

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ



CONTRIBUȚII LA EVIDENȚIEREA POSIBILELOR
CĂI PATOGENICE COMUNE ALE ASOCIERII
BOALA PARODONTALĂ – HEPATITA CRONICĂ C

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. PETRA ȘURLIN

STUDENT-DOCTORAND:

DORIN-NICOLAE GHEORGHE

CRAIOVA
2018

CUPRINS

A. STADIUL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I. BOLILE PARODONTALE	2
I.1. Etiologia bolilor parodontale.....	2
I.1.1. Biofilmul bacterian - factorul etiologic determinant.....	2
I.1.2. Răspunsul imuno-inflamator al gazdei.....	4
I.1.3. Factori favorizanți/de risc locali și sistemici.....	7
I.2. Manifestări în gingivita cronică indusă de placa bacteriană.....	12
I.3. Manifestări în parodontita cronică.....	14
I.4. Asocierea bolilor parodontale cu unele afecțiuni sistemice.....	16
I.4.1. Boala parodontală și diabetul zaharat.....	16
I.4.2. Boala parodontală și bolile cardio-vasculare.....	17
I.4.3. Boala parodontală și poliartrita reumatoidă.....	18

CAPITOLUL II. IMPACTUL HEPATITEI CRONICE C ASUPRA SĂNĂTĂȚII GENERALE ȘI ORALE

II.1. Epidemiologia hepatitei virale C	20
II.2. Trasmiserea virusului hepatitei C	22
II.3. Considerații clinice și patologice ale hepatitei virale C	23
II.4. Impactul infecției cu virus hepatic C asupra cavității orale.....	26
II.4.1. Posibilele căi comune de patogenitate între hepatita cronică C și patologia parodontală.....	26
II.4.2. Manifestări extrahepatice ale hepatitei cronice C cu implicare orală și parodontală.....	28
II.4.3. Implicații ale infecției cu virus hepatic C asupra lichidelor din cavitatea orală.....	29
II.4.4. Posibila influență a inflamației parodontale asupra statusului hepatic din hepatita cronică C.....	33

B. CONTRIBUȚII PROPRII

CAPITOLUL III. CERCETĂRI ASUPRA MODIFICĂRILOR INDUSE DE PREZENȚA HEPATITEI CRONICE C LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI ȘI POSIBILELOR MECANISME PATOGENICE IMPLICATE

III.a. Introducere capitol.....	35
III.1. EVALUAREA UNOR TESTE BIOCHIMICE HEPATICE ȘI A PARAMETRILOR CLINICI PARODONTALI, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C	38
III.1.1. Introducere.....	38
III.1.2. Materiale și metodă.....	39
III.1.3. Rezultate.....	40
III.1.4. Discuții.....	42
III.1.5. Concluzii.....	44
III.2. EVALUAREA NIVELURILOR DE INTERLEUKINĂ 1-ALFA ȘI INTERLEUKINĂ 1-BETA ÎN FLUIDUL GINGIVAL, AL PACIENȚILOR PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C	45
III.2.1. Introducere.....	45
III.2.2. Materiale și metodă.....	46
III.2.3. Rezultate.....	48

III.2.4. Discuții.....	50
III.2.5. Concluzii.....	52
III.3. ANALIZA MODIFICĂRILOR MORFOLOGICE ALE ȚESUTULUI EPITELIAL GINGIVAL CU AJUTORUL TOMOGRAFIEI ÎN COERENȚĂ OPTICĂ, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C.....	53
III.3.1. Introducere.....	53
III.3.2. Materiale și metodă.....	54
III.3.3. Rezultate.....	57
III.3.4. Discuții.....	60
III.3.5. Concluzii.....	63
III.4. STUDIU HISTOPATOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHEMIC ASUPRA ȚESUTULUI GINGIVAL, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C.....	64
III.4.1. Introducere.....	64
III.4.2. Materiale și metodă.....	65
III.4.3. Rezultate.....	69
III.4.4. Discuții.....	76
III.4.5. Concluzii.....	80
III.5. CONCLUZII CAPITOL III.....	81
CAPITOLUL IV. CERCETĂRI ASUPRA MODIFICĂRILOR INDUSE DE BOALA PARODONTALĂ, LA PACIENȚI CU HEPATITA CRONICĂ C ȘI POSIBILELOR MECANISME PATOGENICE IMPLICATE	82
IV.a. Introducere capitol.....	82
IV.1. EVALUAREA STATUSULUI PARODONTAL, METABOLIC ȘI HEPATIC, LA PACIENȚI CU HEPATITA CRONICĂ C.....	85
IV.1.1. Introducere.....	85
IV.1.2. Materiale și metodă.....	87
IV.1.3. Rezultate.....	91
IV.1.4. Discuții.....	103
IV.1.5. Concluzii.....	109
IV.2. STUDIU IMUNOLOGIC ASUPRA PREZENȚEI INFLAMAZOMULUI NLRP3, CASPAZEI 1 ȘI INTERLEUKINEI 18 ÎN FLUIDUL GINGIVAL, AL PACIENȚILOR CU HEPATITĂ CRONICĂ C, CU / FĂRĂ AFECTARE PARODONTALĂ.....	110
IV.2.1. Introducere.....	110
IV.2.2. Materiale și metodă.....	112
IV.2.3. Rezultate.....	115
IV.2.4. Discuții.....	120
IV.2.5. Concluzii.....	127
IV.3. CONCLUZII CAPITOL IV.....	128
CAPITOLUL V. CONCLUZII GENERALE	129
C. BIBLIOGRAFIE	131

CUVINTE CHEIE: boala parodontală, hepatita cronică C, virus hepatic C, inflamație, patogenitate, mecanisme, asociere, căi comune

INTRODUCERE

În anul 2012, a avut prima întâlnire oficială a Federației Europene de Parodontologie și a Academiei Americane de Parodontologie, cu tema “Boala Parodontală și Afectarea Sistemică”, cu scopul de a crește gradul de conștientizare în rândul medicilor dentiști parodontologi, dar și altor specialiști, cu privire la corelațiile dovedite dintre patologia parodontală și boli sistemice, precum diabetul zaharat și bolile cardiovasculare, reunite sub conceptul de “medicină parodontală” (Chapple & Genco, 2013). Noua clasificare a bolilor parodontale, accentuează importanța asocierilor dintre patologia parodontală și cele de natură sistemică (Caton et al., 2018).

Deși literatura științifică este bogată în studii și proiecte de cercetare, realizate pe tema relațiilor bidirecționale dintre boala parodontală și bolile sistemice, acest subiect nu a fost abordat decât sporadic și în privința interacțiunilor dintre patologia parodontală și hepatita cronică C. Caracterul inflamatoriu cronic comun al celor două afecțiuni și afectarea funcției hepatice, cu importante implicații în desfășurarea proceselor metabolice și imunologice prin infecția cu virusul hepatitei C, au constituit motivații inițiale ale declanșării activității de cercetare în această direcție. Mai mult, România posedă una dintre cele mai ridicate prevalențe a persoanelor pozitive pentru anticorpii anti-virus hepatic C din Europa, estimându-se a exista peste jumătate de milion de persoane infectate (Gheorghe L. et al., 2010). În ceea ce privește afectarea parodontală, nu există un studiu care să analizeze prevalența bolii la nivelul țării, însă se estimează că un procent important din populație suferă de o formă de boală parodontală, prezentând simptome caracteristice, precum gingivoragiile frecvente (Mârțu et al., 2013). Astfel, având în vedere valorile ridicate ale prevalenței celor două boli la nivelul țării, dar și la nivel mondial, cercetarea unor corelații patologice ce ar putea exista între acestea ar fi utilă în furnizarea unor direcții folosite pentru îmbunătățirea tratamentelor de natură stomatologică și parodontală a pacienților cu hepatită cronică C, cu impact direct asupra calității vieții acestora, cât și pentru includerea terapiei parodontale ca parte complementară și adjuvantă a tratamentului hepatitei cronice C, în cazurile în care este indicată.

Contribuțiile personale la tema de cercetare aleasă s-au concretizat prin desfășurarea studiilor complementare ce au permis formularea concluziilor cu privire la ipoteza de studiu vizată, aceea a existenței unor căi de patogenitate comune între boala parodontală și hepatita cronică C, a identificării și testării viabilității acestora.

Pentru demonstrarea acestei ipoteze au fost formulate obiectivul general și cele specifice ale proiectului de cercetare desfășurat:

A. Obiectiv general: verificarea ipotezei de lucru a existenței unor legături de patogenitate comune între boala parodontală și hepatita cronică C și a caracterului bidirecțional al acestora prin desfășurarea studiilor de tip clinic și fundamental.

B. Obiective specifice:

1. Verificarea ipotezei potrivit căreia hepatita cronică C reprezintă un factor agravant al manifestărilor bolii parodontale, ilustrată prin studiile la nivel clinic, imunologic, imagistic și histologic, expuse în capitolul III.

2. Verificarea ipotezei potrivit căreia boala parodontală are un impact negativ asupra statusului metabolic și imunologic al pacienților cu hepatită cronică C, prin desfășurarea studiilor de tip clinic și fundamental expuse în capitolul IV.

STADIUL CUNOAȘTERII

I – BOLILE PARODONTALE

Factorul etiologic determinant al majorității tipurilor de boli parodontale este placa bacteriană, sau biofilmul bacterian după cum a fost denumit (Schaudinn et al., 2009). Acumularea biofilmului bacterian la nivelul șanțului gingival, pentru o perioadă mai îndelungată de 48 ore, duce la apariția primelor semne de inflamație gingivală. În afara factorului bacterian determinant, ce acționează în strânsă legătură cu tipul de răspuns imuno-inflamator al gazdei, în etiologia bolii parodontale sunt implicați și factori favorizanți, locali sau generali (Genco & Borgnakke, 2013). În funcție de intensitatea și calitatea răspunsului imuno-inflamator al gazdei și de prezența factorilor de risc discutați anterior, inflamația gingivală se va croniciza în acest stadiu sau va evolua în profunzime, spre parodontiul de susținere, continuând și la acest nivel fenomenele tisulare distructive, la bolnavii ce prezintă susceptibilitate (Chapple et al., 2015). Parodontita cronică prezintă un tip evolutiv alternativ, în care perioadele de echilibru și de aparentă vindecare se succed cu perioadele de activitate a bolii, în care distrucția tisulară este produsă (Holtfreter et al., 2015). De-a lungul ultimelor decenii, rezultatele cercetărilor științifice au permis elaborarea unui concept nou, de medicină parodontală, care reunește relațiile de ordin bidirecțional, ce există între boala parodontală și unele afecțiuni sistemice, precum diabetul zaharat, boala cardiovasculară și poliartrita reumatoidă (Linden, Lyons & Scannapieco, 2013).

II – IMPACTUL HEPATITEI CRONICE C ASUPRA SĂNĂTĂȚII GENERALE ȘI ORALE

Infecția cu virusul hepatitei C (HCV) reprezintă una dintre cele mai importante probleme pe care sănătatea publică le întâmpină la nivel global, putând fi considerată una dintre cele mai extinse epidemii ca arie geografică, număr de persoane afectate și durată în timp, cu care omenirea s-a confruntat, de-a lungul istoriei sale. Astfel, se estimează că, la nivel global sunt infectate între 130 și 150 milioane de persoane, aproximativ 2,8% din populația globului (Vos et al., 2016). Modalitatea principală de transfer a particulelor de sânge infectat de la pacientul bolnav la cel sănătos o reprezintă pătrunderea subcutanată, percutanată a acestor particule, mediată de instrumente înțepătoare sau tăietoare, ce traversează epidermul sau mucoasele. Pătrunderea HCV în organism este un moment cheie pentru declanșarea proceselor fiziopatologice ce vor duce la apariția stării infecțioase, ce va produce degradarea țesutului hepatic prin cronicizare (Poynard et al., 2003). Eliminarea incompletă a HCV din organism va duce la cronicizarea infecției, așa cum se întâmplă în 80% din cazurile pacienților infectați (Osburn et al., 2010).

În timp ce afecțiunile de ordin dentar și parodontal ale pacienților cu HCC pot fi consecința indirectă a infecției virale, manifestările extrahepatice întâlnite la nivelul cavității orale, precum lichenul plan oral, sindromul Sjögren și carcinomul oral cu celule scuamoase sunt cauză a deficienței imunologice, pe care acești pacienți o manifestă (Alavian, Mahboobi & Karayiannis, 2013). Testarea salivei pentru identificarea antigenelor și anticorpilor a furnizat grade similare sau superioare de specificitate pentru acestea, în comparație cu serul sanguin, prin utilizarea unor metode de

diagnostic moderne de detecție a infecției HCV, precum testele rapide orale, ce pot fi însă îmbunătățite (Açikgöz et al., 2009). Leucocitele infectate cu HCV pot constitui o explicație pentru prezența ARN-ului viral în lichidul gingival și salivă (Müller et al., 1993). În condițiile unui parodontiu inflammat, când cantitatea de lichid gingival crește, iar gingivoragiile se produc mai frecvent și cu intensitate sporită, probabilitatea ca astfel de leucocite să ajungă în cavitatea orală crește considerabil. Căile patogenice, ce pot corela boala parodontală cu afecțiuni ale ficatului, implică factori bacterieni, mediatori proinflamatori și stresul oxidativ. Alături de citokine și chemokine, proteinele de șoc termic, ce sunt produse ca rezultat al atacului bacterian, pot determina și inflamația țesutului hepatic (Han, Sun & Yang, 2016). Coroborarea factorilor interni, de tipul rezistenței celulare la insulină, a disfuncționalității sistemului imunitar, stării cronice de inflamație și a celor externi, de tipul lipsei unei asistențe stomatologice adecvate, poate crește riscul apariției patologiilor parodontale la pacienții cu hepatită cronică C.

CONTRIBUȚII PROPRII

III. CERCETĂRI ASUPRA MODIFICĂRILOR INDUSE DE PREZENȚA HEPATITEI CRONICE C LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI ȘI POSIBILELOR MECANISME PATOGENICE IMPLICATE

Pentru a verifica ipoteza conform căreia, hepatita cronică C poate constitui un factor nefavorabil pentru evoluția bolii parodontale, am elaborat un studiu cu scopul de a realiza asocieri între patologia parodontală și cea hepatică la nivel clinic, metabolic, imunologic, imagistic și histologic. Existența unor conexiuni ar motiva extinderea studiului asupra unui grup lărgit de pacienți și realizarea unor dozări de markeri inflamatori în probe de lichid gingival, provenite de la astfel de pacienți.

În realizarea acestui studiu, s-au stabilit patru direcții de cercetare, reprezentate de analiza mecanismelor de patogenitate vizate la nivel: clinic și metabolic, imunologic, imagistic și histologic.

Pentru desfășurarea studiului, ce a urmat cele patru direcții de cercetare, au fost constituite trei grupuri de pacienți participanți:

- grupul PH: pacienți parodontopați cu hepatită cronică C asimptomatică/inactivă, ce s-au prezentat pentru examinare, diagnostic și tratament parodontal;
- grupul P: pacienți parodontopați fără afectare sistemică, ce s-au prezentat pentru examinare, diagnostic și tratament parodontal;
- grupul H: control, pacienți sănătoși parodontal și sistemic, ce s-au prezentat pentru evaluare parodontală, în vederea realizării tratamentului ortodontic, parte dintre aceștia având indicație de extracție a premolarilor maxilari, în scop ortodontic.

III.1. EVALUAREA UNOR TESTE BIOCHIMICE HEPATICE ȘI A PARAMETRILOR CLINICI PARODONTALI, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C

Scopul acestui studiu este acela de a investiga ipoteza de lucru, conform căreia, hepatita cronică C poate fi un factor agravant al bolii parodontale, prin identificarea unor corelații între unii parametri clinici ai afectării parodontale și unii parametri biochimici ai

funcției hepatice, la nivelul pacienților parodontopați, cu hepatită cronică C, comparativ cu aceia ai pacienților parodontopați, fără afectare sistemică.

Starea parodontală a pacienților participanți a fost evaluată măsurând adâncimea de sondaj parodontal, numărul de dinți cu punji parodontale mai adânci de 4 milimetri, indicele gingival Silness și Loe, adâncimea maximă de sondaj parodontal și numărul de dinți prezenți în cavitatea orală. Au fost determinate nivelele serice de enzime hepatice – aspartataminotransferaza și alaninaminotransferaza. A fost de asemenea înregistrată vechimea în ani a diagnosticului de hepatită cronică C.

Statusul parodontal al grupului PH a fost mai defavorabil decât cel al grupului P, între cele două grupuri înregistrându-se diferențe semnificative statistic în privința numărului de dinți prezenți, a numărului de dinți cu punji parodontale mai adânci de 4 milimetri și a adâncimii maxime de sondaj. Au fost înregistrate diferențe semnificative statistic și pentru valorile transaminazelor serice dintre cele două grupuri, precum și între parametrii analizați ai grupurilor PH, P și grupul control.

În limitele prezentului studiu, se poate afirma că hepatita cronică C reprezintă un posibil factor agravant pentru evoluția patologiei parodontale. Pacienții cu patologie parodontală și hepatită cronică C pot prezenta un status oral, parodontal și hepatic defavorabil, față de pacienții parodontopați fără această boală sistemică, având în vedere și vechimea diagnosticului de infecție HCV.

III.2. EVALUAREA NIVELURILOR DE INTERLEUKINĂ 1-ALFA ȘI INTERLEUKINĂ 1-BETA ÎN FLUIDUL GINGIVAL, AL PACIENȚILOR PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C

Interleukina-1 β (IL-1 β), detectabilă în probe de lichid gingival provenite din zone cu parodontită cronică activă, a fost găsită în cantități crescute, în corelație directă cu severitatea bolii (Duarte et al., 2014). Interleukina-1 α (IL-1 α) este un membru particular al familiei interleukinelor 1, fiind un indicator important al progresiei și intensității bolii inflamatorii (Graves & Cochran, 2003). Ipoteza studiului nostru este aceea că nivelele de IL-1 α și IL-1 β ar putea exprima valori mai ridicate la pacienții parodontopați cu hepatită cronică C, comparativ cu pacienții fără hepatită.

Probele de fluid crevicular gingival au fost colectate de la toți pacienții participanți, utilizând benzi absorbante de hârtie (PerioPaper, Oraflow Inc., Smithtown, NY, SUA). Analiza imunosorbantă de dozare enzimatică (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA) a fost utilizată pentru evaluarea calitativă și cantitativă a prezenței celor două citokine proinflamatorii, în probele de lichid gingival. S-au utilizat kituri de detectare comercială concepute pentru determinarea unor cantități foarte mici din cele două citokine (Quantikine, R & D Systems, Minneapolis, USA), în conformitate cu indicațiile producătorului și metoda prescrisă.

Au existat diferențe semnificative statistic între valorile medii ale IL-1 α , corespunzătoare grupurilor PH și P (valoarea medie a grupului PH fiind de 1,8 ori mai ridicată decât cea a grupului P). Valorile medii ale IL-1 β din lichidul gingival au prezentat diferențe semnificative statistic între grupurile P și PH (valoarea medie a grupului PH fiind de 2,2 ori mai ridicată decât cea a grupului P).

Nivelurile crescute de IL-1 α și IL-1 β , din probele de fluid gingival ale pacienților cuprinși în studiu, pot oferi explicații asupra posibilelor mecanisme patogenice comune

dintre boala parodontală și hepatita cronică C. Starea inflamatorie cronică, pe care o implică cele două afecțiuni, ar putea duce la un răspuns imun modificat, schimbând homeostazia generală. Luând în considerare limitările prezentului studiu, putem afirma că pacienții parodontopați cu hepatită cronică C ar putea prezenta niveluri crescute ale unor citokine, sugerând impactul adăugat pe care inflamația cronică hepatică îl are asupra patologiei parodontale.

III.3. ANALIZA MODIFICĂRILOR MORFOLOGICE ALE ȚESUTULUI EPITELIAL GINGIVAL, CU AJUTORUL TOMOGRAFIEI ÎN COERENȚĂ OPTICĂ, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C

Tomografia în coerență optică (Optical Coherence Tomography – OCT) este o metodă imagistică ce furnizează secțiuni optice sub formă de imagini (Srinivasan et al., 2017). Prezentul studiu *in vitro* utilizează tomografia în coerență optică pentru analizarea posibilei influențe, pe care hepatita cronică C o are asupra modificărilor inflamatorii, la pacienții parodontopați cu această boală.

Au fost selectați doar acei pacienți ce au primit indicație pentru realizarea tratamentului chirurgical parodontal (pentru grupurile PH și P) sau indicație pentru extracție dentară în scop ortodontic (pentru grupul H control). Probele de țesut gingival au fost prelevate de la nivelul pungilor parodontale în timpul terapiei parodontale chirurgicale (dinți din zona laterală a arcadei dentare cu punji parodontale), efectuate ca parte a strategiei terapeutice parodontale standard, pentru pacienții parodontopați și în timpul extracției dinților fără afectare parodontală, în scop ortodontic pentru pacienții din grupul control (pentru tratamentul ortodontic al unor anomalii dentomaxilare).

Cea mai mare valoare medie a densității în pixeli a fost înregistrată pentru imaginile grupului H, urmate în ordine descrescătoare de cele aferente grupurilor P (de 1,35 ori mai scăzute) și PH (de 1,79 ori mai scăzute), diferențele fiind semnificative statistic.

În contextul patologiei parodontale, starea inflamatorie cronică generată de hepatita cronică C poate avea un impact negativ asupra densității epiteliale a țesutului gingival, în sensul scăderii acesteia. Având în vedere limitările acestui studiu, se poate afirma că, prin dezvoltări tehnice viitoare, analiza OCT va putea deveni un instrument de diagnostic ajutător în sfera parodontologiei. Hepatita cronică C poate fi un factor nefavorabil al manifestării bolii parodontale, în cazul asocierii cu aceasta, în ceea ce privește modificările țesutului epitelial, analizate prin utilizarea tomografiei în coerență optică.

III.4. STUDIU HISTOPATOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHEMIC ASUPRA ȚESUTULUI GINGIVAL, LA PACIENȚI PARODONTOPAȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C

Metaloproteinazele reprezintă o familie extinsă de enzime proteolitice, cu acțiune asupra componentelor proteice ale matricei extracelulare (Dahan et al., 2001). În patologia parodontală, MMP9 a fost identificat în concentrații crescute în forme de gingivită cronică și de parodontită cronică (Marcaccini et al., 2010).

Scopul prezentului studiu a fost acela de a realiza o analiză calitativă a modificărilor histopatologice, apărute în țesutul gingival al pacienților parodontopați cu hepatită cronică C și de a observa anumite particularități histologice, având în vedere

particularitățile leziunilor inflamatorii parodontale. De asemenea, se vizează aprecierea gradului de exprimare a MMP9 în țesutul gingival, afectat de inflamația parodontală, cu ajutorul metodelor specifice de imunohistochimie.

Examinarea histologică s-a realizat prin tehnica clasică de colorare hematoxilin-eozină. Analiza imunohistochimică, ce a vizat detecția exprimării MMP9, s-a realizat prin tehnica LSAB. În urma colorării probelor și a analizei imunohistochimice, s-a realizat observarea la microscopul optic Nikon Eclipse 90i (Tokyo, Japonia) a acestora, fiind capturate imagini fotografice directe ale zonelor de țesut gingival, cu ajutorul camerei foto Nikon atașate microscopului și a programului NIS Elements (Nikon, Tokyo, Japonia). Gradul de expresie al MMP9, în urma reacției imunohistochimice la nivelul fiecărei imagini, a fost stabilit prin calcularea densității optice totale integrate (IOD).

Analiza histologică a probelor de țesut gingival, provenite de la pacienții cu afectare parodontală cu/fără hepatită cronică C, a relevat prezența unor modificări inflamatorii. Valoarea medie a IOD cea mai scăzută a fost înregistrată pentru grupul H, valoarea medie a IOD pentru grupul P fiind de 8,1 ori mai ridicată, iar cea a grupului PH fiind de 13,6 ori mai mare. Valoarea medie a IOD pentru grupul PH a fost de 1,6 ori mai mare decât valoarea medie a IOD pentru grupul P.

Din punct de vedere histologic, reacția inflamatorie este mai accentuată la pacienții ce prezintă atât afectare parodontală, cât și hepatită cronică C. Analiza imunohistochimică a relevat posibilitatea unei prezențe mai importante cantitativ a matrix metaloproteinei 9 în probele de țesut gingival ale pacienților parodontopați cu hepatită cronică C, decât în cele ale pacienților parodontopați fără afectare hepatică. Având în vedere limitările prezentului studiu, matrix metaloproteina 9 ar putea reprezenta un marker pro-inflamator comun, în asocierea boala parodontală și hepatita cronică C.

III.5. CONCLUZII CAPITOL III

1. Având în vedere limitările prezentului studiu, pacienții parodontopați cu hepatită cronică C au prezentat un status oral și parodontal mai slab decât pacienții parodontopați sănătoși sistemic, ceea ce sugerează impactul adițional negativ pe care patologia hepatică îl are asupra manifestării clinice a bolii parodontale.

2. La nivel imunologic, a fost observată o accentuare a reacției inflamatorii parodontale la pacienții parodontopați cu hepatită cronică C, comparativ cu pacienții parodontopați fără afectare sistemică, prin diferența cantitativă a unor citokine pro-inflamatorii, determinate în lichidul gingival, ceea ce poate sugera existența unor mecanisme imunologice comune între cele două patologii.

3. Reacția inflamatorie parodontală este mai accentuată, din punct de vedere al lezării tisulare și al modificărilor histopatologice, determinate la nivelul pacienților parodontopați cu hepatită cronică C, decât la cei parodontopați fără afectare hepatică.

IV. CERCETĂRI ASUPRA MODIFICĂRILOR INDUSE DE BOALA PARODONTALĂ LA PACIENȚI CU HEPATITĂ CRONICĂ C ȘI POSIBILELOR MECANISME PATOGENICE IMPLICATE

Pentru verificarea ipotezei de studiu conform căreia, boala parodontală poate influența statusul clinic, metabolic și imunologic al pacienților cu hepatită cronică C, s-a realizat un studiu prin care pacienții din Clinica de Gastroenterologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, diagnosticați cu hepatita cronică C asimptomatică / inactivă (nivel nedetectabil al viremiei HCV), internați pentru evaluare periodică și control, au fost examinați din punct de vedere parodontal.

Pentru desfășurarea studiului, au fost constituite patru grupuri de pacienți participanți:

- grupul HCV + BP: pacienți cu hepatită cronică C asimptomatică, diagnosticați cu parodontită cronică;

- grupul HCV: pacienți cu hepatită cronică C asimptomatică, fără afectare parodontală;

- grupul BP: pacienți parodontopați, fără boli sistемice, ce s-au adresat pentru evaluare și tratament parodontal;

- grupul H: control, pacienți fără afectare parodontală și sistemică, ce s-au adresat pentru evaluare.

La nivelul acestor pacienți, s-au urmat două direcții principale de cercetare: direcția clinică și direcția imunologică a studiului fundamental. În literatura de specialitate există puține studii ce abordează tema de cercetare propusă, ceea ce conferă ipotezei de lucru și metodei științifice abordate caracter de noutate. Prin realizarea unor corelații între statusul dentar / parodontal și cel metabolic și imunologic al pacienților participanți, pot fi relevate mecanisme celulare și moleculare ce pot determina formarea unor căi comune de patogenitate, existente între hepatita cronică C și boala parodontală.

IV.1. EVALUAREA STATUSULUI PARODONTAL, METABOLIC ȘI HEPATIC LA PACIENȚII CU HEPATITĂ CRONICĂ C

Scopul prezentului studiu este acela de a analiza statusul parodontal, hepatic și metabolic al pacienților cu hepatită cronică C, în vederea identificării unor particularități ale manifestării bolii parodontale și hepatice la aceștia. S-au realizat comparații între pacienții cu hepatită cronică C, fără afectare parodontală și cei ce au prezentat și modificări parodontale, precum și cu pacienții parodontopați fără afectare sistemică și participanții control sănătoși, realizând corelații între parametrii clinici și metabolici disponibili.

Participanții la studiu au fost examinați din punct de vedere parodontal, pentru stabilirea nivelului clinic de afectare prin boala parodontală, serologic cu ajutorul analizelor de laborator, pentru evaluarea metabolică și hepatică și cu ajutorul elastografiei hepatice, pentru determinarea gradului de fibrozare hepatică la pacienții cu hepatita cronică C.

În contextul patologiei hepatice existente, pacienții parodontopați au prezentat un status metabolic, hepatic și imunologic înrăutățit față de parametrii similari ai pacienților cu infecție HCV, fără afectare parodontală, ceea ce sugerează impactul

negativ supra-adăugat pe care boala parodontală îl are asupra manifestărilor din hepatita cronică C. În condițiile absenței bolii parodontale, posibil din cauza particularităților socio-comportamentale și a reținerilor față de tratamentele stomatologice, atât ale pacienților, cât și ale personalului medical, pacienții cu hepatită cronică C au prezentat un status dentar mai defavorabil decât cei din grupul control, ceea ce reflecta impactul negativ pe care această afecțiune hepatică îl are asupra stării de sănătate orale a pacienților afectați. Modificările clinice și metabolice identificate la pacienții cu hepatita cronică C, la nivel parodontal și sistemic, susțin rezultatele expuse în capitolul anterior, cu privire la accentuarea reacției inflamatorii la pacienții parodontopați cu afectare hepatică. Din cauza numărului redus de pacienți, ce nu a permis divizarea acestora în funcție de severitatea afectării parodontale, o direcție de cercetare viitoare care să abordeze și acest aspect, pe un lot extins de pacienți, este recomandată pentru a analiza existența unor corelații între statusul dentar, prezența hepatitei cronice C și severitatea bolii parodontale. Corelațiile identificate, între parametrii clinici și cei metabolici analizați, susțin implicațiile de ordin sistemic pe care patologia parodontală le poate presupune la nivelul pacienților cu hepatită cronică C. Destabilizarea homeostazică poate oferi argumente pentru stabilirea unor asocieri între inflamația parodontală și cea hepatică, în contextul inflamației sistemice date de hepatita cronică C.

IV.2. STUDIU IMUNOLOGIC ASUPRA PREZENȚEI INFLAMAZOMULUI NLRP3, CASPAZEI-1 ȘI INTERLEUKINEI 18 ÎN FLUIDUL GINGIVAL, AL PACIENȚILOR CU HEPATITĂ CRONICĂ C, CU / FĂRĂ AFECTARE PARODONTALĂ

Caspaza-1 (CASP-1) este o enzimă cu rol determinant în declanșarea reacției imuno-inflamatorii, deoarece realizează transformarea precursorilor citokinelor, de tipul interleukina-1 β (IL-1 β) și interleukina 18 (IL-18) în molecule mature, funcționale (Lu et al., 2016). Activarea inflamazomului NLRP3 este declanșată de stimuli de origine bacteriană, precum lipopolizaharidul, ARN-ul bacterian sau de origine endogenă, precum ATP-ul extracelular, produșii reactivi ai oxigenului, acidul uric și cristalele de colesterol sau stimuli DAMPs (Ulland & Sutterwala, 2011). Alături de IL-1 β , IL-18 este prima citokină eliberată în cadrul cascadei reacțiilor inflamatorii, sub activarea inflamazomului NLRP3 (Dinarello, Novick & Kaplanski, 2013).

Prezentul studiu își propune să evalueze nivelul NLRP3, CASP1 și IL-18 din fluidul gingival al pacienților cu hepatită cronică C și cu / fără afectare parodontală, pentru a observa eventuala diferență semnificativă a acestor elemente, cu rol deosebit de important în declanșarea reacției inflamatorii și de a verifica existența corelațiilor acestor niveluri cu statusul clinic oral și parodontal al acestor pacienți, prezentat în studiul anterior.

După realizarea evaluării clinice, orale și parodontale, s-a decurs la prelevarea lichidului gingival, de la fiecare pacient în parte. În acest sens, s-au utilizat benzi absorbante de hârtie (PerioPaper, Oraflow Inc., Smithtown, NY, SUA), ce au fost introduse la nivelul șanțului gingival / pungii parodontale. S-a utilizat metoda de dozare enzimatică imunoabsorbantă (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) pentru detecția cantitativă a moleculelor țintă din lichidul gingival. Au fost analizate corelațiile

existente între valorile parametrilor imunologici obținuți și datele clinice și metabolice ale lotului de pacienți, prezentate în cadrul studiului anterior.

Cea mai ridicată valoare medie a NLRP3, în lichidul gingival, a fost înregistrată pentru grupul HCV + BP, aceasta fiind de 1,69 ori mai ridicată decât valoarea similară a grupului HCV, de 1,26 ori mai mare decât cea a grupului BP și de 2,66 ori mai ridicată decât valoarea grupului H. Cea mai scăzută valoare medie a CASP1 în lichidul gingival a fost obținută pentru grupul H, valoarea medie fiind de 4,77 ori mai mare pentru grupul HCV, de 7,11 ori mai mare pentru grupul BP și de 9,43 ori mai ridicată pentru grupul HCV + BP. Cea mai ridicată valoare medie a IL-18 în lichidul gingival a fost obținută pentru grupul HCV + BP, valorile medii ale IL-18 pentru grupul HCV fiind de 1,8 ori mai scăzute, pentru grupul BP de 1,31 ori mai scăzute, iar pentru grupul H de 3,36 ori mai scăzute. Toate diferențele obținute au fost semnificative statistic.

Nivelul mediu semnificativ crescut al markerilor inflamatori, analizați în probele de lichid gingival ale pacienților cu hepatită cronică C și afectare parodontală, față de cel al pacienților cu hepatită cronică C, dar fără afectare parodontală, ilustrează impactul negativ pe care inflamația parodontală îl are asupra statusului clinic, metabolic și imunologic al acestor pacienți, având în vedere și corelațiile identificate. Pacienții cu hepatită cronică C și fără afectare parodontală au prezentat valori semnificativ mai elevate ale NLRP3, CASP1 și IL-18, în lichidul gingival, decât grupul control, ceea ce sugerează impactul important pe care inflamația hepatică cronică îl are asupra homeostaziei generale, chiar și în situația absenței unei patologii parodontale asociate. Corelațiile pozitive semnificative dintre nivelurile NLRP3, CASP1 și IL-18, din lichidul gingival, și parametrii clinici ai severității bolii parodontale sublinează semnificația clinică a rezultatelor imunologice obținute și potențialul de aplicabilitate practică a acestora.

IV.3. CONCLUZII CAPITOL IV

1. Statusurile clinice și imunologice, ale pacienților cu hepatită cronică C și boală parodontală, au fost mai nefavorabile decât cele similare ale pacienților cu hepatită cronică C, dar fără afectare parodontală, ceea ce sugerează influența negativă pe care inflamația parodontală o poate avea asupra patologiei hepatice.

2. Pacienții cu boală parodontală și hepatită cronică C au prezentat un status clinic și imunologic defavorabil față de pacienții cu boală parodontală, fără afectare hepatică, ceea ce confirmă ipotezele de studiu enunțate.

3. Luând în considerare rezultatele ce au permis analizarea intensității reacției inflamatorii la nivel imunologic, se poate afirma că parodontita cronică are un efect negativ supra-adăugat la nivelul statusului clinic, metabolic și hepatic al pacienților cu hepatită cronică C.

V. CONCLUZII GENERALE

1. La nivelul pacienților parodontopați cu hepatită cronică C au fost evidențiate modificări particulare ale parametrilor metabolici analizați, ceea ce ar putea sugera o afectare importantă a homeostaziei generale, prin dereglarea funcționării hepatice normale, afectată de inflamația cronică.

2. Din punct de vedere clinic, statusul dentar și parodontal al pacienților parodontopați cu hepatită cronică C a fost mai defavorabil decât cel al pacienților parodontopați fără afectare hepatică, pe fondul particularităților psiho-comportamentale și posibil al celor metabolice, imunologice și histologice, pe care acești pacienți le prezintă.

3. Parametrii biologici analizați s-au aflat în concordanță cu datele clinice, rezultate în urma examinării parodontale a pacienților, ceea ce ar putea indica existența unei asocieri între evoluția patologiei parodontale și gradul de afectare hepatică, prin hepatita cronică C.

4. Modificări inflamatorii au fost identificate și din punct de vedere imagistic și histologic, la nivelul probelor de țesut gingival provenite de la pacienții parodontopați cu hepatită cronică C, acestea sugerând posibilitatea ca, intensitatea reacției inflamatorii parodontale să fie mai puternică la această categorie de pacienți, decât la pacienții parodontopați fără afectare hepatică.

5. Din punct de vedere imunologic, în lichidul gingival al pacienților parodontopați cu hepatită cronică C, au fost înregistrate valori mai crescute ale unor compuși cu funcție pro-inflamatorie, decât în cel al pacienților parodontopați fără afectare hepatică, ceea ce denotă sinergismul și potențarea reciprocă existente între inflamația parodontală și cea hepatică, ceea ce oferă totodată un substrat patologic comun în patogenia celor două afecțiuni.

6. Hepatita cronică C poate fi privită ca un factor nefavorabil pentru manifestarea patologiei parodontale.

7. Supra-adăugarea inflamației parodontale la pacienții cu hepatită cronică C poate produce dezechilibre ale statusului inflamator al acestora, cu posibile implicații importante asupra homeostaziei generale și a mecanismelor metabolice.

8. După cum a fost sugerat și de către alte studii, rezistența celulară la insulină poate constitui un mecanism patogenetic ce promovează dezvoltarea unor stări inflamatorii cronice, precum cele din hepatita cronică C și boala parodontală, ipoteză susținută de prezența unor markeri pro-inflamatori, precum inflamazomul NLPR3.

9. Extinderea cercetărilor viitoare, la nivel celular și molecular, ar putea elucida fundamentul patologic comun al reacțiilor inflamatorii din boala parodontală și hepatita cronică C, precum și modalitatea de interacțiune a acestora.

10. Evaluarea statusului dento-parodontal ar trebui inclusă în strategia de monitorizare a pacienților cu hepatită cronică C, atât cu scopul de îmbunătățire a calității vieții acestora, prin refacerea funcțiilor aparatului dento-maxilar, cât și cu scopul de reducere a intensității reacțiilor inflamatorii prezente în organism, astfel încât să se prevină dezechilibrele metabolice și imunologice, ce ar putea duce la agravarea ambelor patologii.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Açıkgöz, G., Cengiz, M. İ., Keskiner, İ., Açıkgöz, Ş., Can, M., & Açıkgöz, A. (2009). Correlation of hepatitis C antibody levels in gingival crevicular fluid and saliva of hepatitis C seropositive hemodialysis patients. *International journal of dentistry*, vol. 2009, Article ID 247121, 5 pages
2. Alavian, S. M., Mahboobi, N., Mahboobi, N., & Karayiannis, P. (2013). Oral conditions associated with hepatitis C virus infection. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 19(6), 245.
3. Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., S. Kornman, K., ... & S. Tonetti, M. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*, 89, S1-S8.
4. Chapple, I. L., Genco, R., & Working Group 2 of the Joint EFP/AAP Workshop. (2013). Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 40, S106-S112.
5. Chapple, I. L., Van der Weijden, F., Doerfer, C., Herrera, D., Shapira, L., Polak, D., ... & Greenwell, H. (2015). Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *Journal of clinical periodontology*, 42(S16), 71-6.
6. Dahan, M., Nawrocki, B., Elkaim, R., Soell, M., Bolcato-Bellemin, A. L., Birembaut, P., & Tenenbaum, H. (2001). Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(2), 128-136.
7. Dinarello, C., Novick, D., Kim, S., & Kaplanski, G. (2013). Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Frontiers in immunology*, 4, 289.
8. Duarte, P. M., Bezerra, J. P., Miranda, T. S., Feres, M., Chambrone, L., & Shaddox, L. M. (2014). Local levels of inflammatory mediators in uncontrolled type 2 diabetic subjects with chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 41(1), 11-18.
9. Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62(1), 59-94.
10. Gheorghe, L., Csiki, I. E., Iacob, S., Gheorghe, C., Smira, G., & Regep, L. (2010). The prevalence and risk factors of hepatitis C virus infection in adult population in Romania: a nationwide survey 2006-2008. *Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases*, 19(4), 373-9.
11. Graves, D. T., & Cochran, D. (2003). The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology*, 74(3), 391-401.
12. Holtfreter, B., Albandar, J. M., Dietrich, T., Dye, B. A., Eaton, K. A., Eke, P. I., ... & Kocher, T. (2015). Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies. *Journal of clinical periodontology*, 42(5), 407-412.
13. Linden, G. J., Lyons, A., & Scannapieco, F. A. (2013). Periodontal systemic associations: review of the evidence. *Journal of clinical periodontology*, 40(s14), 8-19.
14. Lu, A., Li, Y., Schmidt, F. I., Yin, Q., Chen, S., Fu, T. M., ... & Wu, H. (2016). Molecular basis of caspase-1 polymerization and its inhibition by a new capping mechanism. *Nature structural & molecular biology*, 23(5), 416.

15. Marcaccini, A. M., Meschiari, C. A., Zuardi, L. R., De Sousa, T. S., Taba Jr, M., Teofilo, J. M., ... & Gerlach, R. F. (2010). Gingival crevicular fluid levels of MMP-8, MMP-9, TIMP-2, and MPO decrease after periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(2), 180-190.
16. Mârțu, S., Solomon, S., Potârniche, O., Pasarin, L., Mârțu, A., Nicolaiciuc, O., & Ursarescu, I. (2013). Evaluation of the prevalence of the periodontal disease versus systemic and local risk factors. *International Journal of Medical Dentistry*, 3(3), 212.
17. Novick, D., Kim, S., Kaplanski, G., & Dinarello, C. A. (2013). Interleukin-18, more than a Th1 cytokine. In *Seminars in immunology* (Vol. 25, No. 6, pp. 439-448). Academic Press.
18. Osburn, W. O., Fisher, B. E., Dowd, K. A., Urban, G., Liu, L., Ray, S. C., ... & Cox, A. L. (2010). Spontaneous control of primary hepatitis C virus infection and immunity against persistent reinfection. *Gastroenterology*, 138(1), 315-324.
19. Poynard, T., Yuen, M. F., Ratzin, V., & Lai, C. L. (2003). Viral hepatitis C. *The Lancet*, 362(9401), 2095-2100.
20. Schaudinn, C., Gorur, A., Keller, D., Sedghizadeh, P. P., & Costerton, J. W. (2009). Periodontitis: an archetypical biofilm disease. *The Journal of the American Dental Association*, 140(8), 978-986.
21. Srinivasan, S., Dehghani, C., Pritchard, N., Edwards, K., Russell, A. W., Malik, R. A., & Efron, N. (2017). Optical coherence tomography predicts 4-year incident diabetic neuropathy. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 37(4), 451-459.
22. Ulland, T. K., & Sutterwala, F. S. (2011). Activation of the inflammasome by bacterial pathogens. In *The Inflammasomes*(pp. 37-50). Springer, Basel.
23. Vos, T., Allen, C., Arora, M., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Brown, A., ... & Coggeshall, M. (2016). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1545-1602.