 ± 1,31

Notă: *p < 0,05 – între indicii grupei de control după tratament; **p < 0,05 – între indici până și după tratament.

98,9 ± 4,4 (p > 0,5). La bolnavii primei grupe a fost observată modificarea debitului bicarbonatului, în medie, la stimularea timp de o oră, de la 2,6 ± 0,7 până la 3,11 ± 1,3 (p < 0,05). La pacienții din al doilea grup, modificarea ratei de producere a bicarbonaților în medie pe oră, de stimulare a avut o direcție analogică – de la 2,6 ± 0,7 până la 2,81 ± 1,31 (p > 0,5).

Concluzii

1. Incluziunea ozonului în tratamentul complex al pacienților cu pancreatită cronică are un efect benefic asupra stării funcției exocrine a pancreasului.

2. Administrarea soluției ozonate permite creșterea eficacității tratamentului administrat, cu reducerea dozei preparatelor enzimatice în terapia de substituție.

Bibliografie

1. Rilling S, Viebahn R. The use of ozone in medicine. New York, 1987;283.
2. Viebahn R. The use of ozone in medicine. 2nd ed. Heidelberg: Karl F. Haug Publishers. 1994;1-178.

3. Контрощикова КН. Биологические основы эффективности озонотерапии. 2-я Всерос. науч.-практ. конф. «Озон в биологии и медицине». Н. Н. 1997;8.
4. Максимов ВА, Каратаев СД, Чернышев АЛ. Озонотерапия в гастроэнтерологии (обзор). *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 1998;2:28-31.
5. Максимов ВА, Щербина ТМ. Использование озона в лечении пациентов с гастродуоденальной патологией и сахарным диабетом. 1-й Российский съезд геронтологов и гериатров, Самара. 1999;192
6. Масленников ОВ, Контрощикова КН. Озонотерапия внутренних болезней. Пособие для врачей. Н. Н. 1999.
7. Озон и методы эфферентной терапии в медицине. Тезисы докладов 4-й Всероссийской научно-практической конференции. Н. Новгород. 2000.
8. Миненков АА, Филимонов РМ, Покровский ВИ, и др. Основные принципы и тактика озонотерапии. (Пособие для врачей). 2000;40.

Nicolae Bodrug, dr. h., profesor
Catedra Medicină internă nr. 6
USMF "Nicolae Testemițanu"
Chișinău, str. A. Puskin, 51
E-mail: n_gheorghe@mail.ru

Recepționat 16.04.2010

Determinarea calciului salivar – rolul său în etiopatogenia bolii carioase

O. E. Picu¹, V. Bodrug²

Universitatea "Lucian Blaga", Sibiu, România¹
Catedra Stomatologie terapeutică², USMF „Nicolae Testemițanu”

Determination of Salivary Calcium – its Role in Caries Etiopathogenesis

Clinical examinations for this study included: observation sheet, followed by harvesting of saliva in order to carry out biochemical measurements of pH, salivary buffer capacity of saliva and total calcium concentration. It was determined that saturation of saliva with calcium phosphate is an important factor in maintaining low solubility of enamel, Ca ions and H₂PO₄ blocking the release of Ca from dental hard tissues. As long as the layer of saliva is in contact with a tooth's hard surface saturated with Ca-phosphate, its release from the structure of dental hard tissues is blocked.

Key words: calcium-phosphate, saturation, saliva, dental caries.

Определение кальция в слюне и его роль в этиопатогенезе заболевания кариесом

Определяли pH, буферность и общий кальций слюны. Было установлено, что насыщение слюны фосфатом кальция является важным фактором в поддержании низкой растворимости эмали. Ионы Ca и H₂PO₄ блокируют выделение кальция из твердых тканей зуба. Пока слой слюны в контакте с твердой поверхностью зуба насыщен фосфатом кальция, его выделение из твердых тканей зуба угнетено.

Ключевые слова: фосфат кальция, насыщенность, слюна, кариес зубов.

Introducere

Studiile histologice au jucat un rol important în realizarea ideii, că o carie dentară nu este doar un simplu proces de demineralizare progresivă, ci un proces alternant de distrucție și de reparare [13].

În ultimii ani au apărut studii, care dovedesc succesul terapiei conservatoare prin remineralizarea leziunilor incipiente, folosind diferite metode pentru reducerea morbidității prin caria dentară.

Cercetările clinice și de laborator au reliefat o serie de caracteristici, întâlnite la marea majoritate a pacienților în apariția și dezvoltarea leziunilor carioase:

- existența unei zone specifice pe suprafața dentară;
- existența unor perioade intermitente de demineralizare și remineralizare;
- după o perioadă de demineralizare urmează dezintegrarea componentei organice și apariția de cavități;
- dacă în procesul de apariție a leziunii carioase, într-un anumit interval de timp, predomină fenomenele de remineralizare, leziunea se oprește la un moment dat, devine statică, iar țesuturile ramolite anterior se întăresc.

Material și metodă

Examinările clinice efectuate în vederea întocmirii foii de observație, au fost urmate de recoltări de salivă în vederea efectuării unor determinări biochimice a pH-ului, capacității tampon salivare și a calciului total salivar.

Experimentul s-a aplicat în condiții identice la cei 120 de pacienți, dispensarizați și divizați în două loturi, de cariorezistenți, la care s-a efectuat:

- examinarea clinică a pacienților;
- recoltarea probelor;
- determinarea Ca total salivar;
- determinarea pH-ului salivar;
- determinarea sistemelor tampon salivare-fosfații anorganici salivari.

Determinarea calciului salivar total

Din multitudinea testelor de laborator, am folosit testul colorimetric pentru determinarea calciului salivar total.

1. Test colorimetric pentru determinarea Calciului

- a) Prezentare : 2 flacoane cu 100 ml reactiv colorant
2 flacoane cu 100 ml tampon
1 flacon cu 5 ml calibrator
- b) Păstrare : se păstrează la temperatura camerei și se utilizează până la data indicată pe etichetă.
- c) Componente: Reactiv colorant (lichid):
Methylthymol Blue (MTB) = 0,14 μM/l
8 -Hidroxiquinolonă = 16,0 μM/l
HCl = 0,1 M/l

Tampon (lichid):

Tampon de etanolamină (pH = 2,5) = 2M/l

Sulfid de Na = 0,1%

Calibrator (lichid): Ca = 2,5 μM/l.

d) Principiul determinării: în mediul alcalin, ionii de Ca reacționează cu MTB și se formează un complex albastru. Creșterea densității optice al acestui complex la 578nm este direct proporțională cu concentrația calciului în probă.

e) Linearitate :- până la o concentrație de 5 μM/l;

-dacă concentrația Ca depășește această limită, se diluează proba cu apă distilată în proporție de 1:1 și se repetă determinarea;

-rezultatul se înmulțește cu 2;

-aparatură efectuează automat diluțiile necesare, în situația când valorile ies din liniaritate.

f) Interpretarea clinică : valorile normale depind pe lângă altele de structura etnică și de vârsta populației. Se recomandă ca fiecare laborator să-și stabilească propriile valori normale. Valori normale 1- 3 μM/l.

g) Tehnică:

- lungimea de undă Hg = 578 nm;

- distanța optică = 1 cm;

- temperatura = temperatura camerei;

- măsurare – creșterea densității optice față de blankul reactivului;

- se pipetează în cuve.

- se amestecă, se citește densitatea optică a probei față de cea a blankului reactivilor.

Tabelul 1

Efectuarea analizei în aparat

	Probă	Blankul reactivului
Probă	10 μl	----
Reactiv colorant	500 μl	500 μl
Tampon	500 μl	500 μl

Autoanalizorul LISA 500 (Fig. 1) este programat de pe un calculator atașat aparatului (Fig. 2), și efectuează automat toate calculele necesare, inclusiv diluțiile, în situația, în care valorile ies din liniaritate. Pentru acuratețe se efectuează zilnic standardizarea aparatului și verificarea lui cu ser de control.

Criterii de apreciere: pe baza determinărilor de laborator și a literaturii de specialitate, valorile normale ale calciului salivar total sunt cuprinse între 1-3 μM/l.

Pe lângă acest test colorimetric pentru dozarea calciului total salivar prin metoda „Calcium – MTB”, se mai poate folosi și testul de determinare cu orto-crezof-taleină.

2. Testul Calciu – O-Crezof-taleină

a) Principiul determinării: ionii de Calciu cu o-crezof-taleină în mediu bazic formează un complex de culoare



Fig. 1. Autoanalizorul LISA 500.

roșie. Intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația de Calciu din probă. Până la o concentrație de 4 $\mu\text{M/l}$, 8-hidroxichinolina blochează interferența ionilor de magneziu.

- b) Prezentare:
- 2 flacoane cu 100 ml reactiv colorant;
 - 2 flacoane cu 100 ml tampon;
 - 1 flacon cu 5 ml calibrator.
- c) Păstrare: se păstrează la temperatura camerei și se utilizează până la data indicată pe etichetă.
- d) Reactivi:
- Reactiv 1: Dietilamină = 500 $\mu\text{M/l}$;
 - Reactiv 2: - o-crezoftaleină = 0,62 $\mu\text{M/l}$;
 - 8-hidroxichinolină = 69 $\mu\text{M/l}$;
 - Standard: standard de calciu = 2,5 $\mu\text{M/l}$.
- e) Pregătirea amestecului: se amestecă un volum Reactiv 1 cu un volum Reactiv 2.
- f) Stabilitatea soluției: 20 – 25°C → 4 ore;
2 – 8°C → 20 ore.
- g) Condiții de lucru: - lungimea de undă: 570 nm;
- temperatura: 25°C;
- calea optică/cuvă: 1 cm;
- mod de măsurare: cu punct final.
- h) Metoda de lucru:

Tabelul 2

Efectuarea analizei în aparat

	Blanc	Standard	Probă
Amestec de reactivi	1 ml	1 ml	1 ml
Apă distilată	10 μl	-	-
Standard	-	10 μl	-
Probă	-	-	10 μl

După amestecare și o incubare de 5 minute la 20 – 25°C, se va citi valoarea absorbției (A), a probei și a standardului la 570 (550 – 590) nm, în cuve de 1 cm, față de blank.

i) Calcule: $(A \text{ probă} / A \text{ standard}) \cdot n$ (n = concentrația standardului = 2,5 $\mu\text{M/l}$).

j) Liniaritate: până la valoarea de 3,25 $\mu\text{M/l}$ absorbția este direct proporțională cu concentrația calciului.

3. Testul Calciu – Arsenaza III

a) Principiul determinării: în mediu neutru, în prezența



Fig. 2. Calculatorul Autoanalizorului LISA 500.

arsenazei III, ionii de Ca formează un compus colorat. Intensitatea colorației este proporțională cu concentrația ionilor de Calciu.

- b) Reactivi: + Reactiv 1: + Arsenaza III = 200 $\mu\text{M/l}$
- MES, pH = 6,5, 100 $\mu\text{M/l}$;
+ Standard: Calciu standard = 2,5 mM/l .

c) Efectuarea analizei: se vor folosi materiale de laborator de unică folosință. Reactivii sunt gata de întrebuințare și stabili la temperatura camerei până la data înscrisă pe etichetă.

d) Metoda de lucru:

Tabelul 3

Efectuarea analizei în laborator

	Martor	Standard	Probă
Reactiv	1 ml	1 ml	1 ml
Apă distilată	10 μl	-	-
Standard	-	10 μl	-
Probă	-	-	10 μl

După amestecare și o incubare de 1 minut la 25°C (30,37°C) se va citi absorbția probei și a standardului la 650 nm, în cuve de 1 cm, față de martor.

e) Calcule: $(A \text{ probă} / A \text{ standard}) \cdot n$ (n este concentrația standardului = 2,5 $\mu\text{M/l}$).

f) Liniaritate: până la concentrația de 4 mM/l , intensitatea colorației este direct proporțională cu concentrația ionilor de Calciu.

g) Observație:

- cantitatea probei se poate mări până la 25 μl , fără schimbarea performanței;

- se poate citi și la o lungime de undă de 600 nm după preferință.

Rezultate și discuții

Pe baza examinării complete și complexe, stipulată în foile de observație individuale, s-a evidențiat, că din totalul de 120 de pacienți, luați în studiu, cu vârste cuprinse între 11 și 60 de ani, un număr de 66 au fost de sex feminin și 54 de sex masculin, care reprezintă procentual 55 % respectiv 45 %.

Tabelul 4

Frecvența pacienților cariorezistenți – carioactivi

Total pacienti	Cariorezistenți	Carioactivi
120	48	72
100%	40	60

Tabelul 5

Reprezentarea pe sexe a lotului pacienților în studiu

Nr. total pacienti	femei	barbati
120	66	54
100%	55%	45%

Rezultatele obținute în urma calculului valorii medii a Ca salivar la cele două loturi au fost următoarele:

- la cariorezistenți = 3,05 μM/l;
- la carioactivi = 1,60 μM/l.

În reprezentarea grafică se poate observa diferența dintre cele două valori ale calciului salivar (Fig. 3).

Saliva umană, datorită prezenței ionilor de Ca și fosfat, are un potențial deosebit de remineralizare a smalțului cariat, potențial destul de constant la același individ și diferit de la un individ la altul. Componenta minerală a smalțului, dentinei și cementului este hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. La pH neutru, hidroxiapatita este în echilibru cu mediul oral, saturat cu ioni de Ca^{2+} și PO_4^{3-} .

Procesul de demineralizare este reversibil dacă pH-ul este neutru, iar în mediul lichid există suficienți ioni de Ca^{2+} și PO_4^{3-} .

Mecanismul de remineralizare constă în precipitarea ionilor de Ca și fosfat din mediul bucal sub forma unor fosfați de calciu insolubili și care se încorporează în smalțul demineralizat, desfășurând astfel defectele incipiente apărute în urma demineralizării superficiale.

Un impediment, deloc neglijabil, în realizarea unei remineralizări optime îl constituie anumite substanțe organice din lichidul bucal cum ar fi mucina. Aceasta din urmă, prin afinitatea sa crescută pentru hidroxiapatită, dă naștere unei pelicule aderente la suprafața smalțului, cu rol de barieră de difuziune în calea transportului ionic remineralizant. În

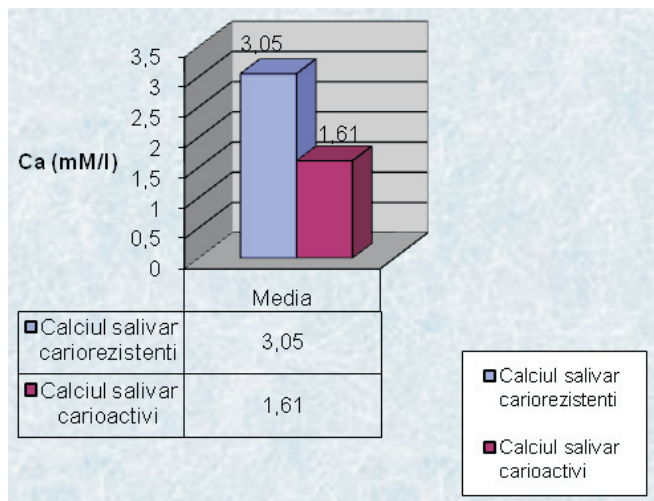


Fig. 3. Interrelația Ca salivar – caria dentară.

schimb prezența ionilor de F constituie un factor important în facilitarea pătrunderii ionilor remineralizanti cât mai profund în defectele de demineralizare.

Calciul salivar, în concentrație de 1–3 μM/l, se află sub formă liberă sau combinată chimic, în funcție de valoarea pH-ului.

Cercetătorii au încercat să identifice o corelație între frecvența cariilor la anumiți indivizi și nivelele salivare de calciu și fosfați din placă. S-a observat astfel, o mică diferență de suprasaturare între cei susceptibili la carii și cei cariorezistenți. Această diferență este cauzată în principal, de 0,3 unități. Deși foarte mică această diferență de pH, totuși ea determină importante implicații clinice, probabil datorită potențialului de mineralizare diferit al celor două plăci muco-bacteriene (la cariorezistenți și la cariosusceptibili).

Fosfații de calciu salivari participă în componența sistemelor tampon salivare, având rol în menținerea stabilității echilibrului mineral al țesuturilor dure dentare în procesele permanente de demineralizare și remineralizare din cavitatea orală, asigurând totodată, și un mediu nutritiv pentru desfășurarea glicolizei bacteriene.

Saturarea salivei cu fosfat de calciu constituie un factor important în menținerea scăzută a solubilității smalțului, ionii de Ca și H_2PO_4 diminuând dislocarea Ca din țesuturile dure dentare. Atâta timp cât stratul de salivă, aflat în contact cu suprafața dură dentară, este saturat cu fosfat de Ca, nu poate apare eliberarea acestuia din structura țesuturilor dure dentare.

Bibliografie

1. Ambudkar IS. Regulation of calcium in salivary gland secretion. *Cvit. Rev. Oral Biol. Med.* 2000;11:4-25.
2. Anderson P, Elliott JC. Rates of mineral loss in human enamel during in vitro demineralization perpendicular and parallel to the natural surface. *Caries Res.* 2000;34:33-40.
3. Badea ME, Avram R. Actualități în profilaxia cariei dentare. Cluj-Napoca: Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”. 2002.
4. Bardow A, Nyvad B, Nauntofte B. Relationships between medication intake, complaints of dry mouth, salivary flow rate and composition and the rate of tooth demineralization in situ. *Arch Oral Biol.* 2001;46(5):413-423.
5. Borgstrom MK, Edwardsson S, Svensater G, Twetman S. Acid formation in sucrose – exposed dental plaque in relation to caries incidence in schoolchildren. *Clin Oral Investig.* 2000;4(1):9-12.
6. Cărligeriu V, Bold A. Tratat de odontoterapie conservatoare și restauratoare. Timișoara: Mirton. 2002.
7. Cate B, Hay D, Edgar M, Daves C. Saliva and oral health. 2nd ed. 1996.
8. Collin R. Saliva. *Dental Digest.* 2000;1.
9. Crisnic I, Cucuianu M, Pleșca-Manea L. Biochimie clinică–Fundamentare fiziopatologică. Arad: Ed. University Press. 2001.
10. Higashi K, Nakano T, Naganawa T, et al. Salivary calcium amounts and fluoride and calcium concentrations in plaque. CADR–80th General Session March 6-9, 2002.
11. Iliescu A, Gafar M. Cariologie și odontoterapie restauratoare. București: Ed. Medicală. 2001.
12. Lăcătușu Ș. Caria dentară: problemele mineralizării. Iași: Ed. Junimea. 1997.

Valentina Bodrug, dr., conferențiar
Catedra Stomatologie terapeutică
USMF “Nicolae Testemițanu”
Chișinău, str. Toma Coorbă, 42
Tel.: 205224

Recepționat 16.04.2010