



**UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL NORDESTE**

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**Carrera de Posgrado Doctorado de la Universidad Nacional
del Nordeste en Odontología – 2° Cohorte**

***Niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de
contención ortodóntica***

Tesis doctoral

Virginia Cecilia Rosende

2020

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Generalidades.....	4
1.2. Fosfatasa alcalina – biomarcador	10
1.3. Movimiento dental en ortodoncia	13
1.4. Modelado y remodelado óseo y fosfatasa alcalina	19
1.5. Contención en ortodoncia	21
1.6. Saliva como muestra biológica, elemento de estudio y diagnóstico.	24
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	26
2.1. Hipótesis.....	27
2.2. Objetivos	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. Diseño	29
3.2. Variables.....	29
3.3. Muestra	30
3.4. Evaluación bucodental	30
3.5. Grupos experimentales	30
3.6. Metodología.....	31
3.6.1. Técnica de recolección de saliva (no estimulada).....	31
3.6.2. Pruebas de Laboratorio – determinación de FAL y FAO	32
<i>Condiciones de reacción</i>	32
<i>Determinación de Fosfatasa Alcalina Total salival (Técnica automatizada)</i>	33
<i>Determinación de Fosfatasa Alcalina Ósea</i>	33
3.7. Análisis Estadístico	33

4. RESULTADOS	37
4.1. Caracterización de la muestra	38
4.2. Análisis estadístico	41
4.2.1. Análisis exploratorio de los datos	42
4.2.2. Medidas descriptivas de posición y de dispersión	43
4.2.3. Coeficientes de Correlación de Pearson	45
4.2.4. Análisis de Componentes Principales y Gráfico Biplot	48
4.2.5. Evolución de los niveles de FAO y FAL en el tiempo	50
4.2.6. Evolución de los niveles de FAO FAL REST y FAL en el tiempo	51
4.2.7. Análisis de Regresión Lineal	52
4.2.8. Pruebas de t para muestras pareadas en los momentos 1 vs 2, 2 vs 3 y 1 vs 3	54
4.2.9. Pruebas de t para dos muestras independientes.....	55
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	56
6. CONCLUSIONES	62
7. RESUMEN	64
8. ABSTRACT	67
9. BIBLIOGRAFÍA	70
10. ANEXOS	80
Anexo I: Modelo de Consentimiento Informado Utilizado	81
Anexo II: Registro de datos – grupo tratamiento	82
Anexo III: Registro de datos – grupo control	83

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

Los tejidos de sostén del diente, en especial el ligamento periodontal y el hueso alveolar, tienen una notable plasticidad que permite los movimientos fisiológicos de los dientes, y el constante acomodamiento durante la masticación. Es esta plasticidad de dichos tejidos la que permite su movimiento ortodóntico ⁽¹⁾.

Durante el movimiento dentario ortodóntico se producen reacciones tisulares que terminan en una respuesta inflamatoria en el ligamento periodontal, en relación con las fuerzas utilizadas ⁽²⁾.

La respuesta de modelado y remodelado óseo ⁽³⁾ que caracterizan al movimiento dental ortodóntico, requiere una estrecha coordinación de las funciones osteoblásticas y osteoclásticas ⁽³⁾.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las fuerzas al desplazamiento entre brackets convencionales y de autoligado ⁽⁴⁾. Los brackets convencionales presentan mayor resistencia al deslizamiento que los brackets de autoligado, requiriendo mayores fuerzas para el desplazamiento dental ⁽⁴⁾.

La contención en relación con la ortodoncia consiste en el mantenimiento de los dientes en la posición estética y funcional ideal.

Aún no se ha establecido fehacientemente el tiempo de duración del uso de los aparatos de contención. Hasta la fecha, no se ha realizado una comparación satisfactoria de pacientes con maloclusiones y tratamientos similares, pero con tiempos de contención diferentes. Existe dificultad en el mantenimiento de una contención continua, así como también en determinar exactamente durante cuánto tiempo en meses o años y por cuántas horas por día se deben utilizar los aparatos de contención removibles después del tratamiento ⁽³⁾.

Diferentes autores ^(5,6) sugieren desde la no utilización de ningún tipo de contención hasta la contención fija. Algunos consideran la necesidad de mantener cierto tipo de contención mandibular hasta que haya evidencias de que el

INTRODUCCIÓN

crecimiento ha concluido, y en otros casos consideran necesario prolongar su uso por tiempo indefinido para asegurar el mantenimiento de las relaciones dentarias (5,6).

Los fenómenos que ocurren durante el período de contención no son muy bien conocidos. Se considera que, durante este período, el hueso se reorganiza en forma de una adaptación de las espículas óseas en dirección paralela a la raíz del diente; el hueso que se había ampliado durante el período de reducción, como consecuencia de la acción de las células fagocíticas y osteoblásticas, se vuelve a estrechar durante la contención. En algunas ocasiones, puede observarse una membrana periodontal engrosada, que volverá a sus dimensiones normales si la posición de los dientes ha sido lograda de acuerdo con las fuerzas naturales (7).

En los últimos años, se ha postulado que la saliva constituye un material biológico importante para el desarrollo de nuevos tests, que favorecerían el conocimiento del diagnóstico, la etiopatogenia y monitoreo de diferentes enfermedades. Entre los componentes importantes de la saliva, se encuentran varias proteínas (8,9,10).

La fosfatasa alcalina es una enzima que cataliza la hidrólisis del enlace éster fosfórico entre un grupo orgánico y un grupo fosforilo a pH alcalino, liberando fosfato al medio (11). Esta enzima se encuentra en las membranas plasmáticas de los osteoblastos, de las células del hígado, del riñón, del bazo y de la placenta. En adultos normales, cerca de la mitad de la fosfatasa alcalina en suero proviene del hueso. Dependiendo del metabolismo de cada tipo celular en particular se han encontrado diferencias en los niveles de fosfatasa alcalina a nivel citoplasmático (12).

Flores Moreno et al. (13) determinaron concentraciones de fosfatasa alcalina ósea en saliva de individuos sanos de 2,27 U/L (0,00 – 8,16) en mujeres y de 1,74 U/L (0,00 – 4,02) en hombres.

El incremento de la actividad osteoblástica durante la formación de hueso está asociado con el aumento en la expresión de esta enzima (14).

La fosfatasa alcalina se correlaciona bastante bien con los grados de inflamación y debido a que su concentración en suero se asocia con enfermedad

INTRODUCCIÓN

ósea, su elevación en líquido gingival bien podría reflejar cambios localizados en el hueso alveolar ⁽¹⁵⁾.

Las fosfatasas ácida y alcalina están relacionadas con la injuria, daño o muerte celular. Como resultado de la aplicación de fuerzas ortodónticas, estas enzimas producidas en el periodonto difunden al líquido crevicular gingival ⁽¹⁶⁾.

La presencia de fosfatasa alcalina en el líquido crevicular esta normalmente asociado al metabolismo óseo, particularmente al depósito de hueso por parte de los osteoblastos. La actividad de la fosfatasa alcalina se incrementa con la aplicación de fuerzas ortodónticas ⁽²⁾.

Se pueden usar los fluidos corporales como, por ejemplo, la saliva para investigar el patrón de remodelado óseo durante los movimientos ortodónticos basados en la actividad de la fosfatasa alcalina ⁽¹⁴⁾.

Se han realizado varios trabajos donde se midieron los niveles de fosfatasa alcalina del fluido crevicular gingival ⁽¹⁷⁾. Éstos se modifican ante la cicatrización postratamiento periodontal, así como en los diferentes momentos del tratamiento de ortodoncia ⁽¹⁸⁾.

También se han medido las variaciones de los niveles de fosfatasa alcalina en saliva, considerando a ésta como un potencial biomarcador del movimiento dental durante el tratamiento de ortodoncia con brackets de autoligado ⁽¹⁹⁾.

Analizando en fases iniciales del movimiento dental ortodóntico se detectó que los niveles de fosfatasa alcalina salival permanecen constantes e incluso disminuyen en un primer periodo para luego incrementarse cuando se detiene el movimiento dentario ⁽¹³⁾.

Los marcadores más efectivos para medir la resorción ósea son la deoxipiridinolina y la piridinolina; y para medir la formación ósea, la fosfatasa alcalina ósea (FAO) ⁽¹²⁾.

Con esta fundamentación se la podría considerar como un biomarcador postratamiento para identificar el momento en que el remodelado óseo se estabiliza y de esa manera determinar el punto de finalización de la contención permanente (24 horas de uso) postratamiento ortodóntico.

INTRODUCCIÓN

Los brackets convencionales presentan un mayor índice de fricción; al utilizar ligaduras de alambre o módulos elastoméricos para la sujeción del arco de alambre, que generan presión sobre la base de los brackets. La principal ventaja de los brackets de autoligado es la reducción de la fricción entre éstos y el alambre, debido a que el arco no genera presión sobre la base ⁽²⁾.

Cuanto mayor sea la fricción bracket /arco mayor será la fuerza necesaria para realizar el movimiento deseado.

La respuesta a una fuerza mantenida sobre los dientes dependerá de la magnitud de ésta; las fuerzas intensas dan lugar a la rápida aparición de dolor, a necrosis de los elementos celulares del ligamento periodontal y al fenómeno de la reabsorción basal del hueso alveolar cercano al diente afectado. Las fuerzas de menor intensidad son compatibles con la supervivencia de las células del ligamento periodontal y con una remodelación del alvéolo dental mediante reabsorción frontal relativamente indolora. En la práctica ortodóntica, lo que se pretende es conseguir el mayor movimiento dental posible mediante reabsorción frontal ⁽²⁰⁾. De acuerdo con lo planteado se observará mayor respuesta en pacientes tratados con técnica convencional.

Una gran cantidad de biomoléculas y hormonas que se encuentran en la sangre, están también presentes en la saliva, y a veces se correlacionan positivamente; es decir, cuando sus niveles aumentan en la sangre también aumentan en la saliva y viceversa.

La presencia de fosfatasa alcalina en saliva y en fluido crevicular está relacionada con la inflamación y/o destrucción de los tejidos periodontales ⁽²¹⁾. Sus estimaciones pueden ser utilizadas para la evaluación y la predicción de los cambios que experimentan los tejidos periodontales y para determinar la eficacia del tratamiento ⁽²¹⁾.

Teniendo en cuenta que los niveles de fosfatasa alcalina salival se incrementan cuando se detiene el movimiento dentario ⁽¹³⁾ y que la elevación de la fosfatasa alcalina ósea es indicativa de formación ósea ⁽¹²⁾, podríamos deducir que el descenso de sus niveles demostraría una disminución de la actividad osteoblástica señalando una estabilización del remodelado óseo posmovimiento dental ortodóntico.

INTRODUCCIÓN

Con esta fundamentación podríamos considerar a la fosfatasa alcalina salival como un marcador biológico del estadio del remodelado óseo en la fase de contención postratamiento de ortodoncia.

Estudios previos, mostraron una correlación positiva entre la fosfatasa alcalina crevicular y el tiempo de contención ⁽²²⁾.

La toma de saliva al ser una técnica no invasiva, fácil y rápida de realizar la posiciona como una muestra valiosa del paciente, para estudios relacionados con la fosfatasa alcalina.

Con una metodología adecuada, nos aseguramos una prueba rápida y sensible de las concentraciones de fosfatasa alcalina salival, con probabilidades de convertirse en un elemento útil en la planificación y monitorización de la etapa de contención ortodóntica.

Tener un parámetro de los niveles de formación y resorción ósea, midiendo sustancias que fabriquen o liberen los osteoblastos y los osteoclastos mientras están en actividad, sería de mucha utilidad para evaluar el grado de actividad de estos.

La presencia de fosfatasa alcalina en la saliva, su comprobada participación en los procesos inflamatorios locales y en la remodelación ósea, nos permitirá relacionar sus niveles con la osificación postratamiento de ortodoncia necesaria para lograr estabilidad.

Conociendo los valores de referencia de la fosfatasa alcalina salival en la finalización de la fase de remodelado óseo y periodontal postratamiento podrían ser utilizados para determinar el momento de interrupción de la fase de contención en pacientes que hayan logrado estabilidad oclusal.

El monitoreo de la actividad de la fosfatasa alcalina salival puede ser clínicamente útil como un marcador biológico de los cambios tisulares postratamiento de ortodoncia.

La posibilidad de contar con un marcador biológico que indique la finalización de la fase de remodelado óseo y periodontal postratamiento sería de

INTRODUCCIÓN

gran utilidad para determinar el momento de interrupción de la fase de contención en pacientes que hayan logrado estabilidad oclusal.

De este modo, se podrá planificar con una fundamentación científica el tiempo de contención requerido, así como también la duración del seguimiento postratamiento que requiera cada paciente para el control de la fase de contención.

Conocer los fenómenos biológicos que ocurren durante esta fase permite explicar y motivar al paciente, quien puede incluso visualizar resultados, haciendo tangible un suceso fisiológico que es difícil de demostrar clínicamente.

1.2. Fosfatasa alcalina – biomarcador

La fosfatasa alcalina es una proteína producida por el osteoblasto que se ancla en su superficie celular externa y que actúa en el espacio extracelular por lo que es considerada una "ecto-enzima". Se conocen cinco isoformas diferentes: hepática, renal, ósea, intestinal y placentaria, y su actividad plasmática es el resultado de la suma de ellas. Además, se produce en las células germinales en baja concentración, cuya expresión puede aumentar en los procesos neoplásicos. Las distintas isoenzimas se diferencian en su movilidad electroforética, estabilidad al calor y sensibilidad a la inhibición de diversas sustancias químicas, en función de las modificaciones postranslacionales en el patrón de glucosilación.

La concentración sérica de fosfatasa alcalina total (FAL), habitualmente determinada mediante autoanalizadores basados en hidrólisis enzimática, presenta baja sensibilidad y especificidad en el estudio de la enfermedad metabólica ósea, ya que engloba la actividad de las distintas isoenzimas. Sin embargo, resulta un marcador sencillo y económico en ausencia de gestación y con función hepática normal ⁽²³⁾.

La isoenzima ósea, llamada fosfatasa alcalina ósea (FAO), presenta una larga vida media, estando así, menos influida por las variaciones circadianas por lo que refleja la actividad celular osteoblástica. La concentración sérica de la FAO es mayor en fase de aposición, encontrándose valores más elevados en niños y adolescentes. En la etapa adulta disminuye, presentando concentraciones similares en ambos sexos. Posteriormente, se ha descrito que aumenta con la edad, y es más evidente en mujeres tras la menopausia. En general, sus concentraciones séricas se elevan en los trastornos metabólicos que cursan con aumento del remodelado óseo ⁽²³⁾.

La enzima fosfatasa alcalina (FAL) básicamente funciona catalizando la hidrólisis de monoésteres de ácido fosfórico y también cataliza una reacción de transfosforilación en presencia de grandes concentraciones de aceptores de fosfato. La actividad de FAL en suero humano se utiliza ampliamente como biomarcador para una variedad de estados de enfermedad que involucran particularmente al hígado y los huesos. La función de FAL en la matriz ósea es

INTRODUCCIÓN

generar el pH en el cual una molécula tiene una carga neta neutra, lo que conduce a la cristalización de hidroxiapatita. El rango normal de laboratorio para FAL es de 20 a 140 UI/L. Debido al crecimiento óseo constante, los niños tienen niveles más altos de FA en suero, especialmente durante el crecimiento acelerado, cuando los niveles pueden ser tan altos como 500 UI/L. Las afecciones relacionadas con los huesos, como fracturas, acromegalia, sarcoma osteogénico, metástasis óseas, leucemia, mielofibrosis y mieloma en raras ocasiones pueden causar elevaciones en los niveles séricos de FAL ⁽²⁴⁾.

En adultos con función hepática normal, aproximadamente el 50% del total de FAL sérica deriva del hígado, mientras que el 50% restante proviene del hueso. En niños y adolescentes predomina la iso-enzima ósea (FAO), por encima del 90% debido al crecimiento esquelético ⁽⁸⁾.

La fosfatasa alcalina total sérica (FAL), es el marcador de metabolismo óseo más utilizado, por la gran disponibilidad de métodos de determinación simples y económicos ⁽⁸⁾. Una vez descartadas las patologías hepáticas, FAL provee una buena impresión de la magnitud de formación de hueso nuevo y de la actividad osteoblástica ⁽⁸⁾.

Un biomarcador es una sustancia que es medida y evaluada objetivamente como un indicador de procesos biológicos normales, patológicos o respuestas farmacéuticas en una intervención terapéutica. Los biomarcadores existen en gran variedad de formas, incluyendo anticuerpos, ADN, ARN, lípidos, metabolitos y proteínas. Alteraciones en sus concentraciones, estructura, función o su acción pueden ser asociadas con el comienzo, progresión, o incluso la reincidencia de algún desorden particular o resultado de cómo el cuerpo responde a éste. Estos biomarcadores son los que van a reportar si hay o no alteraciones y brindar información para que el profesional pueda emitir un diagnóstico. Existen diferentes biomarcadores en saliva que se utilizan para detectar distintas enfermedades, tanto bucales como sistémicas. En cada patología se los utilizan para detectar anomalías que indiquen la instalación o progresión de algún proceso patológico en particular ⁽²⁵⁾.

La fosfatasa alcalina es una enzima relacionada directamente con el metabolismo osteológico y la inflamación, por ejemplo, en la enfermedad periodontal ⁽²⁵⁾.

INTRODUCCIÓN

La relación entre FAL y mineralización ha sido objeto de muchos estudios desde la primera discusión de Robinson sobre la enzima en 1923 ⁽²⁶⁾. Aunque se ha adquirido un amplio conocimiento, queda por establecer el papel exacto de FAL en la formación de minerales. Varias investigaciones determinaron hallazgos consistentes con respecto a la localización de la enzima en tejidos mineralizantes.

Estudios citoquímicos enzimáticos han demostrado que la actividad de FAL está estrechamente asociada con las células y membranas vesiculares de la matriz de cartílago en calcificación, con la osteogénesis intramembranosa y con dentina recientemente formada ⁽²⁶⁾. La actividad de FAL se detectó en las áreas osteoides de formación de hueso nuevo pero no en la matriz ósea calcificada. Las células que mostraron altas actividades de FAL fueron preosteoblastos, osteoblastos ^(27,28), zonas de revestimiento, osteocitos recién incrustados, células endosteales y células subperiósticas ⁽²⁶⁾.

En relación con la formación ósea inducida por fuerzas de ortodoncia, se detectaron niveles aumentados de FAL en el líquido crevicular de individuos tratados ortodónticamente. Por lo tanto, podría tener actividades biológicas en las primeras etapas del movimiento dental ⁽²⁶⁾.

La fosfatasa alcalina es considerada el más prometedor y relevante marcador de la formación de hueso ^(29,30) y de la actividad osteoblástica ⁽²⁶⁾. Esto se atribuye a que prácticamente no experimenta variaciones circadianas, presenta una larga vida media y resistencia a la degradación por congelamiento ⁽³⁰⁾.

Numerosas sustancias provenientes del líquido crevicular pueden ser detectadas en saliva, cuando ambos fluidos se mezclan en la cavidad bucal ⁽³¹⁾. Es por ello que esta enzima puede ser fácilmente obtenida a partir del líquido crevicular o de la saliva entera. Elevaciones de varios biomarcadores en el líquido crevicular pueden predecir la pérdida ósea y de adherencia en la enfermedad periodontal. La recolección de muestras de líquido crevicular para la práctica clínica diaria puede ser más compleja. En contraposición con la recolección de muestras salivales, cuyo método es más sencillo, no es invasivo, se puede obtener gran cantidad, sin representar discomfort tanto para el paciente como para el profesional ⁽³²⁾.

1.3. Movimiento dental en ortodoncia

Los cambios morfofuncionales que se producen en las estructuras de soporte dentario durante el movimiento ortodóntico involucran procesos bioquímicos, histológicos y fisiológicos. Desde hace más de un siglo, existen disímiles teorías que tratan de explicarlos; sin embargo, todavía se siguen realizando estudios a fin de comprenderlos detalladamente ⁽³³⁾.

El movimiento dental por la aplicación de fuerzas de ortodoncia depende del remodelado del ligamento periodontal y del hueso alveolar, involucra la activación de un complejo mecanismo celular y molecular con importantes cambios biológicos macro y microscópicos. Este proceso implica la activación de mecanismos celulares y moleculares complejos mediados por la liberación por parte de células periodontales de sustancias químicas en cascada. Principalmente durante la etapa temprana de aplicación de la fuerza de ortodoncia, puede producirse un proceso inflamatorio en el periodonto como respuesta fisiológica ante el estrés de los tejidos ⁽³⁴⁾. Después de la aplicación de dichas fuerzas pueden detectarse varios biomarcadores tisulares de las alteraciones biológicas que expresan, resorción y formación ósea, cambios a nivel de ligamento periodontal y como respuesta neural y vascular ⁽³⁴⁾.

El principio de que al aplicar una fuerza externa sobre un diente se produce resorción ósea en el área de compresión y aposición ósea en el área de tensión (fig.1.1) ^(34 fig1), de la cual resulta el movimiento dental ortodóntico, es enunciado hace más de 160 años ⁽³⁵⁾.

En el movimiento dental ortodóntico interviene el mecanismo de trasducción, es decir, la conversión de una fuerza física en una respuesta biológica ⁽³³⁾.

La respuesta a una fuerza mantenida sobre los dientes dependerá de la magnitud de la misma: las fuerzas intensas dan lugar a la rápida aparición de dolor, a necrosis de los elementos celulares del ligamento periodontal y al fenómeno de reabsorción basal del hueso alveolar cercano al diente afectado. Las fuerzas de menor intensidad son compatibles con la supervivencia y adaptación de las células del ligamento periodontal y con una remodelación del alvéolo dental

INTRODUCCIÓN

mediante reabsorción frontal relativamente indolora. En la práctica ortodóntica, lo que se pretende es conseguir el mayor movimiento dental posible mediante reabsorción frontal ⁽²⁰⁾.

La fricción es la resistencia al movimiento cuando un objeto se mueve tangencialmente contra otro ⁽³⁶⁾. Costa Araujo et al., determinaron que la fuerza de fricción en los brackets convencionales fue significativamente mayor en comparación con los brackets de autoligado antes del uso clínico ($P < .001$) ⁽³⁷⁾.

A mayor fricción, mayor fuerza y a mayor fuerza mayor presión sobre el tejido periodontal, mayor reducción de flujo sanguíneo, si la fuerza es excesiva y mantenida puede provocar la pérdida total de células por falta de aporte sanguíneo; la respuesta de los tejidos será la de hialinización y el movimiento será menor, así como mayor el tiempo de recuperación del tejido óseo circundante ⁽²⁰⁾.

Por lo expresado, es que se deben utilizar fuerzas óptimas, aquéllas que den la mayor tasa de movimiento dental con la menor injuria a los tejidos ⁽³⁸⁾.

La teoría clásica del movimiento dental sostiene que el estímulo para la diferenciación celular y, en última instancia, para el movimiento dental depende más de señales químicas que eléctricas. Según esta teoría, la alteración del flujo sanguíneo en el seno del ligamento periodontal se debe a la presión mantenida que obliga al diente a cambiar de posición en el espacio del ligamento periodontal, comprimiendo el ligamento en unos puntos y tensándolo en otros ⁽²⁰⁾.

El flujo sanguíneo disminuye en las zonas de compresión, y suele mantenerse o aumentar en los puntos de tensión del ligamento periodontal. Si se tensa excesivamente algunas regiones del ligamento periodontal, el flujo sanguíneo puede disminuir de forma pasajera. Las alteraciones del flujo sanguíneo inducen rápidos cambios en el entorno químico. Este concepto del movimiento dental comprende tres fases: 1) las alteraciones del flujo sanguíneo asociadas con la presión en el seno del ligamento periodontal; 2) la formación y/o liberación de mensajeros químicos, y 3) la activación celular (fig. 1.1) ^(20, 34 fig1).

Al disminuir el flujo sanguíneo durante varios días, se inicia el proceso de resorción. El hueso del lado de compresión se reabsorbe por actividad osteoclástica. Sin resistencia que se oponga a fuerza aplicada, la raíz se desplaza en el sentido de ésta ⁽³³⁾.

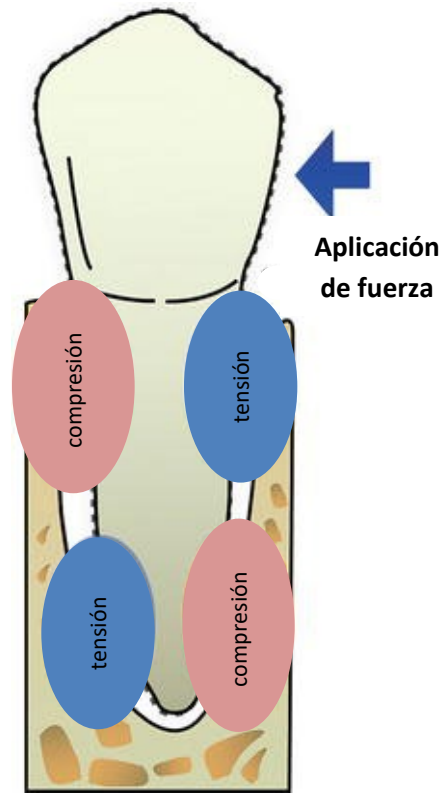


Figura 1.1: Representación gráfica de zonas de tensión y de compresión durante el movimiento dental por fuerzas ortodónticas. Adaptado de: d'Apuzzo et al. ^(34 fig1)

En estudios de cinética celular se describe la existencia de dos tipos de células osteoclásticas al aplicar una fuerza ligera: un primer grupo proveniente de una población celular local y, un segundo grupo, de mayor magnitud, procedente de zonas distantes y llevadas al lugar por medio del flujo sanguíneo. El ancho del ligamento periodontal aumenta considerablemente para dar lugar a la alta actividad proliferativa celular y vascular. Al generarse este espacio, aumenta la irrigación sanguínea y se facilita el acceso de los osteoclastos pertenecientes al segundo grupo ⁽³⁵⁾.

En el lado de compresión los monocitos, células precursoras circulantes de la sangre, salen de los vasos y se agregan para formar células multinucleadas especializadas en la resorción ósea: los osteoclastos ⁽³³⁾. Esta diferenciación es mediada por el AMPc ⁽³³⁾.

INTRODUCCIÓN

Los osteoclastos actúan en las lagunas de Howship y crean espacios para el movimiento dental, por resorción ósea. Aparecen pocas horas después de iniciada la aplicación de la fuerza. En el ligamento ocurre además una proliferación vascular (mediada por factores químicos de crecimiento) y alta actividad celular. Se produce el recambio de fibras colágenas periodontales; en este proceso, los fibroblastos también actúan como fibroclastos (fig.1.2) (29 fig1, 35).

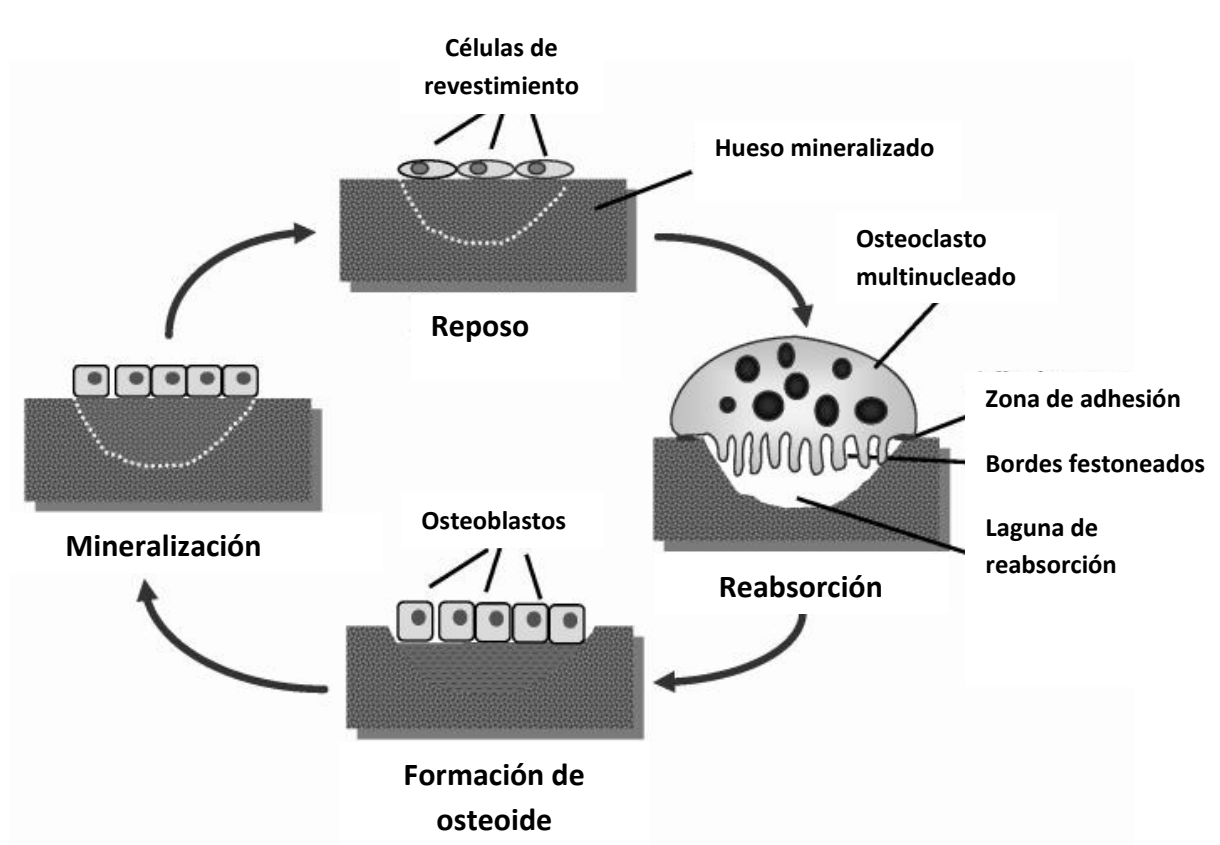


Figura 1.2: El ciclo de remodelación ósea. En condiciones normales, la fase de reabsorción (osteoclastos) dura aproximadamente 10 días, que luego es seguida por una fase de formación (osteoblastos) que puede durar hasta 3 meses. Adaptado de: Seibel MJ (29 fig1).

Las células óseas y fibroblásticas proceden de células locales. El remodelado óseo no solo ocurre en el espacio de la lámina dura de la cresta alveolar. Este proceso se realiza igualmente en los espacios medulares y bajo el

INTRODUCCIÓN

periostio, en las superficies externas de los maxilares, a fin de mantener constante la estructura y el grosor del hueso alveolar, por lo que se puede afirmar que el diente no se mueve solo a través del hueso, sino que todo el hueso se mueve y se adapta al movimiento (fig.1.3 y 1.4) (29 fig2. 33, 34 fig2).

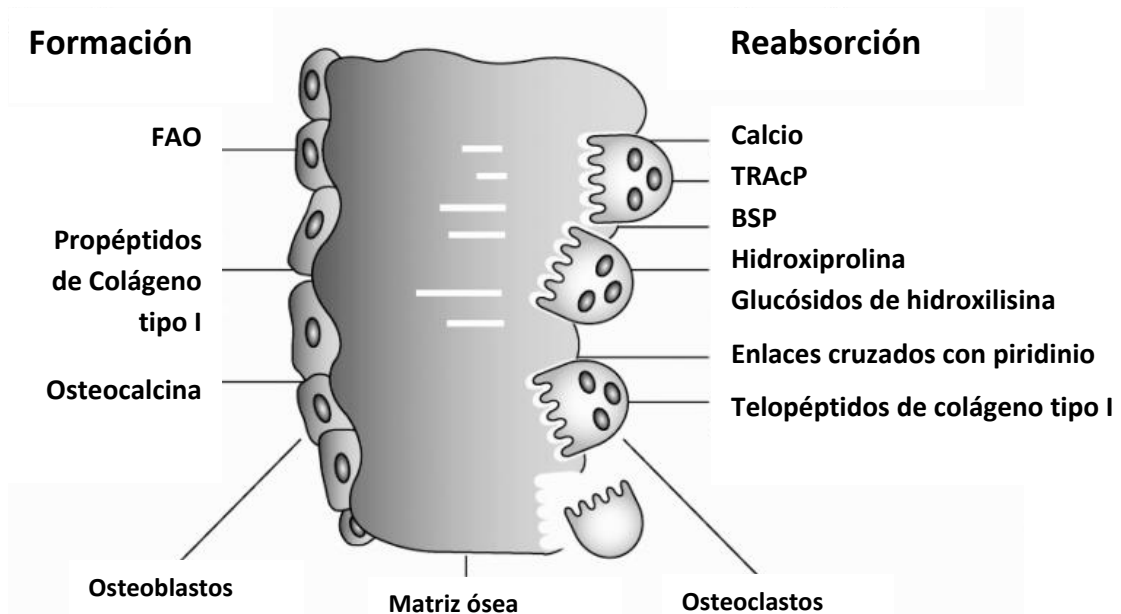


Figura 1.3: Biomarcadores del remodelado óseo. Adaptado de: Seibel MJ (29 fig2).

En la zona de tensión se produce un aumento de las células 30 a 40 horas después de la aplicación de la fuerza ortodóntica. Hay un gran recambio de elementos fibrosos por macrofagia y fagocitosis que realizan los fibroblastos/fibroclastos y dilatación vascular (35).

A medida que las fibras se estiran, se deposita una matriz orgánica no mineralizada en estrecha relación con la pared alveolar: es el osteoide depositado por los osteoblastos del tercio osteógeno del periodonto (35). La mineralización del osteoide se produce en forma progresiva, en capas, desde las más profundas hasta las más superficiales. También puede observarse un depósito de cemento sobre la raíz (fig.1.3 y 1.4) (29 fig2, 34 fig2).

INTRODUCCIÓN



Figura 1.4: Secuencia de eventos que involucra el movimiento dental por fuerzas ortodónticas. Adaptado de: d'Apuzzo et al. (34 fig2).

En condiciones normales, en el ciclo de remodelación ósea, la fase de reabsorción; vinculada con los osteoclastos, dura aproximadamente 10 días, que luego es seguida por una fase de formación, relacionada con los osteoblastos que puede durar hasta 3 meses (fig. 1.2) (29 fig2).

Para mover un diente durante el tratamiento de ortodoncia se requieren de fuerzas óptimas. Estas fuerzas óptimas deben producir el mayor movimiento dental con el menor daño irreversible. Por ejemplo, para la retracción de caninos, muchos estudios recomiendan aplicar fuerzas de 150 grs. (38).

1.4. Modelado y remodelado óseo y fosfatasa alcalina

Desde el punto de vista ortodóntico, la respuesta biomecánica al movimiento dental implica un mecanismo integrado de modelado y remodelado óseo. En el modelado, sitios independientes de reabsorción y formación cambian la forma del hueso. En cambio, en el remodelado, se produce una secuencia acoplada de reabsorción y formación para reemplazar hueso existente previamente (fig.1.2) ^(3, 29fig1).

Las alteraciones biológicas producidas durante el movimiento dental ortodóntico involucran alteraciones en el tejido óseo que rodea a las piezas dentarias. El metabolismo óseo está asociado a la fosfatasa alcalina (FAL) y a fosfatasa ácida (FAC) expresadas por los osteoblastos y osteoclastos, respectivamente ⁽³⁴⁾. Las células lesionadas, dañadas o muertas liberan fosfatasas ácidas y alcalinas en el líquido del tejido extracelular ⁽¹⁶⁾ y, en general, la alta actividad enzimática es una expresión de una mayor actividad celular.

La actividad de FAL se encuentra en niveles mucho más altos en el ligamento periodontal que en otros tejidos conectivos. Después de una aplicación de fuerza de ortodoncia, estas enzimas se producen en el periodonto y se difunden en el líquido crevicular específico del sitio ⁽³⁴⁾. Por lo tanto, el monitoreo de las actividades de fosfatasa en el líquido crevicular podría sugerir los cambios en los tejidos que ocurren durante el movimiento del diente de ortodoncia. Estudios experimentales en ratas ^(27,39) y estudios clínicos en humanos ^(40,41,42,32) correlacionan la remodelación ósea alveolar con los cambios en las actividades de fosfatasa de líquido crevicular ⁽³⁴⁾.

Cuando la actividad enzimática es alta, la velocidad de movimiento del diente es mayor. Esto implica que la actividad FAL sigue la tasa de movimiento del diente durante las fases iniciales. En los tejidos óseos duros, la FAL ha sido implicada en el proceso de mineralización. Los osteoblastos y osteocitos activos dan una reacción de tinción intensa para la fosfatasa alcalina. No se encuentra actividad enzimática en la matriz ósea, excepto cuando está en estrecha asociación con las células sintetizadoras de matriz. Las células osteogénicas en el ligamento periodontal reaccionan a las fuerzas tensionales con un aumento en el nivel de

INTRODUCCIÓN

maduración. Se ha demostrado que la proliferación de fibroblastos y el colágeno aumentan en los sitios de tensión. La actividad de FAL es menor en las zonas hialinizadas comprimidas del ligamento periodontal, mientras que la actividad de FAC es mayor ⁽³⁴⁾.

Niveles altos de FAL fueron descriptos cuando se inicia la deposición de hueso en la zona de tensión. La tensión produce cambios de forma y el movimiento de osteoblastos. En el lado de compresión, se produce reabsorción ósea, la actividad osteoclástica será alta y la osteoblástica será menor o inexistente ⁽³⁴⁾.

Como resultado de la aplicación de las fuerzas de ortodoncia FAL y FAC producidas en el periodonto, difunden al líquido crevicular, por lo que sus concentraciones pueden ser analizadas en este ⁽¹⁶⁾.

El monitoreo de las actividades de las fosfatasas a partir del líquido crevicular puede ser útiles para controlar los cambios que ocurren en los tejidos durante el movimiento dental ortodóntico ⁽¹⁶⁾.

En los primeros momentos del movimiento dental, la reabsorción ósea es mayor a la deposición ósea, pero en estadios posteriores, la reabsorción y deposición se dan en forma sincrónica ⁽⁴³⁾.

Los resultados del análisis de los niveles de desoxipiridinolina (DPD) y de FAO durante las diferentes fases del movimiento dental, mostraron que aunque los valores de DPD revelaron una naturaleza creciente después de la aplicación de la fuerza y los valores de FAO, evidenciaron una tendencia decreciente, sólo los primeros presentaron cambios significativos a lo largo del tiempo, lo que implicó que DPD domina las fases más tempranas del movimiento de los dientes, mientras que FAO sirve como un indicador de la formación de hueso tan pronto como se detiene el movimiento del diente ^(13,44).

Perinetti et al. ⁽⁴³⁾ han demostrado que durante el remodelado óseo, las células formadoras de hueso son positivas para FAL, al aplicar una fuerza constante de 250 gr. La diferencia en el lado de tensión y de compresión no es significativa, indicando que la actividad osteoblástica se presenta en ambas zonas.

1.5. Contención en ortodoncia

La contención es la parte del tratamiento ortodóntico en que se está fijando una oclusión que se ha logrado establecer tras una acción correctiva, impidiendo la reaparición de las características oclusales que motivaron la corrección ⁽⁶⁾. Sin una fase de contención, los dientes tienden a volver a su posición inicial (recidiva). Para evitar recidivas, casi todas las personas que reciben tratamiento de ortodoncia requerirán algún tipo de contención ⁽⁴⁵⁾.

El tratamiento de ortodoncia es un conjunto de estímulos mecánicos sobre las estructuras que circundan a los dientes, cuyos cambios permiten el movimiento dentario. Cuando estos estímulos cesan al finalizar la etapa correctiva, los tejidos afectados por el movimiento dental deben recuperar la estructura adecuada a la nueva posición ⁽⁶⁾. Este es un momento inestable debido a la recuperación hística ⁽⁶⁾.

Durante mucho tiempo, los odontólogos no han estado de acuerdo con la contención. Según Hellman, citado Joondeph ⁽⁵⁾, "prácticamente se ignora por completo los factores específicos que provocan las recidivas". Distintas filosofías y corrientes de pensamiento han desarrollado y presentado conceptos que suelen combinar varias teorías ⁽⁵⁾.

La estabilidad se ha convertido en el objetivo principal del tratamiento ortodóntico. La contención depende de lo que se consiga durante el tratamiento ⁽⁵⁾.

La etapa de contención se inicia en el momento en que se han alcanzado los objetivos del tratamiento y se decide interrumpir la acción de los aparatos activos ⁽⁶⁾.

El movimiento dental ortodóntico resulta en la formación rápida de hueso nuevo relativamente inmaduro. Durante el periodo de contención, el hueso recién formado se remodela y madura ⁽³⁾.

El primer hueso formado en respuesta a la carga ortodóntica suele ser del tipo entrecruzado (hueso débil, desorganizado y poco mineralizado). Este tipo de

INTRODUCCIÓN

hueso se remodela a hueso lamelar (hueso fuerte, bien mineralizado y muy organizado) o se reabsorbe con rapidez si se carga prematuramente. Las limitaciones funcionales del hueso entrecruzado son un aspecto importante de la fase de contención ortodóntica ⁽³⁾.

Como describe Graber ⁽³⁾, a su vez el hueso compuesto formado por *compactación esponjosa* (depósito de hueso lamelar en una rejilla de hueso entrecruzado) es un tipo de hueso intermedio importante en la respuesta fisiológica a la carga ortodóntica y suele ser el tipo de tejido óseo predominante para la estabilización durante el proceso temprano de contención.

Los procedimientos de contención pueden incluir el uso de aparatos de contención removibles ⁽⁶⁾ que se ajustan sobre o alrededor de los dientes, o retenedores fijos ⁽⁶⁾ que van adheridos a la parte posterior de los dientes, otro método de contención es la realización de "procedimientos complementarios". Los procedimientos complementarios cambian la forma de los contactos entre los dientes o implican una pequeña incisión para cortar la conexión entre la encía y el cuello del diente ⁽⁴⁵⁾.

La duración de la contención está condicionada por el tiempo que tarda en completarse la reorganización de los tejidos de soporte ⁽³⁾. Riedel clasificó su duración de acuerdo a los requerimientos de cada tipo de caso, estableciendo desde el no requerimiento de contención, al uso permanente o semipermanente de retenedores ⁽⁶⁾.

Littlewood et al. ⁽⁴⁵⁾, realizaron una revisión sistemática sobre las distintas estrategias de uso de contención postratamiento. Determinaron que la mayor parte de la evidencia fue de baja calidad. Solo un estudio pequeño, pero bien realizado que comparó el uso a tiempo completo y parcial de contenciones termoformadas no encontró evidencia de una diferencia en la estabilidad (evidencia de calidad moderada). Concluyendo que no hay suficiente evidencia de alta calidad para recomendar un tipo de retención específica consideraron que se necesitan mayor cantidad de estudios de alta calidad.

Sánchez Solari ⁽²²⁾ describe una disminución estadísticamente significativa de los niveles de fosfatasa alcalina en líquido crevicular en pacientes durante fase de contención con un periodo de seis meses de seguimiento. También encontró

INTRODUCCIÓN

que no existía correlación entre el índice de higiene oral con la alteración observada en el nivel de fosfatasa alcalina obtenida. Este descenso sería indicativo de la reducción en la actividad osteoblástica.

La recidiva puede ser definida como la tendencia general de los dientes a volver a su posición original después de un movimiento ortodóntico ⁽⁴⁶⁾. Es importante mencionar que varios biomarcadores como la fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), fosfatasa alcalina (ALP), osteonectina, colágeno-1 y runx2 gen, han sido identificados en recidivas. También se detectaron biomarcadores similares durante movimiento activo del diente de ortodoncia que indica que el mismo proceso ocurre en dos situaciones diferentes ⁽⁴⁷⁾, por lo que podemos inferir que un incremento en los niveles de FAL durante el período de contención en individuos periodontalmente sanos, podría ser un indicativo de recidiva.

Shaud Araujo Lima et al. ⁽⁴⁸⁾ analizaron los distintos protocolos de contención utilizados, los resultados obtenidos fueron los siguientes: se indicó su uso de contención durante más de 24 meses para el arco superior (contención removible), con una tendencia hacia su menor uso que en el arco inferior (contención fija); 3) el protocolo de uso en el arco superior comienza con 24 horas / día, reduciéndose después del segundo año; para el arco inferior, el protocolo de horas / día se mantuvo estable ⁽⁵⁾.

El objetivo de la etapa de contención inmediata permanente es estabilizar las piezas dentarias movilizadas en la fase correctiva, hasta la finalización de la formación del hueso lamelar.

1.6. Saliva como muestra biológica, elemento de estudio y diagnóstico.

Tradicionalmente, se ha utilizado la fosfatasa alcalina sérica total como biomarcador de formación de hueso ⁽³⁰⁾.

Como resultado de la aplicación de las fuerzas de ortodoncia FAL y FAC producidas en el periodonto, difunden al líquido crevicular, por lo que pueden ser analizadas en él ⁽¹⁶⁾.

El monitoreo simultáneo de los cambios de FAL Y FAC en el líquido crevicular puede reflejar las respuestas de los tejidos que ocurren en el periodonto durante la formación y reabsorción en el movimiento dental ortodóntico, respectivamente ⁽⁴⁹⁾.

A su vez, el líquido crevicular se vierte a la cavidad bucal mezclándose con la saliva ^(31,50). La saliva es un líquido biológico de alta complejidad por su composición y sus diferentes funciones. Actualmente la sialometría y la sialoquímica representan una alternativa cada vez más útil para el diagnóstico y/o seguimiento de numerosas enfermedades ⁽³¹⁾.

En la literatura internacional existen numerosas publicaciones que vinculan a la fosfatasa alcalina salival ⁽¹³⁾ y/o del líquido crevicular ^(16,30,34,39,43) con el movimiento dental. Es bien conocido que el movimiento dental por fuerzas ortodónticas produce un incremento en los niveles de FAL en dichos fluidos ⁽¹⁹⁾, por lo que consideran que su dosaje puede ser útil para evaluar la progresión del tratamiento de ortodoncia ⁽¹⁷⁾.

El estudio de los componentes de la saliva y sus potenciales biomarcadores convierte a este fluido en una potente herramienta de diagnóstico y detección de enfermedades, como así también para evaluar la evolución de tratamientos terapéuticos, debido a que refleja el estado fisiológico y patológico del cuerpo ⁽³¹⁾.

Teniendo en cuenta que los niveles de fosfatasa alcalina salival se incrementan ante el movimiento dentario ⁽¹³⁾ y que la elevación de la fosfatasa alcalina ósea es indicativa de formación ósea ⁽¹²⁾ podríamos deducir que el descenso de sus niveles demostraría una disminución de la actividad osteoblástica

INTRODUCCIÓN

señalando una estabilización del remodelado óseo pos - movimiento dental ortodóntico.

Las respuestas biológicas involucradas durante la fase de contención han sido estudiadas por muchos años, pero muy poco se conoce el efecto del proteoma de la saliva durante la fase de contención del tratamiento pos - ortodóntico ⁽⁴⁷⁾.

Al presente, no hay estudios que hayan analizado los niveles FAL y FAO salival relacionándolos con la fase inicial de contención postratamiento de ortodoncia, incluyendo como variables edad y sexo. Es de interés evaluar si hay relación entre ellos en búsqueda de un potencial biomarcador del remodelado óseo postratamiento.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

“La concentración de fosfatasa alcalina salival durante el periodo de contención disminuirá con el paso del tiempo.”

2.2. Objetivos

Objetivo general

- Determinar los niveles de fosfatasa alcalina salival total y ósea durante la fase de contención, en pacientes tratados con aparatología ortodóntica convencional.

Objetivos específicos

- Determinar los niveles de fosfatasa alcalina salival total y ósea, en pacientes tratados con aparatología convencional de ortodoncia, en tres instancias (0, 3 y 6 meses) de la fase de contención.
- Determinar los niveles de fosfatasa alcalina salival total y ósea, en pacientes sin tratamiento de ortodoncia.
- Correlacionar los niveles de fosfatasa alcalina salival total y ósea con edad, género y tiempo de contención.
- Correlacionar entre sí, los valores de fosfatasa alcalina salival total y ósea, obtenidos en las tres instancias de la fase de contención en pacientes tratados ortodónticamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño

Ensayo controlado

3.2. Variables

Variable dependiente

- Fosfatasa alcalina en saliva.

Variable independiente

- Tratamiento de ortodoncia: Aparatología utilizada postratamiento de ortodoncia.

Variables observadas

- Edad.
- Género.
- Momento de recolección de saliva

M1: Inmediatamente posterior a la remoción de la aparatología – Inicio de fase de contención.

M2: A los tres meses de finalizado el tratamiento.

M3: A los seis meses de finalizado el tratamiento.

3.3. Muestra

La muestra estaba conformada por 66 pacientes que acudieron a consultas en consultorio privado, de ambos sexos y con un rango de entre 15 (quince) a 45 (cuarenta y cinco) años.

Criterios de inclusión

Individuos en el grupo de edad determinado, con buen estado de salud bucodental y portadores de ortodoncia.

Individuos en el grupo de edad determinado, con buen estado de salud bucodental y sin tratamiento de ortodoncia.

Criterios de exclusión

Fueron excluidos del estudio: los sujetos con enfermedades sistémicas, medicaciones sistémicas o locales, los fumadores o alcohólicos, embarazadas e individuos con enfermedad periodontal.

También fueron excluidos los pacientes que no completaron los tres momentos de tomas de muestras estipulados o no acudieron dentro de los plazos pactados.

3.4. Evaluación bucodental

Se confeccionaron las historias clínicas médica y dental, que incluyeron una anamnesis y un examen bucodental a cada uno de los pacientes.

3.5. Grupos experimentales

Los sujetos fueron categorizados en dos grupos:

Grupo tratamiento

Pacientes tratados ortodónticamente con aparatología convencional ($n = 31$), que inicien la fase de contención.

Grupo control

Pacientes sin tratamiento de ortodoncia ($n = 35$).

Los pacientes participaron voluntariamente en el estudio con firma de consentimiento informado (Anexo I), de acuerdo a la normativa vigente del Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UNNE. (Ref. Expte. N° 12-2019-05953 – Dictamen N° 142)

3.6. Metodología

En primer lugar, se realizó la historia clínica y la evaluación bucodental y se coordinó el día de remoción de la aparatología para la recolección de la muestra salival. Se les dio indicaciones de higiene para evitar la presencia de gingivitis o sangrado el día de la toma de muestra.

El protocolo de contención que utilizaron fue de contención fija anteroinferior (alambre cementado por lingual de canino a canino) y removible superior (placa estampada), con indicación de uso permanente durante los tres primeros meses y luego solo uso nocturno.

La recolección de saliva se realizó en tres oportunidades: inmediatamente posterior a la remoción de la aparatología (finalización del tratamiento e inicio de etapa de contención), a los tres meses y a los seis meses de finalizado el tratamiento.

3.6.1. Técnica de recolección de saliva (no estimulada)

Para recolectar la muestra se utilizó un recipiente de propileno desechable, estéril y con tapa enroscable de capacidad de 15 ml recolectadas en una sesión por cada individuo en horario prefijado. Las muestras fueron colocadas en una conservadora portátil con hielo para su transporte y posterior procesamiento. Hasta el momento de su procesamiento las muestras fueron almacenadas a -20° temperatura de conservación recomendada por Seibel ⁽²⁹⁾.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pasos de la toma de muestra: 1) Se le solicitó al paciente que se enjuague la boca a fin de remover células exfoliadas; 2) luego se solicitó que acumule saliva durante un período de 2 minutos en piso de boca; 3) se le indicó depositar la saliva acumulada en el recipiente estéril preestablecido.

3.6.2. Pruebas de Laboratorio – determinación de FAL y FAO

Las muestras fueron procesadas con autoanalizador semiautomático Wiener Lab Group. CM 250. Se utilizó el kit ALP 405 AA de Wiener lab. (Método cinético (DGKC y SSCC) a 405 nm, para la determinación de fosfatasa alcalina)⁽²¹⁾. Basado en la hidrólisis de p-nitrofenilfosfato 10 mM en tampón de dietanolamina 1M en presencia de Mg + 2 0.5 mM. La velocidad de aparición de p-nitrofenol a 405 nm fue proporcional a la actividad enzimática.

Los valores de fosfatasa alcalina obtenidos fueron expresados en unidades internacionales por litro (UI/L) (en media ± desvío estándar).

Condiciones de reacción

Longitud de onda: 405 nm

Temperatura de reacción: 37° C

Tiempo de reacción: 3 minutos y 20 segundos

Volumen de muestra requerido: 10 µl

Previo a su procesamiento las muestras fueron trasvasadas a tubos de hemólisis de 7 ml y fueron centrifugadas a 3.000 rpm durante 5 minutos para eliminar los sedimentos. (Macrocentrífuga Gelec G142)

Luego las muestras fueron colocadas en el autoanalizador.

Determinación de Fosfatasa Alcalina Total salival (Técnica automatizada)

Técnica con reactivos separados (reactivo A y reactivo B)

Reactivo A: solución de buffer DAE (dietanolamina), conteniendo sales de magnesio.

Reactivo B: solución conteniendo p-nitrofenil fosfato (p-NFF).

Los reactivos se cargan y ajustan en el autoanalizador.

La reacción y lectura se lleva a cabo en forma automática en el autoanalizador programado y calibrado para tal fin.

Determinación de Fosfatasa Alcalina Ósea

Seguido al paso anterior, se procedió a calentar las muestras en baño termostático modelo Masson (Vicking) a 56°C⁽⁵¹⁾ por 60 minutos para lograr la desnaturalización de la isoforma ósea (termolábil).

Luego se repitió el procedimiento anteriormente descripto.

El resultado obtenido corresponde a la fosfatasa alcalina de origen hepático, FAL REST (termoestable a 56°C), la fosfatasa alcalina ósea es por lo tanto termolábil y se determinará su actividad a través de la diferencia de la FAL total menos FAL REST (la porción hepática).

Las determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones Científicas de la Facultad de Odontología de la UNNE.

3.7. Análisis Estadístico

Todos los datos fueron analizados mediante el programa estadístico InfoStat. Versión 19 (<http://www.infostat.com.ar>).

En primer lugar, a fin de analizar el comportamiento general de la información, se realizó un análisis exploratorio de datos, de manera gráfica mediante gráficos de caja y analítica a través del cálculo de medidas descriptivas

MATERIALES Y MÉTODOS

de posición y de dispersión, por momento y por grupo. Cuando se dispone de información sobre una variable medida en los individuos de una muestra, es posible calcular algunos valores, denominados estimadores o estadísticos, que permiten describir el comportamiento de dicha variable. Los estadísticos de posición se refieren a la ubicación de los datos sobre el campo de variación de la variable, los más utilizados son: los valores mínimo y máximo, la media aritmética, la mediana, la moda y los cuartiles 1 y 3. Los estimadores de variación o variabilidad hacen referencia a la forma en que se distribuyen los datos, es decir su mayor o menor heterogeneidad, los más empleados son: desviación estándar, variancia, coeficiente de variación y rango. Los gráficos de cajas (box-plot), tienen por objeto reflejar la forma de las distribuciones de las variables en estudio, dando en un mismo elemento gráfico información acerca de la mediana, la media, los cuantiles 0,05, 0,25, 0,75 y 0,95 y mostrando la presencia, si los hubiere, de valores extremos ⁽⁵²⁾.

En segundo lugar, se estudiaron las asociaciones entre las variables estudiadas (FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2, FAL3 y Edad) y su significancia, mediante el Coeficiente de Correlación de Pearson, que es una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales, se define como el cociente entre la variación conjunta de ambas variables y las variaciones individuales de cada una de ellas, asume valores en el intervalo [-1;1] y el signo indica la dirección de la asociación (valores negativos se producen cuando la tendencia promedio indica que si un valor en el par observado es más grande que su media, el otro valor es más pequeño que su media) ⁽⁵³⁾.

A fin de comprobar si existe relación entre los valores de FAO y FAL con el Género, se realizaron Pruebas de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado, previa categorización de las variables FAL y FAO en tres categorías (FAO bajo: valores entre 6 y 39, FAO medio: entre 39 y 72 y FAO alto: entre 72 y 105; FAL bajo: entre 0 y 11,5, FAL medio: entre 11,5 y 22, FAL alto: entre 22 y 32), que con las dos categorías de la variable Género permitieron construir Tablas de Contingencia, (formas tabulares de presentar datos categorizados) son útiles para el análisis simultáneo de dos o más variables categorizadas, esto es variables en las cuales la escala de medida consiste en un conjunto de categorías, las que permitieron probar las hipótesis referidas a la independencia entre las variables

MATERIALES Y MÉTODOS

que definen las filas y las columnas de la tabla y comprobar la ocurrencia de frecuencias esperadas bajo esa hipótesis de Independencia mediante el cálculo del estadístico Chi-Cuadrado y los valores p de las pruebas de hipótesis respectivas⁽⁵²⁾.

Con el objetivo de visualizar el comportamiento de los pacientes y las variables en sus diferentes momentos, se realizó un Análisis de Componentes Principales y posteriormente se graficaron los individuos y las variables sobre las dos primeras componentes mediante un gráfico Biplot. Éstos son técnicas generalmente utilizadas para reducción de dimensión, que permiten examinar todos los datos en un espacio de menor dimensión que el espacio original de las variables. Con el Análisis de Componentes Principales se construyen ejes artificiales (componentes principales) que permiten obtener gráficos de dispersión de observaciones y/o variables con propiedades óptimas para la interpretación de la variabilidad y covariabilidad subyacente. Los Biplots permiten visualizar observaciones y variables en un mismo espacio, así es posible identificar asociaciones entre observaciones, entre variables y entre variables y observaciones^(50,54,55).

Con el objeto de analizar la evolución de los niveles de FAL y FAO en el tiempo, se realizaron Gráficos de Línea. Si bien se disponía solamente de tres momentos de extracción de saliva, se estudiaron las curvas del contenido de FAO y FAL en función del tiempo y se realizó un Análisis de Regresión Lineal a fin de determinar la pendiente de dichas líneas. Éste permite estudiar la relación funcional entre una variable respuesta Y (variable dependiente) y una o más variables regresoras X (variables independientes o predictoras); como resultado de este análisis se obtiene la ecuación de una recta que relaciona ambas variables y permite estimar los valores de la variable dependiente en función de los valores de la variable independiente.

Con la finalidad de explicar el comportamiento en el tiempo de las variables FAO y FAL, se realizó un análisis de regresión y un gráfico de líneas con una nueva variable FAL RES.

A fin de comprobar si los niveles de FAO y FAL variaban entre los diferentes momentos de extracción de saliva, en los pacientes del grupo tratamiento, se realizaron Pruebas de t para muestras apareadas en los momentos 1 vs 2, 2 vs 3

MATERIALES Y MÉTODOS

y 1 vs 3, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Estas pruebas permiten probar la hipótesis de igualdad de medias cuando se toman observaciones de a pares desde las dos distribuciones que se comparan. Es decir que se dispone de una muestra de tamaño n de pares de observaciones, cada miembro de un par proveniente de una distribución. La prueba se basa en la distribución de la variable diferencia entre los pares de observaciones, d y la hipótesis nula que se quiere probar es $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$ ⁽⁵³⁾.

Con la finalidad de establecer si existían diferencias significativas en el contenido de FAO y FAL entre los pacientes del grupo tratamiento y del grupo control, en los diferentes momentos de extracción de saliva, se realizaron Pruebas de t para dos muestras independientes, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Esta prueba permite probar la hipótesis sobre la media de la variable aleatoria definida como una diferencia de medias muestrales. Se asume que se dispone de dos muestras independientes, cada una desde una población o distribución. La prueba puede ser vista como una herramienta para la comparación de medias en dos poblaciones, la hipótesis nula que se quiere probar es $H_0: \mu_1 = \mu_2$ ⁽⁵²⁾.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Caracterización de la muestra

Los 66 pacientes de ambos sexos que conformaron la muestra presentaron un rango de entre 15 (quince) a 45 (cuarenta y cinco) años. Con un promedio de edad de 23,9 años \pm 8,723. Fueron agrupados para su análisis en dos grupos: grupo 1 incluía a los individuos de 15 a 21 años y grupo 2 a los individuos de 22 a 45 años.

Se categorizaron en dos grupos según si los pacientes hayan recibido tratamiento de ortodoncia o no. Las categorías fueron:

Grupo control: Pacientes sin tratamiento de ortodoncia ($n = 35$). Conformado por 13 hombres y 22 mujeres.

Grupo tratamiento: Pacientes tratados con aparatología convencional que inician etapa de contención. ($n = 31$). Conformado por 7 hombres y 24 mujeres.

Las tablas de registros de resultados de las mediciones individuales correspondientes al grupo control y al grupo tratamiento (con los tres momentos de tomas) se presentan en la sección anexos (Anexos II y III).

Se calcularon los promedios y desvíos standard, de valores obtenidos para cada grupo de análisis.

Los resultados obtenidos de acuerdo con las variables género y edad en el grupo control se muestran en las Tablas 4.1 y 4.4.

Tabla 4.1. Valores promedio de FAL/FAO en el grupo control según género.

Género	FAL	FAO
HOMBRES n:13	31,69 ±7,53	11,61 ±6,28
MUJERES n: 22	29,38 ±9,88	11,56 ±7,55
TOTAL n: 35	30,24 ±9,06	11,59 ±7,06

Los valores obtenidos fueron expresados en unidades internacionales por litro (UI/L) (en media ± desvío estándar).

Tabla 4.2. Valores promedio de FAL/FAO en el grupo control según edad.

EDAD	FAL	FAO
GRUPO 1 (de 15 a 21 años)	30,28 ±8,22	12,4 ±7,37
GRUPO 2 (de 22 a 45 años)	30,15 ±11,12	9,55 ±5,88
TOTAL n: 35	30,24 ±9,06	11,59 ±7,06

Grupo 1: de 15 a 21 años - Grupo 2: de 22 a 45 años.

Los valores obtenidos fueron expresados en unidades internacionales por litro (UI/L) (en media ± desvío estándar).

Los resultados obtenidos de acuerdo con las variables género y edad en el grupo tratamiento se muestran en las Tablas 4.3 y 4.4.

RESULTADOS

Tabla 4.3. Valores promedio de FAL/FAO en el grupo tratamiento según género.

GÉNERO	FAL1	FAL2	FAL3	FAO1	FAO2	FAO3
HOMBRES	40,14 ±27,44	33,14 ±10,97	34,57 ±9,34	13,78 ±10,72	8,79 ±5,31	7,28 ±4,73
MUJERES	39,76 ±13,32	40,31 ±16,09	39,02 ±9,91	10,58 ±6,44	7,21 ±5,64	8,10 ±4,44
TOTALn:31	39,76 ±16,37	38,69 ±14,98	38,02 ±9,49	11,31 ±7,56	8,44 ±5,19	7,92 ±4,31

Los valores obtenidos fueron expresados en unidades internacionales por litro (UI/L) (en media ± desvío estándar).

FAL/FAO 1: inmediatamente posterior al desarme, FAL/FAO 2: a los tres meses del desarme, FAL/FAO3: a los seis meses del desarme.

Tabla 4.4. Valores promedio de FAL/FAO en el grupo tratamiento según edad.

EDAD	FAL1	FAL2	FAL3	FAO1	FAO2	FAO3
GRUPO 1	38,46 ±17,24	35,97 ±8,98	37,69 ±9,44	10,44 ±6,78	8,28 ±5,84	7,56 ±5
GRUPO 2	41,13 ±17,42	41,6 ±19,74	38,37 ±10,5	12,23 ±8,46	8,6 ±4,95	8,3 ±3,91
TOTALn:31	39,76 ±16,37	38,69 ±14,98	38,02 ±9,49	11,31 ±7,56	8,44 ±5,19	7,92 ±4,31

Grupo 1: de 15 a 21 años - Grupo 2: de 22 a 45 años. Los valores obtenidos fueron expresados en unidades internacionales por litro (UI/L) (en media ± desvío estándar).

FAL/FAO 1: inmediatamente posterior al desarme, FAL/FAO 2: a los tres meses del desarme, FAL/FAO3: a los seis meses del desarme.

4.2. Análisis estadístico

En primer lugar, a fin de analizar el comportamiento general de la información, se realizó un análisis exploratorio de datos, de manera gráfica mediante gráficos de caja, y analítica a través del cálculo de medidas descriptivas de posición y de dispersión, por momento y por grupo.

En segundo lugar, se estudiaron las asociaciones entre las variables estudiadas según el momento de toma realizada (FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2, FAL3 y Edad) y su significancia, mediante el Coeficiente de Correlación de Pearson.

A fin de comprobar si existe relación entre los valores de FAO y FAL con el Género, se realizaron Pruebas de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado.

Para visualizar el comportamiento de los pacientes y las variables en sus diferentes momentos, se realizó un Análisis de Componentes Principales y posteriormente se graficaron los individuos y las variables sobre las dos primeras componentes mediante un gráfico Biplot.

Con el objeto de analizar la evolución de los niveles de FAL y FAO en el tiempo, se realizaron Gráficos de Línea.

Para explicar el comportamiento en el tiempo de las variables FAO y FAL, se realizó un análisis de regresión y un gráfico de líneas con la variable FAL RES.

A fin de comprobar si los niveles de FAO y FAL variaban entre los diferentes momentos de extracción de saliva, en los pacientes del grupo tratamiento, se realizaron Pruebas de t para muestras apareadas en los momentos 1 vs 2, 2 vs 3 y 1 vs 3, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

Con la finalidad de establecer si existían diferencias significativas en el contenido de FAO y FAL entre los pacientes del grupo tratamiento y del grupo control, en los diferentes momentos de extracción de saliva, se realizaron Pruebas de t para dos muestras independientes, con un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

4.2.1. Análisis exploratorio de los datos

El análisis exploratorio de los datos consistió en una parte gráfica mediante Gráficos de Caja (Boxplots) y una analítica mediante el cálculo de Medidas Descriptivas de Posición (Me, Md, Mín, Máx, Q1 y Q3) y de Dispersión (D.E., Var y CV).

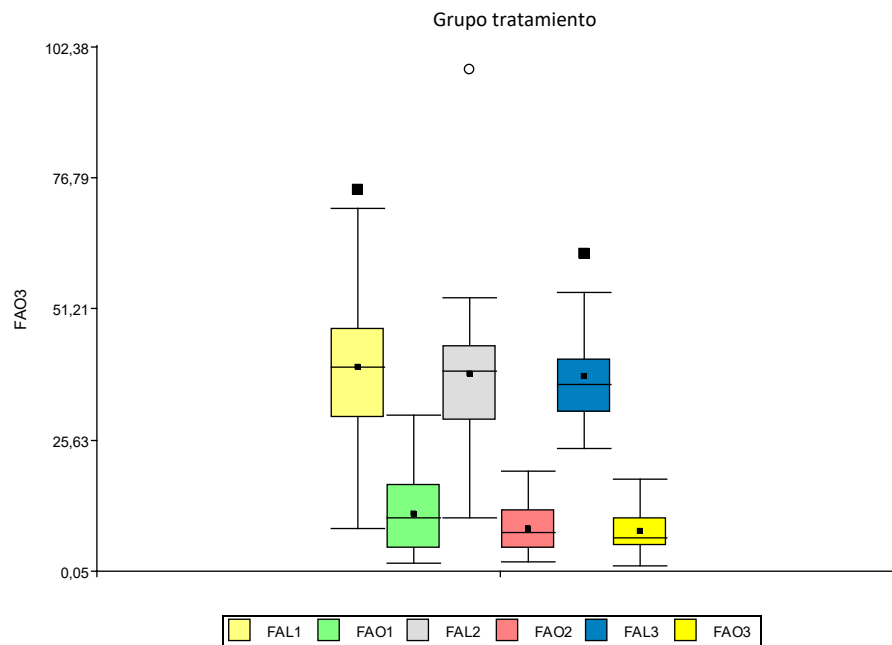


Figura 4.1. Gráficos de Caja de las variables FAO y FAL en tres momentos de extracción de saliva

En la Figura 4.1 los Gráficos de Caja, nos permiten apreciar que las distribuciones de FAL presentan valores superiores a las de FAO y también exhiben mayor variabilidad. Las distribuciones de ambas variables se presentan bastante simétricas en los tres momentos de medición. En las distribuciones de FAL, si bien no se observa un descenso muy marcado de valores entre momentos, si se puede apreciar una disminución de la variabilidad entre los momentos 1 y 2 y entre 2 y 3. Para la variable FAO se observa una disminución de los valores y también una marcada disminución de la variabilidad, fundamentalmente entre los momentos 1 y 2.

4.2.2. Medidas descriptivas de posición y de dispersión

Grupo Control

En la Tabla 4.5 se observa que en el grupo control, los valores de FAL, con promedio de 30,24, oscilaron entre un mínimo de 19,50 y un máximo de 60,00, lo que indica una alta variabilidad, expresada también por su coeficiente de variabilidad de 30,02. Los valores de FAO, con promedio de 11,59, oscilaron entre un mínimo de 1,00 y un máximo de 31,50, lo que indica una muy alta variabilidad, expresada también por su coeficiente de variabilidad de 60,00.

Tabla 4.5. Estadísticas Descriptivas, para las variables FAO y FAL, en el grupo control

Variable	Me	D.E.	Var	CV	Mín	Máx	Md	Q1	Q3
FAL	30,24	9,08	82,42	30,02	19,50	60,00	27,5	24,0	35,5
FAO	11,59	7,05	49,68	60,84	1,00	31,50	10,5	6,0	16,0

Me: promedio aritmético, D.E.: desviación estándar, Var: variancia, Mín: mínimo, Máx: máximo, Md: mediana, Q1: primer cuartil, Q3: tercer cuartil

Grupo Tratamiento

En la Tabla 4.6 se observa que en el grupo tratamiento, los valores promedios de FAL son mayores a los del grupo control, en todos los momentos ($Me_1 = 39,76$, $Me_2 = 38,69$ y $Me_3 = 38,02$), como así también las variabilidades en los momentos 1 y 2 ($CV_1 = 41,18$ y $CV_2 = 38,70$), aunque en el tercer momento, la variabilidad del grupo tratamiento es menor que la del control ($CV_3 = 24,96$). Los valores promedios de FAO son, en todos los momentos menores a los del grupo control ($Me_1 = 11,31$, $Me_2 = 8,44$ y $Me_3 = 7,92$), en tanto que la variabilidad del grupo

RESULTADOS

tratamiento es mayor a la del control en los momentos 1 y 2 ($CV_1 = 66,91$ y $CV_2 = 61,57$) y menor en el tercer momento ($CV_3 = 54,46$).

Tabla 4.6. Estadísticas Descriptivas para las variables FAO y FAL, en el grupo tratamiento

Momento	Variable	Me	D.E.	Var	CV	Mín	Máx	Md	Q1	Q3
1	FAL	39,76	16,37	268,05	41,18	8,5	74,5	40	30	47,5
2	FAL	38,69	14,98	224,26	38,70	10,5	98	39	29,5	44
3	FAL	38,02	9,49	90,01	24,96	24	62	36,5	31	41,5
1	FAO	11,31	7,56	57,23	66,91	1,5	30,5	10,5	4,5	17
2	FAO	8,44	5,19	26,98	61,57	2	19,5	7,5	4,5	12
3	FAO	7,92	4,31	18,6	54,46	1	18	6,5	5	10,5

Me: promedio aritmético, D.E.: desviación estándar, Var: variancia, Mín: mínimo, Máx: máximo, Md: mediana, Q1: primer cuartil, Q3: tercer cuartil
 Momentos 1: inmediatamente posterior al desarme, 2: a los tres meses del desarme y 3: a los seis meses del desarme.

4.2.3. Coeficientes de Correlación de Pearson

En la Figura 4.2 de los coeficientes de correlación de Pearson calculados, para el grupo tratamiento, entre las variables FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2 y FAL3, solamente resultaron significativas las correlaciones entre FAO1 y FAL1, FAO2 y FAL2 y FAO3 y FAL3. En la Figura 4.2 se presenta una matriz de diagramas de dispersión en la que se pueden ver las variaciones conjuntas de cada par de variables.

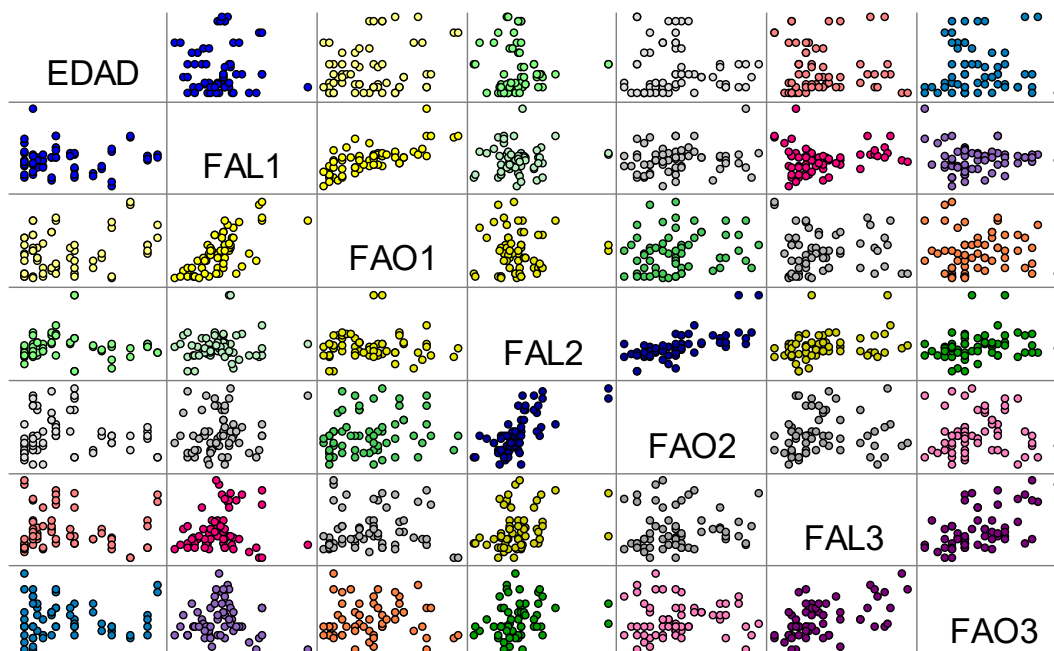


Figura 4.2. Matriz de Diagramas de Dispersión entre las variables FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2, FAL3 y EDAD, en el grupo tratamiento FAL/FAO 1: inmediatamente posterior al desarme, FAL/FAO 2: a los tres meses del desarme, FAL/FAO3: a los seis meses del desarme

RESULTADOS

Los valores de los coeficientes de correlación de Pearson y sus probabilidades se presentan en la Tabla 4.7.

Del análisis de la Tabla 4.7 se desprende que, tanto en el grupo tratamiento como en el control, solamente resultan significativas las correlaciones entre FAL y FAO (incluso en los diferentes momentos en el grupo tratamiento). No se detectan correlaciones significativas entre las variables FAL y FAO con la edad, ni entre las variables FAO y FAL en los diferentes momentos de recolección de saliva.

Tabla 4.7. Coeficientes de Correlación de Pearson entre las variables FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2 y FAL3 y sus correspondientes p- valores, en los grupos control y tratamiento

Grupo	Variable (1)	Variable (2)	R de Pearson	p-valor
T	FAL1	FAO1	0,71	<0,0001 (*)
T	FAL1	FAL2	0,1	0,4206
T	FAL1	FAO2	0,15	0,2491
T	FAL1	FAL3	0,13	0,2991
T	FAL1	FAO3	-0,03	0,8312
T	FAL1	EDAD	0,02	0,8981
T	FAO1	FAL2	-0,01	0,9662
T	FAO1	FAO2	0,17	0,1893
T	FAO1	FAL3	0,02	0,8991
T	FAO1	FAO3	0,03	0,8258
T	FAO1	EDAD	0,26	0,0417
T	FAL2	FAO2	0,68	<0,0001 (*)
T	FAL2	FAL3	0,29	0,0225
T	FAL2	FAO3	0,22	0,0803
T	FAL2	EDAD	0,01	0,9579
T	FAO2	FAL3	0,07	0,6051
T	FAO2	FAO3	0,01	0,9241
T	FAO2	EDAD	-0,07	0,6052
T	FAL3	FAO3	0,54	<0,0001 (*)
T	FAL3	EDAD	-0,05	0,6817
T	FAO3	EDAD	0,02	0,8915
C	FAL	FAO	0,68	<0,0001 (*)
C	FAL	EDAD	0,08	0,5184
C	FAO	EDAD	-0,13	0,2933

T: tratamiento, C: control. (*) indica significancia estadística

RESULTADOS

Se realizó un Análisis de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado, entre las variables FAO y FAL con respecto del Género, para el grupo tratamiento en cada uno de los momentos de extracción de saliva y para el grupo control. Los valores de Chi-Cuadrado y sus correspondientes p-valores se presentan en la Tabla 4.8.

Ninguno de los valores de Chi-Cuadrado calculados resultó significativos (p-valores > 0,05), por lo que se puede concluir que no existe asociación entre los valores de FAO y FAL (en los diferentes momentos de extracción de saliva en el grupo tratamiento y en el grupo control) y el Género.

Tabla 4.8. valores del estadístico Chi-Cuadrado y p-valores asociados, para la prueba de Independencia entre las variables FAO y FAL respecto del Género, en los tres momentos de extracción de saliva en el grupo tratamiento y en el grupo control

Grupo	Momento	Variable		Estadístico	p-valor
		1	2		
T	1	FAL	Género	3,62	0,1634
T	2	FAL	Género	0,75	0,6887
T	3	FAL	Género	0,97	0,3246
C		FAL	Género	0,03	0,8743
T	1	FAO	Género	4,03	0,1330
T	2	FAO	Género	0,01	0,9126
T	3	FAO	Género	0,33	0,5680
C		FAO	Género	5,45	0,0655

T: tratamiento, C: control

Momentos 1: inmediatamente posterior al desarme, 2: a los tres meses del desarme y 3: a los seis meses del desarme.

4.2.4. Análisis de Componentes Principales y Gráfico Biplot

En la Figura 4.3 se presenta el Gráfico Biplot en el que se representan los pacientes y las variables sobre las dos primeras componentes resultantes del Análisis de Componentes Principales.

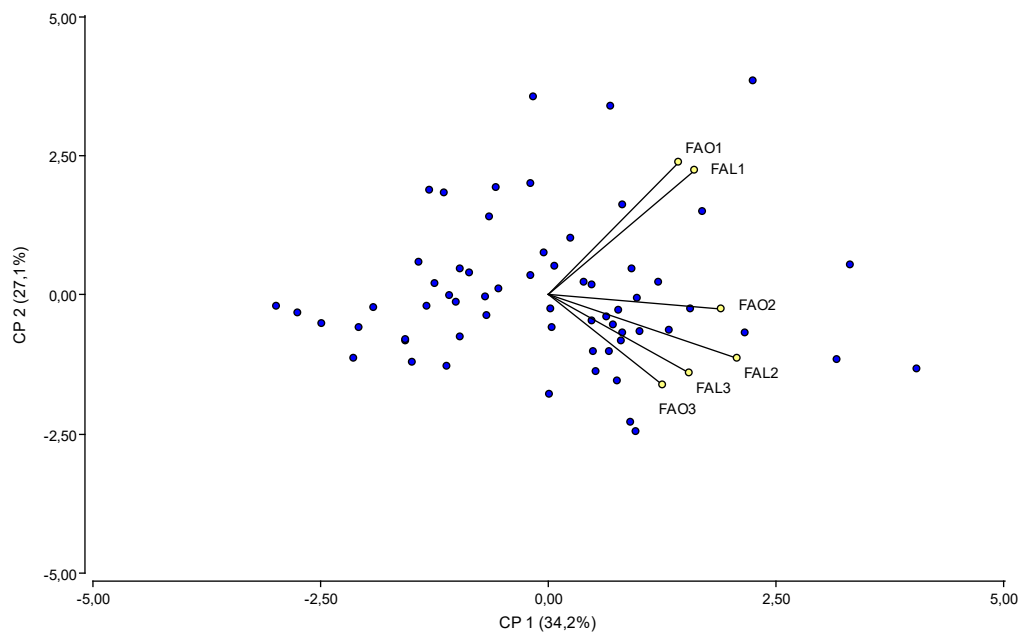


Figura 4.3. Gráfico Biplot en el que se representan sobre las dos primeras componentes resultantes del Análisis de Componentes Principales, los pacientes del grupo tratamiento y las variables FAO1, FAO2, FAO3, FAL1, FAL2 y FAL3

RESULTADOS

Las dos primeras componentes del Análisis de Componentes Principales conservan el 63% de la variabilidad total (CP1 34,2% y CP2 27,1%). La primera componente (eje horizontal) está definida, principalmente, por las variables FAL 2 y FAO2 y la segunda (eje vertical), por las variables FAL1 y FAO1. Esto indica que, sobre el eje horizontal, la variabilidad entre los individuos viene dada fundamentalmente por los valores de FAL y de FAO en el segundo momento, por lo que la mayor variabilidad en los contenidos de estas variables se da entre el segundo momento y los restantes. En tanto que, en el eje vertical, los pacientes se diferencian por sus niveles de FAL y FAO en el primer momento de extracción de saliva, lo que indica que la segunda mayor variabilidad se da entre el primer momento y los restantes.

4.2.5. Evolución de los niveles de FAO y FAL en el tiempo

En la Figura 4.4 se presentan los Gráficos de Línea que representan la evolución de los niveles de FAL y de FAO en los tres momentos de extracción de saliva y su comparación con los valores del grupo control. En la misma se puede apreciar el descenso de los valores de FAL en el grupo tratamiento los que, no obstante, se mantienen por encima de los valores del control. En lo que respecta a los valores de FAO, se observa que, en el primer momento son casi coincidentes con el control, en tanto que en los momentos 2 y 3 disminuyen y se ubican por debajo del control.

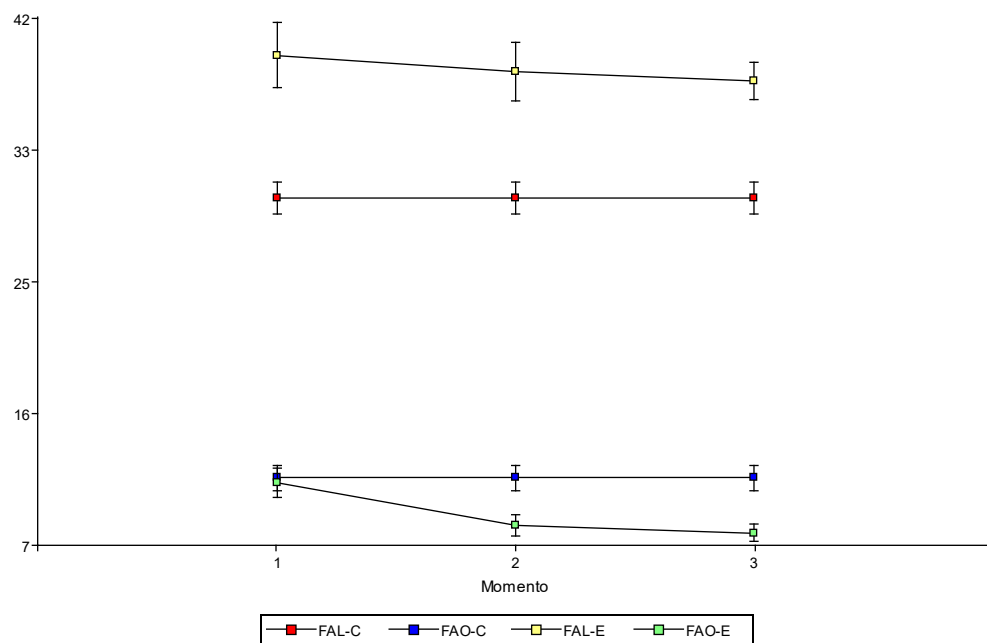


Figura 4.4. Gráficos de Línea de evolución de los niveles de FAO y FAL en los grupos tratamiento en los tres momentos de extracción de saliva y su comparación con los valores del grupo control

4.2.6. Evolución de los niveles de FAO FAL REST y FAL en el tiempo

A los efectos de mejorar la interpretación del comportamiento de las variables FAO y FAL, se incorporó una nueva variable FAL RES (fosfatasa alcalina restante poscalentamiento), que resulta de la diferencia entre FAL (fosfatasa alcalina total) y FAO (fosfatasa alcalina ósea) FAL RES, corresponde a la fracción de FAL termoestable, medida poscalentamiento. En la Figura 4.5 se encuentran los Gráficos de Línea que representan la evolución de los niveles de FAL, FAO y FAO RES en el grupo tratamiento, en los tres momentos de extracción de saliva.

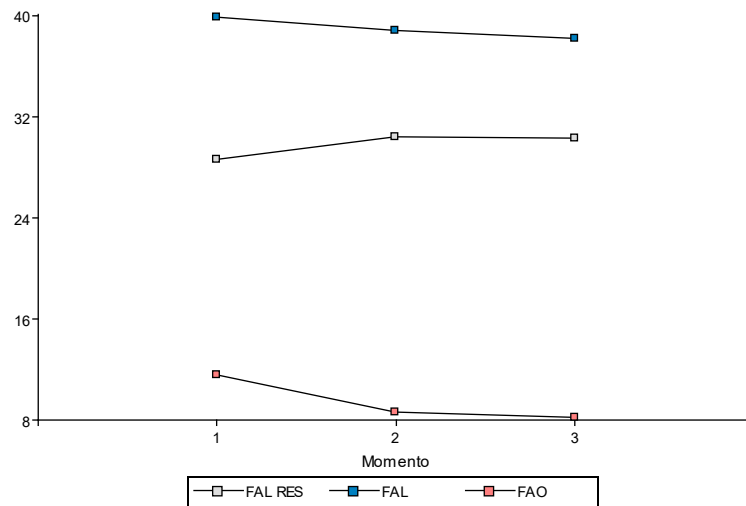


Figura 4.5. Gráficos de Línea de evolución de los niveles de FAO, FAL y FAL RES en el grupo tratamiento en los tres momentos de extracción de saliva

Del análisis de la Figura 4.5 se desprende que el descenso marcado observado en FAO sería el principal causante del descenso de FAL, puesto que FAL RES presenta un comportamiento inverso a FAO y aumenta entre el primer y segundo momento, disminuyendo levemente entre el segundo y tercer momentos.

4.2.7. Análisis de Regresión Lineal

En la Tabla 4.9 se presentan los resultados del Análisis de Regresión Lineal, para las variables FAO y FAL en el grupo tratamiento.

Se observa que, para ambas variables el coeficiente b_0 resulta significativo, lo que indica que los puntos en que ambas rectas cortan el eje Y no se corresponden con el origen del sistema de coordenadas (puntos diferentes de cero). En relación con las pendientes de ambas rectas (coeficientes b_1), ambas son negativas lo que indica una disminución de los valores en función del momento, no obstante, en el caso de FAL dicho coeficiente presenta un p-valor igual a 0,5028, por lo que la disminución de los valores no resulta significativa. En el caso de la variable FAO, el Coeficiente de Regresión (b_1) presenta un p-valor igual a 0,0019 lo que indica la disminución significativa de los valores de esta variable en función del tiempo.

Tabla 4.9. Resultados del Análisis de Regresión Lineal entre las variables FAO y FAL y los momentos de extracción de saliva, en el grupo tratamiento

Variable	Coef	Est.	E.E.	T	p-valor
FAL	b_0	39,69	1,67	23,7	<0,0001
	b_1	-0,01	0,01	-0,67	0,5028
FAO	b_0	10,91	0,69	15,71	<0,0001
	b_1	-0,02	0,01	-3,15	0,0019

b_0 : intercepto y b_1 : coeficiente de regresión

RESULTADOS

En la Tabla 4.10 se presentan los resultados del Análisis de Regresión Lineal, para las variables FAO, FAL y FAL RES en el grupo tratamiento.

Se observa que, para las tres variables el coeficiente b0 resulta significativo, lo que indica que los puntos en que las rectas cortan el eje Y no se corresponden con el origen del sistema de coordenadas (puntos diferentes de cero). En relación con las pendientes de las rectas (coeficientes b1), las de FAO y FAL son negativas lo que indica una disminución de los valores en función del momento, no obstante, en el caso de FAL dicho coeficiente presenta un p-valor igual a 0,5028, por lo que la disminución de los valores no resulta significativa. En el caso de la variable FAO, el Coeficiente de Regresión (b1) presenta un p-valor igual a 0,0019 lo que indica que la disminución significativa de los valores de esta variable en función del tiempo. En el caso de la variable FAL RES en coeficiente b1 igual a 0,82, con un p-valor de 0,4219 indica que la variación de sus valores en el tiempo no es significativa.

Tabla 4.10. Resultados del Análisis de Regresión Lineal entre las variables FAO, FAL, FAL RES y los momentos de extracción de saliva, en el grupo tratamiento

Variable	Coef	Est.	E.E.	T	p-valor
FAL	b0	39,69	1,67	23,7	<0,0001
	b1	-0,01	0,01	-0,67	0,5028
FAO	b0	10,91	0,69	15,71	<0,0001
	b1	-0,02	0,01	-3,15	0,0019
FAL RES	b0	27,96	2,21	12,67	<0,0001
	b1	0,82	1,02	0,81	0,4219

bo: intercepto y b1: coeficiente de regresión

4.2.8. Pruebas de t para muestras pareadas en los momentos 1 vs 2, 2 vs 3 y 1 vs 3

En la Tabla 4.11 solamente se observa una disminución significativa en el tiempo para la variable FAO y entre los momentos 1 y 2 y 1 y 3, las restantes pruebas no arrojaron significancia en las diferencias entre medias.

Tabla 4.11. Prueba T para muestras pareadas de las variables FAO y FAL en los momentos 1 vs 2, 1 vs 3 y 2 vs 3, con los respectivos valores de diferencia de promedios, desviación estándar de las diferencias, estadístico T y su correspondiente p-valor

Obs (1)	Obs (2)	Media (dif)	DE (dif)	T	Bilateral
FAL1	FAL2	1,06	21,83	0,38	0,7024
FAL1	FAL3	1,74	18,69	0,73	0,4659
FAL2	FAL3	0,68	15,64	0,34	0,7342
FAO1	FAO2	2,87	8,57	2,64	0,0105 (*)
FAO1	FAO3	3,39	8,74	3,05	0,0034 (*)
FAO2	FAO3	0,52	6,96	0,58	0,5616

Valores seguidos de (*) indican diferencias significativas

4.2.9. Pruebas de t para dos muestras independientes

Esta prueba se utilizó para comparar los promedios de niveles de FAO y FAL en el grupo tratamiento, en los tres momentos de extracción de saliva, respecto del grupo control.

En la Tabla 4.12 al analizar los valores del estadístico t y sus p-valores encontramos que solamente la variable FAO en el primer momento de extracción de saliva no se diferencia del testigo. La variable FAO en los momentos 2 y 3 y la variable FAL en los tres momentos presentan valores diferentes al testigo.

Tabla 4.12. Prueba T para muestras independientes de las variables FAO y FAL entre los grupos control y tratamiento, en los tres momentos de extracción de saliva, con los respectivos valores de promedios, estadístico T y su correspondiente p-valor

Momento	Variable	Grupo		Media		T	p-valor
		1	2	(1)	Media (2)		
1	FAL	C	T	30,24	39,76	-3,89	0,0002 (*)
1	FAO	C	T	11,59	11,31	0,22	0,8276
2	FAL	C	T	30,24	38,69	-3,80	0,0003 (*)
2	FAO	C	T	11,59	8,44	2,90	0,0044 (*)
3	FAL	C	T	30,24	38,02	-4,71	<0,0001 (*)
3	FAO	C	T	11,59	7,92	3,60	0,0005 (*)

T: tratamiento, C: control. Valores seguidos de (*) resultan estadísticamente significativos

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El movimiento dental mediante ortodoncia ocasiona un proceso inflamatorio caracterizado por muerte celular, osteoclastogénesis y osteogénesis. Estudios previos demostraron la presencia de varias enzimas en el líquido crevicular gingival y en la saliva ^(56,57). La fosfatasa alcalina es una de esas enzimas y una variación en su nivel representa la actividad biológica en el periodonto durante el tratamiento de ortodoncia. La fosfatasa alcalina pasaría de los tejidos periodontales como un exudado inflamatorio al líquido crevicular gingival y luego a la saliva completa y su aumento puede proporcionar evidencia de muerte celular ⁽³²⁾ dentro de los tejidos periodontales como resultado de inflamación ⁽⁵⁸⁾ o movimiento ortodóntico ^(26,59).

La fase de contención es esencial para estabilizar y mantener los dientes en sus posiciones de corrección ortodóntica luego del cese del movimiento activo ortodóntico ⁽⁶⁰⁾. Durante esta fase los tejidos de soporte experimentan cambios para fijar a los dientes en su nueva posición ⁽³⁾. Se han realizado pocos estudios vinculando a la fosfatasa alcalina con la fase de contención. El trabajo de Sánchez Solari ⁽²²⁾, donde midió los niveles de FAL en líquido crevicular y el trabajo de Awang-Kechik et al. ⁽⁴⁷⁾ determinaron a través de cromatografía líquida y espectrofotometría de masas (LC-MS) la concentración de proteínas salivales postratamiento ortodóntico, realizando determinaciones de FA.

En el presente estudio, se realizó una evaluación de fosfatasa alcalina total y ósea en saliva no estimulada en sujetos sanos no tratados ortodónticamente y sujetos tratados en fase de contención. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que evalúa los niveles de FAL y FAO en saliva de pacientes con ortodoncia en su fase de contención.

Nuestros resultados mostraron una disminución de los niveles de FA durante la fase de contención. Esto está de acuerdo con otros estudios que mostraron una correlación positiva entre FA y movimiento ortodóntico, comparados con pacientes con salud periodontal ^(26,43).

Shetty et al. ⁽²⁴⁾ mencionan que los valores de fosfatasa alcalina determinados en individuos sanos sin tratamiento de ortodoncia se encuentran entre 20 y 140 UI/L. Los valores basales de FAL descritos por Ammer y Alhuwaizi

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

⁽⁶¹⁾, fueron menores, determinaron en 30 individuos una media de 15,15 UI/L \pm 2,34. Nuestros resultados mostraron en el grupo control, para FAL, una media de 30,24 \pm 9,08 UI/L.

Dabra y Singh ⁽⁴⁰⁾ en su trabajo donde evaluaron individuos sanos y con enfermedad gingival y periodontal, determinaron valores de FAL en saliva estimulada en el grupo sano de 24.85 \pm 12,14 UI/L. Esta media es aproximada a la detectada en nuestro grupo control. Y la diferencia podría deberse a que en nuestro trabajo las determinaciones se realizaron en saliva no estimulada. Esta diferencia de niveles de Fosfatasa alcalina también fue observada por Perinetti et al. ⁽⁶²⁾ al comparar los valores obtenidos en los mismos pacientes en muestras de líquido crevicular en reposo y estimulado, hallaron niveles menores en el líquido crevicular estimulado.

Motamayel et al. ⁽⁴¹⁾, analizaron concentraciones de FAL en saliva de 251 hombres sanos no fumadores y en 259 hombres fumadores. Determinaron un promedio de 55,11 \pm 27,85 UI/L en el grupo no fumador. Si analizamos los valores obtenidos en los hombres de nuestro grupo control, observamos valores menores, con una media de 31,69 \pm 7,53 UI/L con un menor desvío estándar.

En el grupo tratamiento, observamos para FAL que las medias de los diferentes grupos momentos 1, 2 y 3 fueron; 39,76 UI/L \pm 16,37, 38,69 UI/L \pm 14,98 y 38,02 UI/L \pm 9,49 respectivamente. Los valores de FAL descritos por Ammer y Alhuwaizi ⁽⁶¹⁾, en individuos en tratamiento de ortodoncia con aplicación de una fuerza de 80 grs. determinaron una media de 39,24 \pm 1,73. Valor similar al del grupo tratamiento momento 1 (inmediatamente pos- desarme). La diferencia determinada en el desvío estándar en nuestro grupo estudio puede deberse a que en el trabajo de Ammer y Alhuwaisi ⁽⁶¹⁾, se estudió un grupo con un n menor y controlado en intensidad de fuerza aplicada y tiempo de aplicación. Por lo cual representa una muestra con dichas variables controladas, a diferencia del grupo momento 1.

Sánchez Solari ⁽²²⁾, observó una disminución de los niveles de fosfatasa alcalina durante el periodo de contención. En su trabajo realizó determinaciones en líquido crevicular, en tres momentos postratamiento de ortodoncia: al inicio de la contención, a los tres meses y a los seis meses, cuyos valores promedios fueron 6,25 UI/L, 4,74 UI/L y 4,16 UI/L respectivamente. Los valores obtenidos fueron

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

menores a los nuestros pero la variación en el tiempo fue similar demostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre ellos, así como también fueron mayores que los obtenidos en el grupo control. En nuestro trabajo, para FAO existe una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el descenso en las medias de los diferentes grupos tratamiento momentos 1, 2 y 3 que fueron; 11,31 UI/L $\pm 7,56$, 8,44 UI/L $\pm 5,19$ y 7,92 UI/L $\pm 4,31$ respectivamente, observando así, una disminución significativa de los niveles de FAO en el tiempo de contención.

Perinetti et al. ⁽⁶³⁾, analizaron en individuos en crecimiento, los niveles de fosfatasa alcalina en líquido crevicular en correlación con los diferentes estadios de maduración esquelética. Establecieron que los valores aumentan con el pico de maduración esquelética, detectado radiográficamente de acuerdo con el índice de maduración de vértebras cervicales (CVMI index) ⁽⁶⁴⁾ y disminuyendo significativamente pasados los dos años del pico puberal (entre los 15 y 17 años - fase CS6). No encontrando diferencias significativas entre ambos sexos en ninguno de los estadios de maduración. En nuestro trabajo tampoco hallamos asociación entre el género y los valores de FAO y FAL en los diferentes momentos de extracción de saliva en el grupo tratamiento y en el grupo control.

La situación particular del individuo identificado como caso N° 20 del grupo tratamiento, correspondiente a un paciente masculino de 17 años, puede deberse a un pico de desarrollo tardío, ya que los valores de FAL1 y FAO1 (98 UI/L y 58 UI/L respectivamente) determinados fueron muy elevados con respecto a la media. Según CVMI index ⁽⁶⁵⁾, se encuentra en CS5: estadio denominado de maduración ⁽⁶⁶⁾, con un potencial de crecimiento del 10%. Como es descrito en el trabajo de Alhazmi et al. ⁽⁴²⁾, donde correlaciona la edad cronológica, con los niveles de FAL salival y los estadios de maduración de vértebras cervicales. Explicando que esta situación puede darse en jóvenes de género masculino por presentar un potencial de crecimiento mayor y más prolongado con respecto al género femenino ⁽⁴²⁾.

Los valores de FAL en edad adulta en individuos sanos es significativamente menor con respecto a los valores detectados en edades prepuberales y puberales como es mencionado a lo largo del tiempo en múltiples trabajos ^(42,63,66,67,68) estableciendo una disminución significativa de los mismos en las etapas pospuberales. En el presente trabajo se han incluido individuos jóvenes mayores a 15 años hasta los 21 años (grupo 1) y adultos de 22 hasta 45 años (grupo 2). No

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

hemos observado diferencias significativas en los valores de FAL y FAO en ambos grupos tanto en el grupo control como en el grupo tratamiento.

Si bien los valores de fosfatasa alcalina total del grupo tratamiento, experimentaron una disminución estadísticamente no significativa, la fracción ósea correspondiente a FAO, que representa justamente los cambios a nivel óseo de remodelado ⁽⁴³⁾ y mineralización ⁽³⁴⁾, sí experimentó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los momentos 1 y 2 y entre 1 y 3, expresando un descenso en su concentración durante el período de contención.

Del análisis del comportamiento de las diferentes fracciones incluyendo la fracción termoestable (FAL RES) observamos que el descenso marcado observado en FAO sería el principal causante del descenso de FAL.

Otro punto por considerar es que no se observan disminuciones estadísticamente significativas en los niveles de FAO, entre los momentos 2 (3 meses postratamiento) y 3 (6 meses postratamiento) demostrando una estabilización en sus valores, de lo que podemos inferir una disminución del remodelado óseo postratamiento.

En contraposición a nuestros resultados, en el trabajo realizado por Perinetti et al. ⁽⁶⁹⁾ que analizaron los niveles de FAL en líquido crevicular de 23 individuos en estadios prepuberales, a quienes se les practicó una disyunción rápida de maxilar (RME) con seguimiento a 6 meses desde el inicio de la disyunción; determinaron valores crecientes de FAL en dicho periodo, midiéndolos a los dos meses y a los cinco meses de finalizada la disyunción. Es importante aclarar que el estudio mencionado se realizó en una etapa de contención de la disyunción, pero dentro de la etapa correctiva, los individuos continuaban en tratamiento activo. A diferencia del nuestro que analizó muestras de individuos que finalizaron todo tipo de movimiento dental ortodóntico.

En el análisis individual del comportamiento de los niveles de FAL se observa una tendencia a la disminución de éstos a lo largo del periodo de contención (en grupo tratamiento en los tres momentos de toma). Comparativamente en el grupo total de muestras, esta disminución no es estadísticamente significativa con un desvío estándar amplio. Esa diferencia interindividual puede deberse al trabajo activo de la fosfatasa alcalina por diferentes efectos orgánicos al momento de la

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

toma de muestra, no contemplados en la anamnesis. Por ello podemos inferir una tendencia a su disminución en el periodo de contención.

Es importante mencionar que al momento de elaboración del presente trabajo no se han realizado trabajos donde especifiquen la determinación de fosfatasa alcalina ósea salival en fase de contención ortodóntica. La mayoría de las investigaciones han sido realizadas en fosfatasa alcalina total y en fases correctivas del tratamiento.

Es de conocimiento de que, una vez detenido el movimiento dental, el remodelado óseo requiere tres meses aproximadamente para generar un tipo de hueso más resistente. Es lógico pensar que la contención debería usarse inicialmente por 24 horas durante ese periodo para evitar que cualquier fuerza externa o interna (retracción elástica de los tejidos periodontales) modifiquen la posición alcanzada con el tratamiento. De acuerdo con lo discutido y analizado en el presente estudio, se puede sugerir que durante este periodo de contención inmediata se lleve un control de los niveles de FAO, para monitorear la actividad osteoblástica vinculada con el remodelado óseo en pacientes con buena salud periodontal.

De la presente investigación surgen nuevos planteamientos para futuros trabajos prospectivos, donde se puedan controlar las variables tiempo y aplicación e intensidad de fuerza durante la fase correctiva. Así como también la medición de FAL/FAO en diferentes momentos del tratamiento de ortodoncia, o tipos de tratamiento.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

La hipótesis que se planteó en esta tesis, que establece que la concentración de fosfatasa alcalina salival disminuirá durante el periodo de contención, se ha podido comprobar parcialmente. Tanto las técnicas gráficas como analíticas (Gráficos de Caja, Estadísticas Descriptivas, Gráficos de Línea, Análisis de Regresión Lineal y Pruebas de T para muestras pareadas) permitieron confirmar que los niveles de FAO y FAL, en el grupo tratamiento presentan muy alta variabilidad, la que disminuye con el tiempo en el período de contención, en tanto que, en los valores promedios, si bien se puede observar algún descenso, en el caso de FAL dicho descenso no resulta significativo y en el caso de FAO se observa un descenso significativo entre el momento 1 y el 2 y entre el 1 y el 3. El descenso marcado observado en FAO sería el principal causante del descenso de FAL.

Se han podido determinar y caracterizar los niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de contención ortodóntica en pacientes tratados con aparatología convencional, en tres momentos post extracción de los aparatos ortodónticos (cero, 90 y 180 días), también en pacientes del grupo control y se ha podido establecer (Pruebas de T para muestras independientes entre grupo tratamiento y control) que existen diferencias significativas entre las medias del grupo control y el grupo tratamiento en todos los momentos, salvo en el primero momento para la variable FAO, que no resultó significativo.

Los niveles de fosfatasa alcalina salival (FAO y FAL), no se encuentran asociados con la edad ni con el género (Coeficientes de Correlación de Pearson y Pruebas de Independencia mediante el estadístico Chi-Cuadrado).

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que la fosfatasa alcalina ósea salival presenta una tendencia a disminuir en el periodo de contención, estabilizando sus niveles entre los 3 y 6 meses posteriores al retiro de la aparatología ortodóntica y que podría considerarse como un potencial biomarcador para el seguimiento postratamiento del remodelado óseo. A pesar de la gran variabilidad que presenta; situación que también se da en la literatura internacional, se ha encontrado significancia.

RESUMEN

7.RESUMEN

Niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de contención ortodóntica

Como resultado de la aplicación de fuerzas ortodónticas, la fosfatasa alcalina producida en el periodonto difunde al líquido crevicular gingival. Su presencia en saliva y comprobada participación en la remodelación ósea, permiten relacionar sus niveles con la osificación postratamiento.

El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de contención ortodóntica en pacientes tratados con aparatología convencional.

Los niveles de fosfatasa alcalina total (FAL) y ósea (FAO) en saliva, se registraron en 35 pacientes que no realizaron ningún tipo de tratamiento ortodóntico (grupo control) y en 31 pacientes (tratados con aparatología convencional) postratamiento ortodóntico (grupo tratamiento), en tres momentos; inmediatamente posterior al desarme (G1), a los tres (G2) y a los seis meses (G3).

La actividad de la FA se midió utilizando el kit ALP 405 AA (Wiener lab, Argentina) y autoanalizador semiautomático Wiener Lab Group. CM 250, las determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones Científicas de la Facultad de Odontología de la UNNE. Los valores fueron expresados en UI/L (en media \pm desvío estándar).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes; en el grupo control, para FAL, una media de $30,24 \pm 9,06$ y para FAO de $11,59 \pm 7,06$ y en el grupo tratamiento para FAL: G1= $39,76 \pm 16,37$, G2= $38,69 \pm 14,98$ y G3= $38,02 \pm 9,49$; FAO: G1= $11,31 \pm 7,56$, G2= $8,44 \pm 5,19$ y G3= $7,92 \pm 4,31$.

En el grupo tratamiento, se observaron diferencias significativas en los valores de FAL y FAO en todos los grupos ($p < 0.05$) salvo en el primer momento para la variable FAO y si bien se puede observar algún descenso de los valores en el tiempo, en el caso de FAL dicho descenso no resulta significativo y en el caso de

RESUMEN

FAO se observa un descenso significativo, entre el momento 1 y el 2 y entre el 1 y el 3.

La disminución de FAL se produce a expensas del descenso de FAO.

Los niveles de FAO disminuyen significativamente (p 0.0019) en periodo de contención, señalando que existe una relación entre el remodelado óseo postratamiento y los niveles de FAO salival. Nuestro estudio sugiere que el monitoreo de la actividad de la FAO podría ser un marcador biológico del remodelado óseo postratamiento de ortodoncia.

Palabras claves: fosfatasa alcalina salival – fosfatasa alcalina ósea – contención ortodóntica – FAL - FAO

ABSTRACT

8. ABSTRACT

Salivary alkaline phosphatase levels in orthodontic retention phase

As a result of the application of orthodontic forces, the alkaline phosphatase produced in the periodontium diffuses to the gingival crevicular fluid. Its presence in saliva and proven participation in bone remodeling process, allow relating its levels to post-treatment ossification.

The aim of this study was to determine salivary alkaline phosphatase levels in the orthodontic retention phase in patients treated with conventional orthodontic appliances.

Total alkaline phosphatase (ALP) and bone alkaline phosphatase (B-ALP) salivary levels were determined in 35 patients who did not perform any type of orthodontic treatment (control group) and in 31 patients (treated with conventional braces) orthodontic post-treatment (treatment group), in three moments; immediately (G1), three (G2) and six months (G3) after appliance removal.

AL activity was measured by ALP 405 AA kit (Wiener lab, Argentina) and semi-automatic clinical chemistry analyzer Wiener Lab Group. CM 250, the determinations were done in the Laboratory of Scientific Research of the Faculty of Dentistry, UNNE. Values were expressed in UI/L (mean \pm standard deviation).

The results obtained were: in the control group, for ALP, an average of 30,24 \pm 9,06 and for B-ALP of 11,59 \pm 7,06 and in the treatment group for ALP: G1 = 39,76 \pm 16,37, G2 = 38,69 \pm 14,98 and G3 = 38,02 \pm 9,49; and B-ALP: G1 = 11,31 \pm 7,56, G2 = 8,44 \pm 5,19 and G3 = 7,92 \pm 4,31.

In the treatment group, significant differences were observed in the ALP and B-ALP values in all groups ($p < 0.05$) except in the first moment for the B-ALP variable, although some reduction in the values over time can be observed. In ALP case, this decrease is not significant and in B-ALP case there is a significant drop between the 1 and 2 moment and between 1 and 3.

ABSTRACT

FAL decrease occurs at the expense of FAO decline.

B-ALP levels decrease significantly (p 0.0019) in retention phase, indicating that there is a relationship between post-treatment bone remodeling and salivary B-ALP levels. Our study suggests that the monitoring of the B-ALP activity could be a biomarker of post-treatment orthodontic bone remodeling.

Keywords: salivary alkaline phosphatase - bone alkaline phosphatase - retention - ALP - B-ALP

BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Ten Cate AR. Histología oral. Desarrollo estructural y función. 2º edición Argentina: Ed. Panamericana; 1986.
2. Bolamperti L, Montanari P, Levrini L, et al. Tissues response during self-ligation treatment. Progress in orthodontics. 2012; 13:109-116. doi:10.1016/j.pio.2011.11.001
3. Roberts WE. Fisiología, metabolismo y biomecánica del hueso en la práctica ortodóntica. En: Graber LW, Vanarsdall RL, L. Vig KW. Ortodoncia – Principios y técnicas actuales. 5º edición. España: Editorial Elseiver; 2013. p. 287 – 343.
4. Sandoval Vanegas A, Mendez Moreno LM, Herrera Ruiz ME, Pardo Silva MA. Evaluación indirecta de la fuerza friccional en brackets de autoligado y convencionales. Estudio in vitro. Rev colomb investig odontol – 2013; 14 (12), 152 – 170. doi:10.25063/21457735.144
5. Joondeph DR. Estabilidad, retención y recidiva. En: Graber LW, Vanarsdall RL, L. Vig KW. Ortodoncia – Principios y técnicas actuales. 5º edición. España: Editorial Elseiver; 2013. p. 991 -1019.
6. Canut Brusola JA. Ortodoncia clínica y terapéutica. 2º edición. Barcelona – España: Editorial Masson; 2001.
7. Mayoral J, Mayoral G, Mayoral P. Ortodoncia, Principios fundamentales y práctica. 4º edición. Cuba: Editorial Científico-técnica; 1986.
8. Seibel MJ. Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. Osteoporos Int. 2000; 11(Suppl.6):S18-29. doi: 10.1007/s001980070003
9. Malathi N, Mythili S, Vasanthi HR. Salivary Diagnostics: a brief review. Hindawi Publishing Corporation. ISRN Dent. 2014; 29(2014):158786. doi: 10.1155/2014/158786

10. Prakash AR, Indupuru K, Sreenath G, Rajini Kanth M, et al. Salivary alkaline phosphatase levels speak about association of smoking, diabetes and potentially malignant diseases? *J Oral Maxillofac Pathol.* 2016; 20(1): 66-70. doi: 10.4103/0973-029X.180934
11. Chavez - Tapia NC, Arroyo SO, Uribe M. *Apuntes de Gastroenterología.* 1º edición. México: 2015. E:book. ISBN: 978-0-692-42803-0
12. Franco L, Ortiz M. Marcadores Bioquímicos del metabolismo óseo. *Rev. Estomat.* 2010; 18(1):30-34. Disponible en: <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/2392/1/Marcadores%20bioquimicos%20del%20metabolismo%20oseo.pdf>
13. Flores Moreno GA, Marin Restrepo LM, Isaza Guzman DM, Tobon Arroyave SI. Screening for salivary levels of deoxypyridinoline and bone specific alkaline phosphatase during orthodontic tooth movement: a pilot study. *Eur J Orthod.* 2013 35(3):361-8. doi: 10.1093/ejo/cjr138
14. Asma Alhusna Abang Abdullah, Rohaya Megat Abdul Wahab, Shahrul Hissham Bin Zainal Ariffin. Pattern of crevicular alkaline phosphatase during orthodontic tooth movement: leveling and alignment stage. *Sains Malaysiana* 2011; 40(10) 1147-1151. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/277892083>
15. Ceccotti EL, Sforza R, Carzoglio Forteza JC, Luberti R, Flichman JC. *El diagnóstico en clínica estomatológica.* 1º edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2007.
16. Puñeet Batra, Kharbanda OP, Duggal R, et al. Acid phosphatase activity in gingival crevicular fluid – a non-invasive adjunct in assessing orthodontic tooth movement? *J Ind Orthod Soc* 2002; 35:63-72. doi: 10.1177/0974909820020203
17. Alfageeh SA, Anil S. Gingival crevicular fluid flow rate and alkaline phosphatase level as potential marker of active tooth movement. *Oral Health Dent Manag* 2014; 13(2):458-63. PMID: 24984665 Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Gingival-crevicular-fluid-flow->

rate-and-alkaline-as-Alfaqeeh-
Anil/15a699be2a115ffbaca17109f6fb023e7e86929

18. Megat Abdul Wahab R, Md Dasor M, Senafi S, et al. Crevicular Alkaline Phosphatase activity and rate of tooth movement of female orthodontic subjects under different continuous force applications. *Int J Dent.* 2013; 2013:245818. doi: 10.1155/2013/245818 (Volume 2013, Article ID 245818, 7 pages) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3659437/pdf/IJD2013-245818.pdf>
19. Abdul Wahab RM, Abu Kasim N, Senafi S, et al. Enzyme activity profiles and ELISA analysis of biomarkers from human saliva and gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement using self-ligating brackets. *Oral Health Dent Manag.* 2014; 13(2): 194-9. PMID: 24984622
20. Proffit WR, Fields HW, Sarver DM. *Ortodoncia contemporanea.* 4º ed. España: Editorial Elsevier; 2008.
21. Koss MA, Castro E, Martinez Guarnieri S, Lopez ME. Comparison between two methods used in the determination of salivary alkaline phosphatase in periodontal disease patients. *EC Dental Science.* 2018; 17(6): 820-826.
22. Sanchez Solari, AV. Diferencia de los niveles de fosfatasa alcalina en fluido crevicular en pacientes en fase de contención ortodóntica. (Tesis de pregrado) Universidad Nacional Federico Villarreal - Facultad de Odontología. 2010. Disponible en: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/ANALIAVANESSASANCHEZSOLARI.pdf>
23. Muños Torres M, Mezquita Raya P, Lopez Rodriguez F. Utilidad de los marcadores de remodelado óseo. *Endocrinol Nutr.* 2000; 47(9):267-276. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-articulo-utilidad-marcadores-remodelado-oseo-12587>
24. Shetty S, Al-Bayati S, Said M, Hossman E. Salivary alkaline phosphatase and oral health: A review. *DM Ital J Dent Med.* 2017; 2(2):55-58. Disponible en: <http://www.dentalmedjournal.it/salivary-alkaline-phosphatase-oral-health-review/>

25. Zaragoza Meneses MTJ, Velasco Molina JA. La saliva, auxiliar de diagnóstico. Primera edición. México: UNAM FES Zaragoza; 2018.
26. Zainal Ariffin SH, Yamamoto Z, Zainol Abidin IZ, Megat Abdul Wahab R, Zainal Ariffin Z. Cellular and molecular changes in orthodontic tooth movement. *TheScientificWorldJournal*. 2011; 11:1788-803. doi: 10.1100/2011/761768
27. Yazid MD, Zainal Ariffin SH, Senafi S, Razak MA, Megat Abdul Wahab R, Determination of the differentiation capacities of murines' primary mononucleated cells and MC3T3-E1 cells. *Cancer Cell Int*. 2010; 10:42. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-10-42>
28. Zainal Ariffin SH, Zainol Abidin IZ, Yazid MD, Megat Abdul Wahab R, Differentiation analyses of adult suspension mononucleated peripheral blood cells of *Mus musculus*. *Cell Commun and Signal*. 2010; 8:29. doi: 10.1186/1478-811X-8-29
29. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover. Part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev*. 2005; 26 (4): 97-122. PMID: 16648882. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1320175/>
30. AISwafeeri H, EIKkenany W, Mowafy M, Helmy M. Crevicular alkaline phosphatase activity during the application of two patters of orthodontic forces. *Journal of Orthodontics*. 2015; 42(1):5-13. doi: 10.1179/1465313314Y.0000000121.
31. Barambaum SR, Azcurra AI. La saliva: una potencial herramienta en la Odontología. *Rev Fac Odont*. 2019; 2:8-21. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto/article/download/25250/24496/>.
32. Murad Pattel R, Varma S, Zope S, et al. Estimation and comparison of salivary calcium, phosphorous, alkaline phosphatase and pH levels in periodontal health and disease: a cross-sectional biochemical study. *J Clin Diagn Res*. 2016; (7): 58-61. doi: 10.7860/JCDR/2016/20973.8182.

33. Rodríguez Reyes O, Fajardo Puig ME, Hernández Cunill MM. Cambios morfofuncionales en el periodoncio asociados al movimiento dentario por tratamiento ortodóntico. *Medisan*. [Internet] 2018 Ago; [citado 2 Mar 2020] 22(7):638. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192018000700638&lng=es&nrm=iso
34. d'Apuzzo F, Nucci L, Jamilian A, Perillo L. Biomarkers of periodontal tissue remodeling during orthodontic tooth movement in mice and men: overview and clinical relevance. *ScientificWorldJournal*. 2013; 23(2013):105873. doi: 10.1155/2013/105873
35. Harfin JF de. Tratamiento ortodóntico en el adulto. 2º ed. Buenos Aires – Argentina: Ed. Médica Panamericana; 2006.
36. Tecco S, Festa F, Caputi S, Traini T, Di Iorio D, D'Attilio M. Friction of Conventional and Self-Ligating Brackets Using a 10 Bracket Model. *Angle Orthod*. 2005; 75(6):1041-1045. doi: 10.1043/0003-3219(2005)75[1041:FOCASB]2.0.CO;2
37. Costa Araujo R, Monteiro Bichara L, Monteiro de Araujo A, Normando D. Debris and friction of self-ligating and conventional orthodontic brackets after clinical use. *Angle Orthod*. 2015; 85(4):673-677. doi: 10.2319/012914-80.1
38. Abdul Wahab RM, Yamamoto Z, Sintian A, Abu Kasim N, et al. The effects of Orthodontic forces during canine retraction using self-ligating brackets on gingival crevicular fluid enzyme activity, canine movement and root resorption. *Sains Malaysiana*. 2015; 44(2):249-256. Disponible en: http://www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-44-02-2015/12%20Rohaya%20Megat%20Abdul%20Wahab.pdf
39. Kalia S, Melsen B, Verna C. Tissue reaction to orthodontic tooth movement in acute and chronic corticosteroid treatment. *Orthod Craniofac Res*. 2004; 7(1): 26-34. doi: 10.1111/j.1601-6343.2004.00278.x

40. Dabra S, Singh P. Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: a case series. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012; 9(1): 41-45. doi:10.4103/1735-3327.92942.
41. Motamayel FA, Falsafi P, Goodarzi MT, Poorolajal J. Comparison of salivary pH, buffering capacity and alkaline phosphatase in smokers and healthy non-smokers. Retrospective cohort study. *Sultan Qaboos Univer Med J*. 2016; 16(3):317-321. doi: 10.18295/squmj.2016.16.03.009.
42. Alhazmi N, Trotman A, Finkelman M, Hawley D, Zoukhri D, Papathanasiou E. Salivary alkaline phosphatase activity and chronological age as indicators for skeletal maturity. *Angle Orthod*. 2019; 89(4):637-642. doi: 10.2319/030918-197.1.
43. Perinetti G, Paolantonio M, D'Attilio M, D'Archivio D, Tripodi D, et al. Alkaline phosphatase activity in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2002; 122(5):548-56. doi:10.167/mod.2002.126154
44. Singh G, Batra P. The orthodontic periodontal interface: A narrative review. *J Int Clin Dent Res Organ*. 2014; 6(2):77-85. doi: 10.4103/2231-0754.143481 Disponible en: <http://jicdro.org/text.asp?2014/6/2/77/143481>.
45. Littlewood SJ, Millett DT, Doubleday B, Bearn DR, Worthington HV. Retention procedures for stabilising tooth position after treatment with orthodontic braces. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2016; 1:CD002283. doi:10.1002/14651858.CD002283.pub4.
46. Gómez, M, Herrera Luz E, Suárez A, Sánchez G. Efectividad de la retención post ortodoncia en pacientes de 12-35 años relacionada con 2 tipos de retención fija. Revisión sistemática de la literatura. *Odontoestomatología*. 2017; 19(29):18-32. doi: 10.22592/ode2017n29p18

47. Awang-Kechik NH, Ahmad R, Doustjalali SR, Sabet NS, Abd-Rahman ANA. Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) analysis in determining the saliva protein of orthodontic patients during retention phase. *J Clin Exp Dent*. 2019; 11(3):e269-74. doi:10.4317/jced.55546 Disponible en: <http://www.medicinaoral.com/odo/volumenes/v11i3/jcedv11i3p269.pdf>
48. Lima VS de A; Carvalho FA Ribeiro; Almeida RCC, Capelli jr. J. Different strategies used in the retention phase of orthodontic treatment. *Dental Press J Orthod*. [internet] 2012; [citado 2 Mar 2020] 17(4):115-121. <https://doi.org/10.1590/S2176-94512012000400022>
- Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-94512012000400022&lng=en&nrm=iso.
49. Farahani M, Safavi SM, Dianat O, Khoramian Tusi S, Younessian F. Acid and alkaline phosphatase levels in GF during orthodontic tooth movement. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2015; 16(3 Suppl): 237-245. PMID: 26535403 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4623837/>
50. Llana-Puy C. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. [internet] 2006; [citado 24 Feb 2020] 11(5):E449-55. PMID: 16878065 Disponible en: http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv11_i5_p449.pdf
51. Magnusson P, Larsson L, Magnusson M, Davie MWD, Sharp C. Isoforms of bone alkaline phosphatase: characterization and origin in human trabecular and cortical bone. *J Bone Miner Res*. 1999; 14(11):1926-1933. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.11.1926>
52. Di Rienzo JA, Casanoves F, Gonzalez LA, Tablada EM, Díaz MD, Robledo, C. W. *Estadística para las Ciencias Agropecuarias*. Córdoba, Argentina: Editorial Brujas; 2007.
53. Steel RGD, Torrie JH. *Bioestadística, Principios y Procedimientos*. México: Mc Graw Hill; 1992.

54. Cuadras CM. Métodos de Análisis Multivariante. España: CMC Editions; 2010.
55. Peña D. Análisis de Datos Multivariantes. Madrid, España: Mc Graw Hills/ Interamericana de España; 2002.
56. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, Palo EFD. Saliva specimen a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. Clin Chim Acta. 2007; 383(1-2):30-40. doi: 10.1016/j.cca.2007.04.011
57. Kumar G, Rawat G, Amrita, Kumar V, Saimbi CS. Evaluation of enzyme activity and rate of tooth movement in corticotomy-accelerated tooth movement - A randomized clinical trial. J Orthod Sci. 2019; 8; 8:13. doi: 10.4103/jos.JOS_76_18.
58. Acuña MJ, Celia A, Cuzziol RF, Juárez RP. Correlación entre los niveles de fosfatasa alcalina salival y la profundidad de la bolsa periodontal. Rev. nac. odontol. [Internet]. 2016 [citado 4 Mar 2020]; 12(22):17-2. Disponible en: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/od/article/view/1202>. doi: <https://doi.org/10.16925/od.v12i22.1202>
59. Perinetti G, Paolantonio M, Serra E, D'Archivio D, D'Ercole S, Festa F, et al. Longitudinal monitoring of subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and crevicular alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activities around orthodontically treated teeth. J Clin Periodontol. 2004; 31(1):60-7. doi: 10.1111/j.0303-6979.2004.00450.x
60. Ab Rahman N, Fui Low T, Shaheera Idris N. A survey on retention practice among orthodontist in Malaysia. Koreaen Journal of Orthodontics. 2016; 46 (1):36-41. doi: 10.4041/kjod.2016.46.1.36
61. Ammer SAA, Alhuwaizi AF, The effect of orthodontic force on salivary levels of alkaline phosphatase enzyme. J Bagh oll Dent. [internet] 2015: [citado 2 Mar 2020] 27(4):175-179. Disponible en: <http://jbc.d.uobaghdad.edu.iq/index.php/jbcd/article/view/970>
62. Perinetti G, Di Leonardo B, Di Lenarda R, Contardo L. Repeatability of gingival fluid collection and quantification, as determined through its

alkaline phosphatase activity: implications for diagnostic use. *J Periodont Res.* 2013; 48(1):98-104. doi: 10.1111/J.1600-0765.2012.01508.x.

63. Perinatti G, Baccetti T, Contardo L, Di Lenarda R. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase activity as a non-invasive biomarker of skeletal maturation. *Orthod Craniofac Res.* 2011; 14(1):44-50. doi: 10.1111/j.1601-6343.2010.01506.x.
64. Bedoya Rodriguez A, Osorio Patiño JC, Tamayo Cardona JA. Edad cronológica ósea cervical en niños y adolescentes. *Rev Cubana Estomatol.* [internet] 2016; [citado 20 Nov 2019] 53(1):28-34. Disponible en: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/668>
65. Ortiz M, Godoy S, Fuenmayor D, Farias M, Quiros O, Rondon S. Método de maduración ósea de las vértebras cervicales, en pacientes del Diplomado de Ortodoncia Interceptiva, UGAMA – 2006. *Rev Latinoamericana de ortodoncia y odontopediatria.* [internet] 2007. [citado 7 de Mar 2019] Disponible en: <https://www.ortodoncia.ws/publicaciones/2007/art-4/>
66. Molla A, Lalani R, Khurshid M, Alam A, Manser W. Serum Alkaline Phosphatase in apparently healthy Karachi population. *J Pak Med Assoc.* 1990; 40(8):182-184. PMID: 2126299 Disponible en: https://jpma.org.pk/article-details/5467?article_id=5467
67. Saraç F, Saygili F. Cause of high bone alkaline phosphatase. *Biotechnol And biotechnol Eq.* 2007; 21(2):194-197. doi: 10.1080/13102818.2007.10817444
68. Eastman JR, Bixler D. Serum Alkaline Phosphatase: Normal Values by sex and age. *Clin Chem.* 1977; 23(9):1769-70. PMID: 890920
69. Perinetti G, D´Apuzzo FD, Contardo L, Primozic J, Perillo L. Gingival crevicular fluid alkaline phosphate activity during the retention phase of maxillary expansion in prepubertal subjects: A split-mouth longitudinal study. *AJO-DO.* 2015; 148(1): 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2015.02.025>

ANEXOS

10. ANEXOS

Anexo I: Modelo de Consentimiento Informado Utilizado

Niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de contención ortodóntica

CONSENTIMIENTO IIFORMADO

La Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste, interesada en conocer los biomarcadores salivales asociados al diagnóstico y terapéutica de las enfermedades de la cavidad bucal, impulsa la realización de esta investigación.

El objetivo del estudio es determinar los niveles de fosfatasa alcalina salival en fase de contención ortodóntica en pacientes tratados con aparatología convencional.

Por tal motivo, solicitamos su participación entendiendo que la misma toma en cuenta los siguientes aspectos:

1. Deberá enjuagarse la boca realizando un buche enérgico. Sentado en el sillón dental y con la cabeza ligeramente inclinada (mirando sus pies), junte saliva en el piso de la boca durante cinco minutos. Luego, deje caer esa saliva en un recipiente plástico.
2. Mi participación es **completamente voluntaria**. NO TENGO QUE PARTICIPAR SI NO QUIERO. Puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento.
3. Mis respuestas durante el interrogatorio de la historia clínica serán **completamente confidenciales**. Es decir, aunque mi nombre se encuentre registrado, nadie podrá identificarnos como las personas que dieron estas respuestas.
4. Yo podré hacer preguntas acerca del estudio en cualquier momento y esperar respuestas veraces.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estoy de acuerdo en participar en la investigación descrita en la hoja que me acaba de entregar. Estoy de acuerdo en proporcionar información precisa y veraz para que pueda ser de utilidad.

Nombre y Firma del paciente

Toda la información que usted me proporcione será estrictamente confidencial, se mantendrá bajo resguardo y se hará lo necesario para que nadie pueda identificarla como la persona que facilitó la saliva. Haré mi mejor esfuerzo por responder a cualquier duda o pregunta.

Fecha:

Nombre y firma del investigador

Anexo II: Registro de datos - grupo tratamiento

Nº de orden	SEXO	EDAD	1º FAL	1º FAL(DUPIC)	1º FAO(1º FAO(DUPIC)	FAL1 rest	FAL1 f. dup	2º FAL	2º FAL(DUPIC)	2º FAO	2º FAO(DUPIC)	FAL2 Rest	FAL2 Rest Dup	3º FAL	3º FAL(DUPIC)	3º FAO	3º FAO(DUPIC)	FAL3 Rest	FAL3 Rest Dup
1	2	42	44	44	14	14	30	41	41	9	10	32	31	29	29	9	6	20	23
2	2	26	47	48	12	14	35	98	98	18	21	80	77	35	57	12	7	23	50
3	2	34	50	54	21	23	29	13	23	8	6	5	17	34	33	5	6	29	27
4	2	22	71	71	24	25	47	63	29	11	8	52	21	58	51	11	11	47	40
5	1	38	69	71	30	31	39	40	26	4	8	22	28	24	24	3	4	21	20
7	2	15	49	50	17	17	32	33	18	7	11	11	21	30	28	8	10	22	18
8	2	25	48	44	13	9	35	41	43	9	15	32	28	35	38	11	9	24	29
9	1	26	16	21	3	2	13	19	10	2	2	8	9	31	31	4	6	27	25
10	2	21	13	16	4	5	9	11	51	14	20	37	35	38	40	9	4	29	36
11	2	26	27	30	5	8	22	22	49	15	19	34	30	49	31	8	6	41	25
14	1	30	23	19	8	5	15	14	39	4	3	35	37	33	10	12	23	21	
15	2	15	16	21	2	2	14	19	26	3	4	23	24	29	29	4	6	25	23
16	1	21	43	45	19	19	24	24	41	12	12	29	31	37	43	10	10	27	33
17	2	32	28	32	9	11	19	21	33	8	9	25	26	38	36	7	5	31	31
18	2	15	31	33	14	10	17	23	30	1	3	29	29	31	33	6	6	25	27
19	2	18	33	29	13	8	20	21	28	4	8	24	24	23	36	11	5	25	28
20	1	17	105	44	24	24	81	20	42	19	16	23	23	30	33	0	3	30	30
21	2	18	42	38	9	9	33	29	44	15	16	29	28	39	35	12	9	27	26
22	2	42	38	40	11	12	27	28	39	7	8	32	31	43	40	8	4	35	36
23	2	19	32	29	2	3	30	26	41	0	9	41	28	28	29	4	3	24	26
24	2	17	34	33	12	12	22	21	33	4	6	29	27	43	38	1	3	42	35
25	2	44	46	42	22	17	24	25	31	2	2	29	30	52	56	17	15	35	41
26	1	17	47	44	13	12	34	32	31	5	0	26	27	53	54	16	14	37	40
27	2	19	38	47	5	15	33	32	33	5	6	28	28	40	49	4	8	36	41
30	2	15	39	37	3	3	36	34	37	5	6	32	34	61	63	20	16	41	47
31	2	22	43	43	5	7	38	36	52	9	8	43	45	31	33	15	16	16	17
32	2	22	56	52	6	3	50	49	54	10	9	44	42	56	53	6	6	50	47
33	2	17	36	36	18	18	18	18	55	18	16	37	36	42	37	14	12	28	25
35	1	34	6	11	1	2	5	9	38	6	8	32	33	28	30	4	6	24	24
37	2	15	62	67	11	8	51	29	29	3	2	26	27	27	29	2	0	25	29
39	2	17	20	24	2	1	18	23	28	8	7	20	21	34	35	6	6	28	29

Anexo III: Registro de datos – grupo control

<i>N de orden</i>	edad	género	FAL	FAL duplicado	FAO	FAO duplicado	FAL Rest	FAL Rest dup
1	16	f	25	24	10	7	15	17
2	15	f	27	26	8	8	19	18
3	37	f	60	60	22	21	38	39
4	24	f	25	26	6	5	19	21
5	33	m	21	19	3	2	18	17
6	21	f	36	34	21	17	15	17
7	45	f	21	22	2	2	19	20
8	19	m	28	29	1	1	27	28
9	19	f	23	21	5	4	18	17
10	21	m	24	26	10	11	14	15
11	21	f	26	25	13	14	13	11
12	20	f	24	24	8	8	16	16
13	33	f	29	29	11	11	18	18
14	23	f	27	28	13	11	14	17
15	21	f	23	25	5	7	18	18
16	19	f	20	23	4	5	16	18
17	21	m	35	37	18	17	17	20
18	20	f	42	40	12	12	30	28
19	20	m	40	44	12	14	28	30
20	19	m	31	30	15	15	16	15
21	20	m	46	44	20	22	26	22
22	28	f	23	26	6	7	17	19
23	36	m	37	34	16	16	21	18
24	19	f	18	21	28	24	-10	-3
25	19	f	28	30	13	14	15	16
26	19	f	40	38	15	22	25	16
27	20	f	20	22	4	5	16	17
28	20	f	48	49	32	31	16	18
29	19	f	26	28	9	8	17	20
30	19	m	35	36	15	15	20	21
31	20	m	22	24	3	3	19	21
32	20	m	26	25	9	10	17	15
33	19	m	38	38	18	18	20	20
34	30	f	26	29	8	10	18	19
35	41	f	31	30	9	10	22	20