

Concentración de la enzima AST (aspartato aminotransferasa) en dientes sometidos a fuerzas ortodónticas intrusivas

Enzyme concentration AST (aspartate transaminase) teeth in orthodontic forces under intrusive

Pérez V*, Pupo Marrugo S**, Moneriz Pretell C***, Bedoya Pérez M****, De Armas Orozco M*****

RESUMEN

Introducción: Reportes en la literatura describen, como las fuerzas ortodónticas aplicadas durante los movimientos dentales conllevan a reacciones pulpares, alteraciones y molestias en un tratamiento de ortodoncia. La aspartato aminotransferasa (AST) es una enzima catalogada como un indicador de necrosis celular; sin embargo, es necesario evaluar su actividad en dientes sometidos a las diferentes fuerzas que se aplican durante un tratamiento ortodóntico.

Objetivo: Comparar las concentraciones de aspartato aminotransferasa en tejido pulpar de dientes sometidos a fuerzas ortodónticas intrusivas y dientes libre de fuerzas.

Método: Se realizó un estudio cuasi-experimental de boca dividida en 34 premolares superiores procedentes de 20 sujetos que requerían extracción de los mismos para fines ortodónticos. 20 premolares fueron expuestos por 48 horas a fuerzas intrusivas (75 g/fuerza). Los dientes contralaterales fueron usados como grupo control. Se extrajo el tejido pulpar y se midió la concentración de AST. Se tuvo en cuenta una significancia estadística de $p < 0,05$.

Resultados: Al realizar las comparaciones de las concentraciones de la enzima en ambos grupos no se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,436$). El grupo control mostró una concentración promedio de $1,78 \pm 1,13$ U/mg mientras que los premolares expuestos a fuerzas intrusivas reportaron una media de $1,94 \pm 1,2$ U/mg.

Conclusión: La actividad de la AST a nivel del tejido pulpar no tiene variación significativa al inducir movimientos intrusivos con fuerzas aproximadas de 75 g/fuerza en la muestra estudiada.

Palabras clave: Aspartato aminotransferasa, fuerza intrusiva, tejido pulpar, ortodoncia.

SUMMARY

Background: Reports in the literature describe as orthodontic forces applied during dental movements lead to pulp reactions, alterations and discomfort in orthodontic treatment. Aspartate aminotransferase (AST) is an

* Odontólogo, Universidad de Cartagena. Especialista en Ortodoncia, Universidad de Cartagena. Docente Postgrado, Universidad de Cartagena.

** Odontólogo, Universidad de Cartagena. Especialista en Endodoncia, Universidad de Cartagena. Docente Pregrado, Universidad de Cartagena.

*** Químico Farmacéutico, Universidad de Cartagena. Especialista en Bioquímica Clínica, Universidad Javeriana. Especialista en Pedagogía para el Desarrollo del Aprendizaje. Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Complutense de Madrid.

**** Odontólogo, estudiantes de postgrado de Ortodoncia. Universidad de Cartagena.

enzyme classified as an indicator of cell necrosis; However, it is necessary to evaluate their activity in teeth subjected to various forces applied during orthodontic treatment.

Objective: To compare aspartate aminotransferase concentrations in teeth pulp tissue subjected to intrusive orthodontic forces and forces free teeth.

Method: A quasi-experimental study of mouth divided into 34 premolars from 20 subjects requiring removal thereof for orthodontic purposes was performed. 20 premolars were exposed for 48 hours to intrusive forces (75 g/force). Contralateral teeth were used as control group. the pulp tissue was removed and the concentration of AST was measured. statistical significance of $p < 0.05$ was taken into account.

Results: When making comparisons of enzyme concentrations in both groups not a statistically significant difference ($p = 0.436$) was found. The control group showed an average concentration of 1.78 ± 1.13 U/mg while the premolars exposed to intrusive forces reported an average of 1.94 ± 1.2 U/mg.

Conclusion: AST activity level does not vary pulp tissue by inducing movements intrusive forces approximate 75 g/force.

Key words: Aspartate aminotransferase, intrusive force, pulp tissue, orthodontics.

Fecha de recepción: 10 de octubre de 2016.

Aceptado para publicación: 10 de noviembre de 2016.

Pérez V, Pupo Marrugo S, Moneriz Pretell C, Bedoya Pérez M, De Armas Orozco M. Concentración de la enzima AST (aspartato aminotransferasa) en dientes sometidos a fuerzas ortodónticas intrusivas. *Av. Odontoestomatol* 2017; 33 (1): 19-24.

INTRODUCCIÓN

La literatura actual han descrito acerca de las reacciones de tejido pulpar afectado por tratamientos ortodónticos en el cual los dientes que son sometidos a fuerzas ortodónticas pueden sufrir pérdida de circulación colateral, produciendo alteraciones metabólicas con la posterior liberación de mediadores químicos y enzimas, incluyendo la aspartato aminotransferasa (AST). Esto lleva como consecuencia desde una respuesta inflamatoria leve o transitoria hasta una degeneración completa de la pulpa (1).

Por otra parte, la AST es una enzima soluble que normalmente está confinada en el citoplasma celular, pero se libera al ambiente extracelular cuando la célula llega a la apoptosis. La actividad de la AST se describe por la concentración observada a nivel tisular, según Veberiene R et al (9) la AST presenta una concentración de $0,21$ U/mg ($DE = 0,15$) en la pulpa de dientes tratados ortodónticamente, a su vez este comportamiento refleja los cambios metabólicos en la pulpa dental (2).

Las alteraciones en la respiración de los tejidos y el aumento de la apoptosis en el tejido pulpar se supone que son los factores que afectan la actividad de la AST. Además, la aplicación de carga de ortodoncia puede inducir la reducción de los niveles de oxígeno en la pulpa (3).

Existen estudios en los cuales determinaron que la actividad de AST en el fluido crevicular gingival era más alta en la primera semana y se reduce gradualmente durante las siguientes tres semanas. Estos resultados apoyan la hipótesis de que durante el tratamiento de ortodoncia se pueden causar cambios metabólicos temporales en tejido de la pulpa que son reversibles (4).

A partir de esto, se convierte en un factor importante el poder identificar la asociación existente entre la enzima aspartato aminotransferasa con los cambios pulpares causados por las fuerzas ortodónticas particulares. De esta manera se puede esclarecer que tan agresivo es el tratamiento de ortodoncia a nivel pulpar, por el cual el propósito de este estudio fue compararlas concentraciones de aspartato

aminotransferasa en pulpa de dientes sometidos a fuerzas ortodónticas intrusivas y dientes libre de fuerzas.

MÉTODO

Se realizó un estudio cuasi-experimental de boca dividida. En el cual la población objeto de estudio estuvo constituida por individuos que requerían tratamiento de ortodoncia y en dicho tratamiento era necesario realizar extracción de primeros premolares superiores.

Debido a que la intervención consistió en la intrusión dental, se tomó como unidad muestral los premolares indicados a exodoncia. El tamaño de la muestra se estimó según tendencia histórica a partir de los reportes de Wahab et al (4) los cuales emplearon muestras de 12 y 17 dientes, respectivamente. Para el estudio se propuso un tamaño muestral de 40 dientes premolares. El presente estudio contempló un diseño de boca dividida, en el cual 20 premolares superiores de la hemiarcada derecha fueron expuestos a fuerza ortodónticas intrusivas mientras que los premolares de la hemiarcada izquierda del mismo sujeto de estudio fueron empleados como control.

Luego, los premolares superiores derechos fueron expuestos a la fuerza intrusiva mientras el premolar contralateral fue empleado como control. 48 horas después de la estimulación ortodóntica se extrajeron los dientes por un mismo operador y a partir de estos se extrajo el tejido pulpar para la posterior cuantificación de la AST.

Esta investigación fue considerada de riesgo mayor que el mínimo según lo descrito por la resolución 8.430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia debido a que se puso en riesgo el microambiente oral por el procedimiento quirúrgico afectándola integridad de los pacientes. Todos los individuos aceptaron su participación mediante consentimiento informado por escrito, en aquellos casos entre 14 y 17 años, dieron su aprobación mediante consentimiento informado al igual que los menores de edad asintieron voluntariamente su ingreso al estudio.

Cuantificación de la AST

Después de 48 horas ejerciendo los movimientos ortodónticos de intrusión, se realizó la extracción de los dientes expuestos y no expuestos por un mismo operador. Posteriormente se extrajo el tejido pulpar. Para esto fue necesario crear un tallado longitudinal a nivel de la superficie vestibular y lingual mediante una fresa de diamante y abundante irrigación. Seguidamente, y con un poco de palanca, se separaron en dos partes cada diente. Las muestras de tejido pulpar se lavaron dos veces con solución salina estéril y heparina en una proporción 50:50 con la finalidad de eliminar rastros de sangre que podían mostrar actividad de la aspartato. Luego las muestras se secaron con papel filtro y se almacenaron en tubos de eppendorf de 1,5 mL a -80° C hasta su posterior análisis.

Antes del análisis bioquímico, las muestras fueron pesadas y homogeneizadas en 1 ml de buffer de fosfato de potasio 10 mmol/L (pH 7,0) y colato de sodio 0,1%. Este homogeneizado se centrifugó a 100.000 g durante 60 minutos a 4° C, el sobrenadante, se diluyó en 2 ml de buffer de fosfato. Para el análisis enzimático se utilizó el espectrofotómetro BTS-350, Bio Systems, con una longitud de trayectoria de 1 cm y una temperatura constante de 37° C. Para el ensayo de determinación de la actividad de AST, se tomaron 400 μ L de la solución previamente preparada.

La muestra se incubó durante 15 minutos en un sustrato que contenía 362 mmol/L de L-aspartato, 75 mmol/L de 2-oxoglutarato, 1,9 mmol/L de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), >460 U/L de malato deshidrogenasa, >460 de lactato deshidrogenasa, 121 mmol/L de tris, 9,5 g/L de sodio azida, 148 mmol/L de hidróxido sódico y 255 mmol/L de hidróxido sódico (pH 7,8), en un volumen total de 5,0 ml.

En presencia de AST, la L-aspartato y 2-oxoglutarato intercambian un grupo amino para producir oxalacetato y L-glutamato. La velocidad de esta reacción se monitorea mediante una reacción indicadora en la que el oxalacetato que se forma se reduce a L-malato por un exceso de malato deshidrogenasa, con la oxidación simultánea de NADH. El NADH consumido se percibió como un cambio en la absorbancia a 340 nm. Un valor de 6,22 es considerado

como capacidad de absorción milimolar de NADH en unidades de actividad enzimática (U) (1 U= 1 μ mol de NAD⁺ liberado por minuto a 37° C), expresando los resultados como actividad de la AST/mg de tejido de la pulpa (U/mg). Por otra parte, para cada análisis, se utilizó un control de fondo, que consistió en el reactivo y el buffer sin la muestra, cuyo valor de la variación de absorbancia por minutos se resta del resultado experimental.

Análisis estadístico

Los datos fueron tabulados en una hoja de cálculo en el software Excel (Microsoft Office 2013. EEUU). Posteriormente todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS versión 20 (SPSS Inc, IBM. EEUU). El análisis descriptivo permitió reportar las frecuencias absolutas y porcentuales de la variable "Genero", mientras que las variables cuantitativas se reportaron mediante parámetros de tendencia central y dispersión como son la media y la desviación estándar. Los datos correspondientes a la concentración de la AST se les aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, la cual determinó que esta variable no mostró una distribución normal; por tal motivo los datos fueron analizados como una variable no paramétrica.

Por lo tanto, los datos se transformaron a logaritmo con base 10 para tratar de normalizarlos. Para el contraste de las concentraciones pulpares de AST entre los grupos de estudio se empleó la prueba de rangos con signos de wilcoxon para muestras relacionadas y *t* de Student para datos pareados según la distribución de normalidad observada. El contraste de la AST entre los grupos de estudio también se representó mediante gráfico de cajas y bigotes usando los datos transformados a logaritmo con base 10. Para estos análisis se tuvo en cuenta una significancia estadística de $p < 0,05$ a dos colas.

RESULTADOS

Se analizaron 34 dientes procedentes de 20 individuos entre los 14 y 21 años de edad, de los cuales el 70 % de los casos correspondían a mujeres y 30% a sujetos de género masculino (Tabla 1).

TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA ESTUDIADA

	n=20	%	
Género:			
— Masculino	6	30	
— Femenino	14	70	
	Mínimo	Media \pm DE	Máximo
Edad	14	17,35 \pm 2,0	21

DE: Desviación estándar.

Así mismo se evaluó la concentración de la aspartato aminotransferasa en pulpa de 20 premolares superiores indicados para exodoncias por motivos ortodónticos, la concentración mínima encontrada fue de 0,750 U/mg mientras que la concentración máxima fue de 5,4 U/mg con un promedio de $1,94 \pm 1,21$ U/mg, estos datos fueron transformados a logaritmos con base 10 para normalizar la distribución de los mismos (Tabla 2).

Por otra parte se midieron las concentraciones de la AST en 14 premolares superiores contralaterales a los dientes expuestos a fuerzas intrusivas. La concentración mínima de la muestra analizada fue de 0,86 U/mg siendo la concentración máxima de 4,53 y un promedio de $1,78 \pm 1,13$ U/mg. Estos datos también fueron transformados a logaritmo con base 10 para normalizar la distribución de los mismos (Tabla 3).

Así mismo, se comparó la concentración de la AST entre los grupos de estudio en el cual el grupo con-

TABLA 2.- CONCENTRACIÓN DE LA AST EN LOS DIENTES EXPUESTOS A FUERZAS ORTODÓNTICAS INTRUSIVAS

	Mín.	Media	DE	Máx.
AST (U/mg) (n=20)	0,750	1,942	1,215	5,400
AST (Log10) (n=20)	-0,125	0,226	0,225	0,732

AST: Aspartato aminotransferasa.

TABLA 3.- CONCENTRACIÓN DE LA AST EN LOS DIENTES SIN EXPOSICIÓN A FUERZAS ORTODÓNTICAS

	Mín.	Media	DE	Máx.
AST (U/mg) (n=20)	0,860	1,787	1,133	4,530
AST (Log10) (n=20)	-0,066	0,185	0,240	0,656

AST: Aspartato aminotransferasa.

El grupo control mostró una concentración promedio de $1,78 \pm 1,13$ U/mg mientras que los premolares expuestos a fuerzas intrusivas reportaron una media de $1,94 \pm 1,2$ U/mg; a pesar que se observa una tendencia al aumento de la concentración de la AST en el grupo expuesto a la fuerza, esta no muestra diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio (Tabla 4).

DISCUSIÓN

En ortodoncia se aplica una serie de movimientos donde las fuerzas varían de acuerdo a las necesidades de cada individuo. En este estudio se aplicó una fuerza de 75 g a los primeros premolares superiores derechos. En estudios previos de Fudalej cols (5), la fuerza elegida de 25 g es considerada como moderada y severa cuando llega a los 225 g, por lo tanto, la fuerza aplicada en el presente estudio puede ser considerada como una fuerza moderada.

Por otra parte, es importante tener en cuenta la funcionalidad de los aditamentos que se emplean para cualquier tipo de movimiento ortodóntico, ejemplo

de esto es que los materiales elásticos se deformen y disminuyan significativamente la fuerza que ejercen. Esto se ve reflejado en el reporte de Han Guanghong et al (6) quienes evaluaron los cambios pulpaes e histológicos como la reabsorción radicular en premolares aplicando fuerzas intrusivas de 50 y 300 g, estos tuvieron en cuenta la degradación de los elásticos y por tal motivo aumentaron la fuerza de 25 g como se ha descrito con anterioridad a 50 g. En el presente estudio, se utilizó una cadeneta de segunda generación que según la literatura presenta menor deformación y por lo tanto mantiene de forma constante la fuerza aplicada.

En lo referente al tipo de fuerza, se escogió la fuerza intrusiva porque es considerada una de las más injuriosas en ortodoncia, ya que consiste en introducir el diente hacia su alveolo y se sugiere que genera daño vascular, reabsorciones radiculares. Sin embargo, de acuerdo a los resultados se puede decir que la hipótesis del "estrangulamiento" del flujo sanguíneo pulpar y la muerte celular durante la aplicación de la fuerza intrusiva no es real debido a que la enzima catalogada como un indicador de daño (AST) presentó una modificación no significativa en su concentración, en los dientes a los que se les aplicó la fuerza, ni a las estructuras dentales tomadas como grupo control; una posible explicación a este hallazgo por el cual no coinciden los resultados con algunos autores, es que no existió suficiente desplazamiento apical del diente debido a la naturaleza a corto plazo de la aplicación de la fuerza, así mismo la pulpa suele reaccionar positivamente ante los movimientos ortodónticos.

Por otra parte otra posible explicación a los resultados observados es el comportamiento mismo de la

TABLA 4.- COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LAS AST ENTRE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

	OD expuestos a fuerza ortodóntica		Control		Diferencia	Valor de p
	Media	DE	Media	DE		
AST (U/mg)	1,942	1,215	1,787	1,133	0,155	0,925*
AST (Log10)	0,226	0,225	0,185	0,240	0,021	0,763

* Prueba Wilcoxon para muestras relacionadas.

AST. Al generarse una injuria sobre el tejido se induce la producción de mediadores inflamatorio, los niveles de AST se elevan al cabo de 6 a 10 horas y permanecen altos por 4 días.

CONCLUSIÓN

Se concluye que la actividad de la AST a nivel del tejido pulpar no varía al inducir movimientos intrusivos con fuerzas aproximadas de 75 g/fuerza, sin embargo se observa una tendencia de aumentar en los dientes expuestos a las fuerzas. Es posible que al aplicar otro tipo de movimientos o aumentar indiscriminadamente la fuerza aplicada se presenten cambios significativos que indiquen algún daño pulpar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ballesteros R, Viafara J, Domínguez Á. Efecto del láser de baja intensidad en el tejido pulpar durante el movimiento ortodóncico. *Estomat.* 2012;2(1):30-8.
2. Caviedes-Bucheli J, et al. The Effect of Orthodontic Forces on alcytonin Gene-related Peptide Expression in Human Dental Pulp. *J Endod.* 2011;37(7):934-7.
3. Chae S, et al. The effect Of Pro Inflammatory Cytokines And Orthodontics Tooth Movement. *MoleculesAnd Cell. Mol Cells.* 2011;32(2):189-96.
4. Wahab R, 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):249-56.
5. Fudalej A, Jhotman A. Pulpar Reactions To Orthodontic Force Application In Human. *Journal Endodontic.* 2012;45(35):461-7.
6. Han G, et al. Pulp vitality and histologic changes in human dental pulp after the application of moderate and severe intrusive orthodontic forces. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.* 2013;144(4):518-22.
7. Mérida I. Movimiento Ortodóncico y sus factores Modificante. *Revista Latinoamericana De Ortodoncia y Odontopediatría.* 2011;6(10):35-8.
8. Romer P, Reicheneder C, Wolf M. Cellular Response To Orthodontically Induced Short-Term Hypoxia In Dental Pulp Cells. *American Journal Orthodontics.* 2014;355(1):173-80.
9. Veberiene R, et al. Aspartate aminotransferase activity in the pulp of teeth treated for 6 months with fixed orthodontic appliances. *Korean J Orthod.* 2015;45(5): 261-7.
10. Abdul Wahab RM, 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.
11. Von Böhl M, Ren Y, Fudalej PS, Kuijpers-Jagtman AM. Pulpal reactions to orthodontic force application in humans. A systematic review. *J Endod.* 2012;38(11): 1463-9.
12. Wei FL, et al. Metabolic changes of human dental pulp after rapid palatal expansion. *Orthod Craniofac Res.* 2013;16(3):185-92.
13. Perinetti G, et al. Aspartate aminotransferase activity in pulp of orthodontically treated teeth. En: *Am J Orthod dentofacial Orthop.* 2004;125(1):88-92.

CORRESPONDENCIA

Stella Pupo Marrugo
Campus área de la Salud, Zaragocilla
Universidad de Cartagena
Colombia

Correo electrónico: spupom@unicartagena.edu.co