

# **La Actividad de la enzima Aspartato Aminotransferasa en el fluido crevicular gingival es afectada por el movimiento dental Ortodónico en Humanos**

*A. Dannan, F. Alkattan, S. Hamadeh, M. A. Darwish, M. N. Sawan*

## **Autores**

### **Aous Dannan**

Departamento de Peri odontología, Facultad de Medicina Dental, Universidad de Witten/Herdecke, Witten, Alemania.

### **Farah Alkattan**

Departamento de Cirugía Oral, Facultad de Medicina Dental, Universidad de Witten/Herdecke, Witten, Alemania.

### **Sinan Hamadeh**

Departamento de Ortodoncia, Facultad de Medicina Dental, Universidad de Witten/Herdecke, Witten, Alemania.

### **Mohammad Atef Darwish**

Departamento de Peri odontología, Facultad de Medicina Dental, Universidad de Damasco, Damasco, Siria.

### **Mohammad Nasser Sawan**

Departamento de Ortodoncia, Facultad de Medicina Dental, Universidad de Damasco, Damasco, Siria.

## **Dirección de correspondencia para los autores**

Dr. Aous Dannan

Breite Str. 94

58452 Witten

Deutschland

**Tel:** +49-(0)2302-1795268

**Fax:** +49-(0)2302-1795267

**Email:** [aousdannan@yahoo.com](mailto:aousdannan@yahoo.com) 2

## Abstracto

**Propósito:** La aspartato Aminotransferasa (AST) es una enzima soluble que normalmente está confinada en el citoplasma celular, pero se libera al ambiente extracelular cuando la célula muere. Los niveles de actividad de la AST en el fluido crevicular gingival (GCF) son considerados como importantes en la regulación de la reabsorción del hueso alveolar durante el movimiento dental ortodóncico. El propósito de este estudio fue evaluar la actividad de la AST del fluido crevicular gingival para determinar si esta enzima tiene potencial para ayudar a diagnosticar la respuesta tisular durante el movimiento dental ortodóncico.

**Materiales y Métodos:** Catorce caninos superiores e inferiores de pacientes con diferentes maloclusiones de acuerdo a la clasificación de Angle fueron seleccionados para el estudio. Después de la extracción de los primeros premolares, los caninos superiores e inferiores fueron sujetos de retracción ortodóncica en dirección distal. Se tomaron muestras del fluido crevicular gingival del surco mesial y distal de cada canino de manera separada al inicio, a la hora, 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación de la retracción distal ortodóncica. La actividad de la AST se determinó espectrofotométricamente, y los resultados se expresaron como la actividad total de la AST ( $\mu\text{U}$  / muestra).

**Resultados y Discusión:** Los valores de la actividad de la AST en los sitios mesial y distal aumentaron significativamente después de 14 días comparándolo con la muestra inicial. El incremento de la actividad de la AST fué mayor en los sitios distales (sitios de compresión) que en los mesiales (sitios de tensión). La respuesta local del huésped hacia las fuerzas ortodóncicas parece que incrementa los niveles de actividad de la AST.

**Conclusiones:** el incremento en los niveles de AST en el GCF puede reflejar la actividad biológica y los procesos de remodelación ósea que ocurren en el periodonto durante el movimiento dental ortodóncico controlado.

**Palabras clave**

Aspartato Aminotransferasa, Remodelación ósea, movimiento dental ortodóncico.

## **Introducción**

En los pasados 40 años, varios estudios han tratado de explicar el fenómeno biomecánico y biológico que permite el movimiento dental ortodóncico causado por un aparato ortodóncico (1-3).

La remodelación ósea durante el movimiento dental ortodóncico ha sido descrita clásicamente como un proceso continuo y balanceado, caracterizado por deposición ósea en los sitios de tensión y reabsorción ósea en los de presión. [4-7].

Con fuerzas de moderadas a severas, ocurre la compresión del tejido conectivo en el lado de presión, disminuye el aporte de oxígeno y nutrición, y empieza la isquemia del ligamento periodontal. Después de varios días de trauma, se observa la actividad osteoclástica, y las células del ligamento relativamente sanas empiezan a reparar el tejido necrótico.

Para monitorear la expresión de las sustancias biológicamente activas de manera no invasiva en humanos, se han estudiado los cambios en la composición del fluido crevicular gingival (GCF) durante el movimiento dental ortodóncico [8, 9]. Estas sustancias están involucradas en la remodelación ósea, y son producidas por las células del ligamento periodontal (PDL) en cantidades suficientes para difundirse en el GCF. Grieve y cols. [10] reportaron que la prostaglandina-E y la interleucina-1 beta (IL - 1 $\beta$ ) en el GCF se elevan durante el movimiento dental ortodóncico, Uematsu y cols. [11] también demostraron que la (IL - 1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-6), el factor tumoral alfa necrotizante (TNF -  $\alpha$ ) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) se elevaron en el GCF durante tal movimiento.

Ya que se ha demostrado la presencia del Aspartato Aminotransferasa en GFC [12], varios estudios han demostrado que los niveles de AST en el GFC reflejan la magnitud de la destrucción del tejido periodontal y periodontitis [13, 14]. Por esta razón se ha sugerido que los niveles de AST en el GCF representan un marcador potencial para monitorear el metabolismo periodontal. [15, 16].

Sin embargo, hay pocos estudios que hallan investigado el posible papel de la actividad de la AST en el remodelado tisular incidental a las fuerzas ortodóncicas.

El propósito de este estudio fue determinar si la actividad de la AST en el GCF refleja los cambios ocurridos en los tejidos periodontales durante el movimiento dental ortodóncico.

## **Materiales y Métodos**

### **Estudio de la población**

Siete pacientes con tratamiento ortodóncico (cuatro mujeres, con promedio de edad de  $16.5 \pm 1.5$  años, y tres hombres, de entre  $17.6 \pm 2.5$  años) del Departamento de Ortodoncia, del Colegio de Medicina Dental, Universidad de Damasco fueron seleccionados para participar en este estudio.

Para ser elegible, estos pacientes debieron reunir los siguientes criterios: (1) Buen estado de salud general; (2) No haber estado sometido a tratamiento con antibióticos durante 6 meses antes; [10] Ausencia de administración de antiinflamatorios un mes antes del inicio del estudio; (4) Periodontalmente sanos, con profundidad de sondeo generalizada de  $\leq 3$  mm sin evidencia radiográfica de pérdida ósea periodontal; y (5) necesidad de extracción de los primeros premolares, y de retracción de los caninos como parte de su plan de tratamiento ortodóncico.

Se obtuvieron las firmas del consentimiento informado de los pacientes sujetos a estudio o de sus padres si eran menores de edad antes del inicio.

### **Diseño experimental**

Siguiendo el plan de tratamiento ortodóncico, se obtuvieron 6 primeros premolares superiores y 8 inferiores en el primer paso.

Tres semanas después de la extracción de los primeros premolares, los caninos adyacentes al sitio de extracción [**6 superiores** (4 caninos de pacientes femeninos y 2 que se le extrajeron a 1 paciente masculino)] y [**8 caninos inferiores** (4 caninos de 2 pacientes femeninos y 4 de 2 pacientes masculinos)] se retrajeron en dirección distal usando fuerzas de 90g en el canino inferior y 115g para los superiores. Las fuerzas estuvieron generadas por un arco de alambre usando un loop de retracción verificado con un calibrador que se conformó para cada caso individual. (Figure.1).

Las muestras del fluido crevicular de cada muestra se recolectaron al inicio (antes de la aplicación de cualquier fuerza ortodóncica) a la hora, a los 7, 14, 21 y 28 días del inicio de la retracción. Durante el periodo de observación no se realizó activación ortodóncica.

### **Monitoreo clínico, muestras de GCF y análisis de la Aspartato Aminotransferasa**

El status de los tejidos periodontales fue determinado por parámetros clínicos como el índice de placa (PI), índice gingival (GI) y profundidad de sondeo (PD). Estos parámetros clínicos se tomaron dos veces: antes de la colocación de la aparatología y en el día 28. Una semana antes del examen inicial, todos los pacientes recibieron un procedimiento de limpieza supra y subgingival ultrasónico.

Se tomaron muestras individuales del GCF de manera separada de los surcos mesial y distal de cada canino sujeto a fuerzas ortodóncicas siguiendo el método de Offenbacher et al. (1986) [17].

La placa supragingival fué removida y se registró en el PI. Se tomaron muestras de GCF primero aislando el área con rollos de algodón y secando el diente y su margen gingival con aire (para minimizar la contaminación con saliva), y se usaron tiras de papel (Roeko Inc®, Alemania) insertándolas por 60 segundos en el surco 1 mm dentro del margen gingival. Después de remover la primera tira y esperar por un minuto se insertó una segunda en el mismo sitio por otros 60 segundos. Las tiras contaminadas por saliva o sangre se excluyeron del estudio. (Figura. 1).



Fig. 1) El loop utilizado para la retracción canina, y la recolección de GCF del surco gingival.

El volumen de GCF se midió con un instrumento electrónico (Periotron 8000, Ora Flow) calibrado con un método establecido y se usó un software (Mlconvert.exe, Ora Flow) para convertir las medidas en microlitros [18]. Directamente después de la colección de las muestras de GCF, las puntas de papel se incubaron en 200  $\mu$ L de solución salina por 15 minutos. Después, todas las puntas se tiraron

y los tubos con los fluidos remanentes se llevaron al laboratorio de bioquímica del Hospital *Al – Assad* (Damasco – Siria) para el procedimiento de análisis químico. Todos los tubos se colocaron en el aparato automático espectrofotométrico (Roche Hitachi 912® - Diamond Diagnostics - USA) para que fueran analizados automáticamente sin procedimientos manuales. El Roche/Hitachi 912 es un sistema flexible para análisis químicos y clínicos especiales e inmunoensayos homogéneos. Tiene una capacidad de inicio de 35 pruebas y hasta 360 pruebas fotométricas por hora para análisis de suero, plasma, orina, fluido cerebroespinal y hemolizados. (Figure. 2).



Fig. 2 Espectrofotómetro automático (Roche Hitachi 912®) usado para analizar los niveles de la actividad de AST

De acuerdo a este aparato, el volumen total de GCF se expresó en (microlitros) ( $\mu\text{L}$ ), y la actividad de la AST se expresó con actividad total de la AST (micro unidades por muestra) ( $\mu\text{U}$  / Muestra).

#### **Procesamiento de Datos**

Los valores se calcularon con una desviación estándar promedio  $\pm$  (SD) y se usó el Análisis de Varianza (ANOVA), para calcular la cantidad de variación en un proceso y determinar si ésta es significativa o está causada por cuestiones aleatorias

La medición del volumen de GCF y la actividad de la AST se expresaron como el volumen total para cada grupo experimental considerando a cada diente como medida estadística. Se aceptó una probabilidad de  $P < 0.05$  para rechazar la hipótesis nula y para determinar con un nivel de confianza del 95% que los dos parámetros no son iguales. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un programa de software computacional (SPSS®-2006).

## Resultados

En el examen inicial, los índices clínicos, expresados como  $SD \pm$  promedio, se registraron como sigue:  $0.24 \pm 0.367$ ,  $1.68 \pm 0.514$  mm y  $0.23 \pm 0.253$  para PI, PD y GI respectivamente, y después de 28 días los índices se registraron como  $0.19 \pm 0.347$ ,  $1.50 \pm 0.453$  mm y  $0.30 \pm 0.360$  respectivamente, como se muestra en la tabla 1.

Indices	Tiempo	Inicio	Día 28	Prueba de ANOVA
<i>Indice de Placa PI</i>		$0.24 \pm 0.367349$	$0.19 \pm 0.34744$	<i>NS</i>
<i>Profundidad de sondeo PD promedio (mm) <math>\pm</math> SD</i>		$1.68 \pm 0.514194$	$1.50 \pm 0.453133$	<i>NS</i>
<i>Indice Gingival GI</i>		$0.23 \pm 0.253004$	$0.30 \pm 0.360479$	<i>NS</i>

Tabla (1): Los valores de los parámetros clínicos usados en el estudio

*NS*: sin diferencia estadísticamente significativa de un par de elementos comparándolos en dos momentos diferentes en cada grupo.

No se observaron signos de destrucción periodontal en ningún sujeto.

El volumen de GCF fue un poco mayor en el lado de tensión después de 21 y 28 días, comparándolo con los otros periodos de observación. (Tabla 2). Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa en los resultados encontrados entre los grupos durante 8

Todo el periodo de observación ( $P > 0.05$ ). En los sitios de presión, el volumen de GCF fue ligeramente mayor después de 28 días que en el demás periodo de observación, y similar a los resultados de las zonas de tensión. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los sitios de presión. ( $P > 0.05$ ). Se muestran más detalles en la tabla 2.

<b>Tiempo</b>	<b>Volumen de GCF en los sitios mesiales Promedio (<math>\mu</math> L) <math>\pm</math>SD</b>	<b>Volumen de GCF en los sitios distales Promedio (<math>\mu</math> L) <math>\pm</math>SD</b>
<b>Inicio</b>	0.46 $\pm$ 0.1533	0.50 $\pm$ 0.1534
<b>Después de 1 hora</b>	0.50 $\pm$ 0.1532	0.50 $\pm$ 0.0882
<b>Día 7</b>	0.47 $\pm$ 0.1411	0.44 $\pm$ 0.0944
<b>Día 14</b>	0.46 $\pm$ 0.1051	0.47 $\pm$ 0.1093
<b>Día 21</b>	0.53 $\pm$ 0.1203	0.50 $\pm$ 0.1196
<b>Día 28</b>	0.55 $\pm$ 0.1585	0.56 $\pm$ 0.1756
<b>Prueba de ANOVA</b>	<i>NS</i>	<i>NS</i>

Tabla (2): Volúmenes de (GCF) en el lado mesial (tensión) y distal (presión) de los caninos ( $\mu$  L)

*NS*: sin diferencia estadísticamente significativa de un par en los tiempos analizados para cada grupo.

La actividad de la AST en el sitio de tensión aumentó gradualmente hasta que alcanzó su máximo el día 14. Este incremento fue estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ). Los valores de la actividad de AST mostraron un decremento después del día 21 y 28 (Tabla 3). En los sitios de presión los valores de la actividad de la AST también aumentaron gradualmente hasta que alcanzaron un máximo en el día 14, y su incremento también fue estadísticamente significativo ( $P < 0.05$ ). 9

Entonces, después de 21 días todos los valores disminuyeron no significativamente, y después de 28 días hubo un ligero incremento, pero tampoco estadísticamente significativo.

<b>Tiempo</b>	<b>Niveles de Actividad de la AST en los sitios mesiales Promedio (<math>\mu</math>U / S) <math>\pm</math> SD</b>	<b>Niveles de actividad de la AST en los sitios distales Promedio (<math>\mu</math>U / S) <math>\pm</math> SD</b>
<b>Inicio</b>	1068.57 $\pm$ 799.950	1142.85 $\pm$ 769.689
<b>Después de 1 hora</b>	914.28 $\pm$ 732.726	747.14 $\pm$ 665.252
<b>Día 7</b>	1010 $\pm$ 403.555	1288.57 $\pm$ 785.707
<b>Día 14</b>	1870 $\pm$ 1295.169 *	1982.85 $\pm$ 1093.984 *
<b>Día 21</b>	1468.57 $\pm$ 658.376	1235.71 $\pm$ 521.251
<b>Día 28</b>	1394.28 $\pm$ 993.956	1538.57 $\pm$ 752.376

<b>Prueba de ANOVA</b>	Diferencia estadísticamente significativa P < 0.05 *	Diferencia estadísticamente significativa P < 0.05 *
------------------------	---	---

Tabla (3): niveles de Actividad de la AST en el lado mesial (tensión) y distal (presión) del canino ( $\mu\text{U} / \text{S}$ )

Resultados de comparación de los pares en los diferentes tiempos en cada grupo:  
Inicio versus día 14

Después de 14 días, los valores de actividad de la AST fueron significativamente mayores en los sitios de presión que en los de tensión.

### **Discusión**

Este estudio fue diseñado para evaluar la actividad de la AST que ocurre durante el movimiento dental ortodóncica en humanos, con el propósito de investigar la relación entre los niveles en el GCF de esta enzima y la remodelación del tejido periodontal incidental al trauma oclusal. (en este caso, la fuerza ortodóncica). 10

Puede detectarse remodelación incidental al trauma oclusal controlado con cambios en el GCF, como se observó previamente en estudios longitudinales y transversales en humanos [19]. En particular, algunos estudios [20] han encontrado un aumento en ciertos mediadores del GCF (ej, citoquinas), que pueden actuar como marcadores de la condición clínica durante el tratamiento de ortodoncia. La enzima Aspartato aminotransferasa esta bien distribuida en los tejidos, con su mayor nivel en el corazón e hígado. Como esta enzima está normalmente confinada en el citoplasma, el aumento en sus niveles extracelulares se considera como un signo de necrosis celular aumentada [12, 14]. De hecho, sus niveles en suero se consideran como un marcado bioquímico de infarto al miocardio o hepatitis [20]. Se ha descrito actividad significativa de la AST en el GCF [21] [12], en diferentes investigaciones que han documentado una relación positiva entre la actividad enzimática y la severidad de la destrucción de los tejidos, usando pacientes con gingivitis y periodontitis como modelo [14]. La actividad de la AST en el GCF se ha correlacionado con parámetros clínicos de salud periodontal, incluyendo pérdida de inserción, niveles de hueso alveolar e índice gingival. Además se ha demostrado que el aumento en la actividad de la AST en el GCF se relaciona con la actividad de la periodontitis. [14].

En tejidos periodontales, el movimiento dental ortodóncico produce procesos biológicos previamente descritos como un fenómeno continuo, que permite la reabsorción en los sitios de presión y la deposición ósea en los sitios de tensión [4-7]. La investigación histológica en animales [20] ha demostrado que tanto la deposición como la reabsorción tienen lugar en los sitios de tensión y compresión en el hueso alveolar sometido a estrés mecánico por el movimiento dental. De acuerdo a estos datos [20], una ola temprana de reabsorción, que requiere de 3 a 5 días, está seguida por una contraria, (5 a 7 días), y después viene un periodo de formación de hueso de 7 a 14 días. Este proceso parece ocurrir tanto en el lado de presión, como en el de tensión de la pared alveolar. Este modelo está delineado por una fase inicial asincrónica en la que la reabsorción ósea es mucho mayor que la deposición, mientras que en la etapa final, la reabsorción y deposición son más sincrónicas.

En el presente estudio, ocurrió un ligero aumento en el volumen de GCF en los sitios mesiales una hora después de la aplicación de la fuerza. Después de una semana, los valores del volumen de GCF volvieron a bajar y aumentaron gradualmente después de los días 21 y 28. Sin embargo, todos los cambios recientes no fueron estadísticamente significativos. 11

Los aparatos fijos, cuando se colocan en la boca, juegan un papel importante para atraer placa dental, que puede resultar en inflamación gingival, y esta última pueden causar un aumento en el volumen de GCF. Aunque el aumento ligero de los valores de GCF en este estudio no fue estadísticamente significativo, pudo deberse a la inflamación ligera que existió después del día 28. Esta inflamación nunca llegó a mostrar valores destructivos. ( $0.23 \pm 0.253$ ,  $0.30 \pm 0.360$  al inicio y después de 28 días respectivamente).

Por lo tanto, la ligera variación en el volumen de GCF puede explicarse por las fuerzas mecánicas a las que el diente fue sometido.

Debe destacarse que el nivel de AST en el GCF de  $800 \mu\text{U} / \text{Muestra}$  es aproximadamente 20 veces mayor que los niveles encontrados en el suero de pacientes periodontalmente sanos, y que se encontró niveles sanos y con enfermedad periodontal de  $\text{AST} \geq 800 \mu\text{U} / \text{Muestra}$  en el GCF, lo que indica que la destrucción local de los tejidos ocurre tanto en sitios sanos como enfermos [22]. Sin embargo, esta destrucción no necesariamente resultó en cambios significativos en el nivel de inserción.

De acuerdo a estos datos parece un poco difícil determinar un valor de referencia de AST en el GCF, ya que es normal detectar niveles tan altos como  $800 \mu\text{U} / \text{Muestra}$ . En nuestro estudio de cinco puntos en el tiempo, incluyendo el inicio, nos ajustamos para monitorear el comportamiento de la AST, y con propósitos estadísticos, para poder detectar dónde se localizaba el ápice de los niveles de AST, consideramos solo las diferencias en los valores entre cada punto de referencia en el tiempo y el inicio. Así después de 14 días, los valores de actividad de la AST en el GCF demostraron incrementar significativamente tanto en los sitios de presión como en los de tensión. Este aumento en la actividad de la AST puede explicarse como consecuencia de la remodelación del tejido. De hecho, la compresión del ligamento periodontal induce a una hialinización de la zona más comprimida. Esta zona hialina se describe como una de necrosis focal aséptica que es resistente a la degradación y persiste en la zona de presión, dependiendo de la magnitud de la fuerza.

Los niveles de actividad de la AST en el día 14 en los sitios de compresión cuando se compararon con los de tensión, fueron mayores, aunque la diferencia de esta comparación no se procesó estadísticamente.

Con todo y las limitaciones de este estudio y un volumen de la muestra restringido, podemos decir que la actividad de la AST en el GCF se afecta de hecho por el trauma oclusal controlado, lo que causa 12

Remodelación del tejido, que es un valor parcialmente influenciado por factores tales el estrés biomecánico, y la inflamación gingival. Sin embargo, cuando la inflamación gingival se mantiene bajo control, la actividad de la AST en GCF puede considerarse como un indicador confiable de los efectos producidos por el tratamiento ortodóncico.

### **Conclusión**

Este estudio demuestra un ligero aumento en el contenido de fluido gingival y de AST en dientes sometidos a un sistema de fuerzas ortodóncicas. Esta actividad enzimática afecta también a las diferentes presiones ejercidas en el periodonto por las fuerzas ortodóncicas como procesos continuos que ocurren en el ligamento periodontal.

### **Reconocimientos**

Los autores agradecen al Prof. Dr. Ramadan Darwish por su consejo estadístico. 13

## Referencias

1. King GJ, Keeling SD, Wronski TJ: **Histomorphometric study of alveolar bone turnover in orthodontic tooth movement.** *Bone* 1991, **12**(6):401-409.
2. Lowney JJ, Norton LA, Shafer DM, Rossomando EF: **Orthodontic forces increase tumor necrosis factor alpha in the human gingival sulcus.** *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995, **108**(5):519-524.
3. Reitan K: **Clinical and histologic observations on tooth movement during and after orthodontic treatment.** *Am J Orthod* 1967, **53**(10):721-745.
4. Chapple IL, Garner I, Saxby MS, Moscrop H, Matthews JB: **Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of crevicular fluid alkaline phosphatase levels.** *J Clin Periodontol* 1999, **26**(3):190-198.
5. Rygh P: **Ultrastructural vascular changes in pressure zones of rat molar periodontum incident to orthodontic movement.** *Scand J Dent Res* 1972, **80**(4):307-321.
6. Rygh P: **Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontum incident to orthodontic tooth movement.** *Am J Orthod* 1976, **70**(3):269-281.
7. Storey E: **The nature of tooth movement.** *Am J Orthod* 1973, **63**(3):292-314.
8. Griffiths GS, Moulson AM, Petrie A, James IT: **Evaluation of osteocalcin and pyridinium crosslinks of bone collagen as markers of bone turnover in gingival crevicular fluid during different stages of orthodontic treatment.** *J Clin Periodontol* 1998, **25**(6):492-498.
9. Iwasaki LR, Haack JE, Nickel JC, Reinhardt RA, Petro TM: **Human interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist secretion and velocity of tooth movement.** *Arch Oral Biol* 2001, **46**(2):185-189.
10. Grieve WG, 3rd, Johnson GK, Moore RN, Reinhardt RA, DuBois LM: **Prostaglandin E (PGE) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) levels in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement.** *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1994, **105**(4):369-374.
11. Uematsu S, Mogi M, Deguchi T: **Interleukin (IL)-1 beta, IL-6, tumor necrosis factor-alpha, epidermal growth factor, and beta 2-microglobulin levels are elevated in gingival crevicular fluid during human orthodontic tooth movement.** *J Dent Res* 1996, **75**(1):562-567.
12. Chambers DA, Crawford JM, Mukherjee S, Cohen RL: **Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs.** *J Periodontol* 1984, **55**(9):526-530.
13. McCulloch CA: **Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis.** *J Clin Periodontol* 1994, **21**(7):497-506.
14. Persson GR, DeRouen TA, Page RC: **Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients.** *J Periodontol Res* 1990, **25**(2):81-87.
15. Lamster IB: **Evaluation of the host response in crevicular fluid, saliva, and blood: implications and applications for the diagnosis of periodontal disease.** *Periodontal Case Rep* 1990, **12**(2):6-9.
16. Magnusson I, Persson RG, Page RC, DeRouen TA, Crawford JM, Cohen RL, Chambers DA, Alves ME, Clark WB: **A multi-center clinical trial of a new chairside test in distinguishing between diseased and healthy periodontal sites. II. Association between site type and test outcome before and after therapy.** *J Periodontol* 1996, **67**(6):589-596.

17. Offenbaceer S, Odle BM, Dyke TE: **The use of crevicular fluid prostaglandin E2 levels as a predictor of periodontal attachment loss.** *Journal of Periodontal Research* 1986, **21**(2):101-112.
18. Deinzer R, Mossanen BS, Herforth A: **Methodological considerations in the assessment of gingival crevicular fluid volume.** *Journal of Clinical Periodontology* 2000, **27**(7):481-488.
19. Insoft M, King GJ, Keeling SD: **The measurement of acid and alkaline phosphatase in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement.** *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996, **109**(3):287-296. 14

20. Keeling SD, King GJ, McCoy EA, Valdez M: **Serum and alveolar bone phosphatase changes reflect bone turnover during orthodontic tooth movement.** *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1993, **103**(4):320-326.
21. Perinetti G, Paolantonio M, D'Attilio M, D'Archivio D, Dolci M, Femminella B, Festa F, Spoto G: **Aspartate aminotransferase activity in gingival crevicular fluid during orthodontic treatment. A controlled short-term longitudinal study.** *J Periodontol* 2003, **74**(2):145-152.
22. Schmidt E SW: **Aminotransferases in human pathology and clinical chemistry.** In *Transaminases*. Edited by Christian P M, DE. New York: John Wiley & Sons; 1985:586-590.