



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

“EFICACIA DIAGNÓSTICA DE LOS
BIOMARCADORES ORALES EN LA
DETERMINACIÓN DE LA
MADURACIÓN ESQUELÉTICA:
UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN ESTOMATOLOGÍA

ALEXANDRA ROSY CAMARENA FONSECA

LIMA – PERÚ

2023

ASESOR DE TESIS

Dr. Abraham Meneses López

CO-ASESOR DE TESIS

Dr. Arcadio Iván Lozada Requena

JURADO DE TESIS

Dr. Jorge Arturo Beltrán Silva

PRESIDENTE

Dr. Manuel Oscar Lagraverre Vich

VOCAL

Dr. Ebingen Villavicencio Caparo

SECRETARIO

DEDICATORIA

A la memoria de mi querido amigo Javier Santos Huamán, que siempre confió en mí y me alentó a perseguir mis sueños. Sé que me acompañaste a lo largo de todo el proceso, este y todos mis logros son tuyos también.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por protegerme durante todo el proceso y permitir que supere los obstáculos que se presentaron. A mi familia, por su amor y apoyo incondicional; por ser mi fuerza y templanza. A mi director y co-director de tesis, por su guía durante el desarrollo de esta investigación. A la Dra. Maria Eugenia Guerrero, por su vocación docente, confianza y apoyo desinteresado.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Tesis autofinanciada.

EFICACIA DIAGNÓSTICA DE LOS BIOMARCADORES ORALES EN LA DETERMINACIÓN DE LA MADURACIÓN ESQUELÉTICA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	www.minervamedica.it Fuente de Internet	1%
2	repositorio.usil.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	docplayer.es Fuente de Internet	1%
4	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	1%
5	Submitted to Universidad Europea de Madrid Trabajo del estudiante	1%
6	cdn-links.lww.com Fuente de Internet	1%
7	1library.co Fuente de Internet	1%
8	Daniele Bissacco, Tim J. Mandigers, Laura Savaré, Maurizio Domanin et al. "Comparison	1%

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	8
II.1 Objetivo General	
II.2 Objetivos Específicos	
III. METODOLOGÍA	9
III.1 Diseño de estudio	9
III.2 Población	9
III.3 Muestra	9
III.4 Criterios de selección	9
IV.4.1 Criterios de inclusión	9
IV.4.2 Criterios de exclusión	10
III.5 Variables	10
III.6 Técnicas y procedimientos	11
III.6.1 Estrategias de búsqueda	
III.6.2 Selección formal de los resultados de la búsqueda	
III.6.3 Extracción de datos	
III.6.4 Evaluación de riesgo de sesgo.	
III.7 Consideraciones éticas	17
III.8 Plan de análisis	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSION	22
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. LIMITACIONES	37
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concordancia en la evaluación de riesgo de sesgo utilizando la herramienta Quadas-2. (Anexo 6)

Tabla 2. Descripción de las características generales de los estudios incluidos. (Anexo 9)

Tabla 3. Características de la muestra de los estudios incluidos. (Anexo 9)

Tabla 4. Características del biomarcador oral estudiado. (Anexo 9)

Tabla 5. Prueba de referencia utilizada y hallazgos de los estudios incluidos. (Anexo 9)

Tabla 6. Resumen QUADAS-2 de los estudios incluidos en la revisión sistemática. (Anexo)

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inserción de las tiras de papel en el sulcus gingival.

Figura 2. FGC recolectado en una toma de muestra.

Figura 3. Recolección de saliva entera por el método absorbente. (a) La saliva se recoge masticando un rollo de algodón. (b) El rollo de algodón que contiene saliva se coloca en el tubo. (c) Centrifugación. (d) La saliva se separa del rollo y está lista para el análisis.

Figura 4. Resultados generales de las evaluaciones de calidad de los estudios incluidos utilizando la herramienta QUADAS-2. (Anexo)

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

MP3: Falange media del tercer dedo de la mano.

CVM: Índice de maduración de vértebras cervicales.

IGF-I: siglas en inglés para el factor de crecimiento similar a la insulina I.

FGC: fluido gingival crevicular.

FA: fosfatasa alcalina.

HWM: siglas en inglés para el método de mano-muñeca.

PRISMA: siglas en inglés para la Guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas/Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses.

MeSH: Medical Subject Headings/encabezados de temas médicos.

DeCs: Descriptores en Ciencias de la Salud.

QUADAS-2: siglas en inglés para Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies.

ROC: siglas en inglés para Receptor Operating Characteristic o característica operativa del receptor.

SMI: Indicadores de maduración esquelética.

DHEA: dehidroepiandrosterona.

MALDI-TOF/MS: MALDI por sus siglas en inglés Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry, componente de la espectrometría de masas y TOF por el detector de iones que se acopla al MALDI y cuyo nombre procede también de sus siglas en inglés *Time-Of-Flight*.

TMT: siglas en inglés (tandem mass tag) para etiqueta de masa en tándem. Una etiqueta química que facilita la cuantificación e identificación múltiple basada en

espectrometría de masas de macromoléculas biológicas como proteínas, péptidos y ácidos nucleicos.

SDS-PAGE: acrónimo en inglés (sodium dodecyl sulfate polyacrilamide gel electrophoresis) para electrophoresis en gel de poliacrilamida de dodecilsulfato sódico.

ELISA: acrónimo en inglés para enzyme-linked immunosorbent assay, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.

LC-MS/MS: acrónimo en inglés (liquid chromatography-mass spectrometry) para cromatografía líquida-espectrometría de masas.

IRMA: acrónimo en inglés (quantitative immunoradiometric assay) para ensayo inmunoradiométrico.

HPA: el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal.

CS: acrónimo en inglés para cervical stage, estadio cervical.

DS: desviación estándar.

DBP: acrónimo en inglés para vitamin D binding protein, proteína de unión a vitamina D.

TF: acrónimo en inglés para serotransferrin, serotransferrina.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar sistemáticamente la literatura científica sobre biomarcadores orales para la determinación de maduración esquelética. **Materiales y métodos:** Se realizó una búsqueda electrónica en 4 bases de datos y literatura gris para obtener registros que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión. Después del proceso de selección, se llevó a cabo la extracción de datos. Posteriormente, se evaluó el riesgo de sesgo utilizando la herramienta QUADAS-2, finalmente, se determinó la viabilidad de generar un metanálisis. **Resultados:** La estrategia de búsqueda arrojó 498 artículos. Después de eliminar los duplicados y descartar aquellos que no guardaban relación directa con el tema de investigación, se evaluaron 14 artículos a texto completo y se incorporaron 3 mediante una búsqueda inversa, dando como resultado una muestra final de 16 estudios. Sólo seis cumplieron con todos los criterios de calidad metodológica, presentando un riesgo bajo. La mayoría de los estudios incluidos presentaron heterogeneidad clínica, metodológica y estadística, excepto dos, que no utilizaron pruebas estadísticas para definir la eficacia diagnóstica de los biomarcadores por lo cual no pudo realizarse el metanálisis. **Conclusiones:** Los biomarcadores orales podrían ser eficaces como método alternativo no invasivo debido a su potencial diagnóstico para determinar el pico de crecimiento puberal.

Palabras clave: biomarcadores, determinación de la edad por el esqueleto, líquido del surco gingival, saliva, ortodoncia, fosfatasa alcalina.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the relevant scientific literature on oral biomarkers for determining skeletal maturation. **Materials and methods:** An electronic search was performed in 4 databases and gray literature to obtain records that met the inclusion and exclusion criteria. After selection process, data extraction was conducted. Subsequently, the risk of bias assessment was executed using the QUADAS-2 tool and finally the feasibility of generating a meta-analysis was determined. **Results:** The search strategy yielded 498 records. After eliminating duplicates and discarding those of a different research topic, 14 full-text studies; were evaluated, and three were incorporated by reverse search, resulting in a final sample of 16 studies. Only six met all the methodological quality criteria, presenting a low risk of bias. Most of the included studies exposed clinical, methodological, and statistical heterogeneity, except for two, which did not use statistical tests to define the diagnostic efficacy of biomarkers, for which reason meta-analysis could not be performed. **Conclusions:** Oral biomarkers could be convenient as an alternative non-invasive method due to their diagnostic potential to determine the pubertal growth peak.

Keywords: Biomarkers, age determination by skeleton, saliva, gingival crevicular fluid, orthodontics, alkaline phosphatase.

PREFACIO

Después de casi 4 años y una pandemia que llegó para darnos muchas lecciones, alcancé el máximo grado académico: Doctor en Estomatología. Si bien no fue la idea de investigación con la que inicié el programa de Doctorado, pude crear una oportunidad a partir de mi plan B, una revisión sistemática que comencé a trabajar con el objetivo de conocer en qué consistía su metodología; fue una forma de reinventar la idea original. Siempre he pensado que las cosas suceden por algo; ser realista es importante. A pesar de que el panorama no sea favorable, debemos ser optimistas y perseverar para lograr nuestras metas tratando de encontrar lo positivo en situaciones negativas ya que de todo se aprende; muchas veces lo que percibimos inicialmente como un obstáculo, es en realidad una señal que cambia nuestro rumbo y nos dirige hacia el camino correcto.

I. INTRODUCCIÓN

El momento adecuado para el tratamiento ortopédico de las disarmonías dentoesqueléticas en pacientes en crecimiento juega un papel importante en los resultados.¹⁻⁴ Estimar la cantidad de crecimiento potencial y el estado de maduración esquelética, será de ayuda para que el ortodoncista tome decisiones clínicas dependiendo del estado puberal del paciente. De esta forma, podría formular los objetivos ideales y planificar el tratamiento ortopédico.⁵ La cantidad de crecimiento inducido por dispositivos ortopédicos o funcionales parece ser significativamente mayor cuando el tratamiento se realiza en la fase de crecimiento pre-puberal o durante el pico máximo de crecimiento puberal. Por lo tanto, la correcta identificación de las diferentes fases de maduración esquelética representa un tema crucial en el diagnóstico ortodóntico y la planificación del tratamiento.^{1,2}

El inicio del tratamiento ortopédico se basa principalmente en la evaluación de la edad esquelética del paciente. Existen datos controversiales en cuanto a la validez de la edad cronológica para la determinación de la maduración esquelética, aunque Safavi *et al.* reportaron una asociación positiva entre la edad y las etapas de crecimiento en su población de estudio (n=196), varios autores coinciden en que la edad no es un indicador confiable debido a la variación del momento de crecimiento acelerado entre diferentes individuos.³ La evaluación del crecimiento y la maduración esquelética involucra el uso de indicadores biológicos que incluyen el aumento de la altura del cuerpo⁶, el desarrollo y erupción dental ⁷⁻⁹,

maduración vertebral cervical^{10,11} y la maduración esquelética de la mano y la muñeca.^{12,13}

Se considera que Ranke (1896) fue el primero en estudiar el progreso del desarrollo esquelético mediante radiografías de muñeca, posteriormente, autores como Todd TW (1931), Greulich y Pyle (1959), Julius Singer (1980)¹⁴ propusieron métodos basados en este tipo de radiografías.

Fishman (1982)¹⁵ evaluó indicadores de maduración esquelética en radiografías de mano y muñeca (carpales) utilizando cuatro etapas de maduración ósea en seis sitios anatómicos, convirtiéndose en uno de los métodos más utilizados. Ese mismo año, Hagg y Taranger (1982)¹⁵ introdujeron un método desarrollado en radiografías carpales para evaluar las etapas de osificación de la falange media del tercer dedo de la mano (MP3).

En 1972, Lamparski¹⁶ encontró que las vértebras cervicales representaban un indicador confiable y válido para evaluar la edad esquelética. Además, estableció una serie de estándares para evaluarla en ambos sexos, destacando seis etapas de maduración. Años después, O'Reilly y Yanniello (1988) informaron que existía una correlación entre las etapas de maduración de las vértebras cervicales de Lamparski y las etapas de crecimiento mandibular que caracterizan a la pubertad.¹⁷

Hassel y Farman (1995) crearon un nuevo índice de maduración de vértebras cervicales (CVM), que evaluó los perfiles laterales visibles de la segunda, tercera y cuarta vértebra, estableciendo seis categorías. Este método fue desarrollado para

superar la barrera provocada por el uso del collarin de plomo para proteger la glándula tiroides en el momento de la toma radiográfica. Las etapas mencionadas fueron similares a las identificadas por Lamparski.¹⁸

Bacetti *et al.* (2002) proporcionaron una versión mejorada del método de maduración vertebral cervical. Este análisis consistió en la valoración visual y cefalométrica de las características morfológicas de la segunda, tercera y cuarta vértebra cervical en seis observaciones cefalométricas consecutivas. Este método presenta seis etapas de maduración vertebral cervical, de la etapa I a la VI (CVMS). La ventaja de esta nueva versión radica en que la madurez esquelética mandibular puede evaluarse en un solo cefalograma mediante el análisis de las vértebras cervicales que son visibles incluso cuando se usa un collar protector contra la radiación.¹¹

En la medicina contemporánea, los biomarcadores se utilizan como indicador de una enfermedad particular o del estado fisiológico de un organismo; representan un medio para examinar la función de los órganos y otros aspectos de la salud. Los biomarcadores indican procesos normales o patológicos en el cuerpo al detectar y medir ciertos parámetros. Estos marcadores biológicos pueden ser enzimas, hormonas, células específicas, moléculas, genes, productos génicos, etc. Recientemente, se ha propuesto su uso debido al potencial diagnóstico para la evaluación de la maduración esquelética, ya que constituyen verdaderos indicadores pertenecientes a la fisiología del paciente, mientras que los métodos radiográficos tradicionales son de naturaleza morfológica, la técnica es sensible

(errores, magnificación de la imagen), son subjetivos y requieren de exposición a radiaciones ionizantes.¹⁹

Ishaq *et al.* (2012) evaluaron la aplicabilidad del nivel en sangre del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I) como indicador de maduración al correlacionarlo con el índice de maduración vertebral cervical. Se tomó una radiografía cefalométrica lateral y una muestra de sangre de 120 sujetos, concluyendo que el nivel sérico de IGF-I es un indicador de maduración confiable que podría aplicarse en el diagnóstico de ortodoncia.²⁰

Ese mismo año Perinetti *et al.* estudiaron el contenido proteico del fluido gingival crevicular (FGC) y la actividad de la fosfatasa alcalina (FA), así como su correlación con las etapas de maduración esquelética. El contenido total de proteínas del FGC fue similar entre las diferentes fases de crecimiento. Por el contrario, la actividad FA total mostró un pico para la fase de crecimiento puberal (para muestras maxilares y mandibulares 73.8 y 78.9 µg/muestra, respectivamente). Los resultados demostraron que el contenido total de proteína FGC no es sensible a la fase de crecimiento (para muestras en el maxilar superior: fase pre-puberal 1.0; puberal 1.7 y post-puberal 1.0 µg/muestra; para muestras mandibulares fase pre-puberal y puberal 1.2 y fase post-puberal 1.1 µg/muestra); sin embargo, la actividad de la FA tiene potencial como ayuda diagnóstica para la identificación de la fase de crecimiento puberal.⁴

Los primeros estudios identificaron y evaluaron biomarcadores proteicos, presentes en muestras de sangre o séricas, que podrían estar correlacionados con la maduración hormonal y el crecimiento.²¹ Pero como todo procedimiento

invasivo, muchas veces era objetado por los pacientes. Por este motivo, en la búsqueda de procedimientos con mayor aceptabilidad, los investigadores empezaron a estudiar biomarcadores orales presentes en muestras de saliva y FGC.²²

El FGC se describió por primera vez en 1899 como un líquido que surge entre la superficie del diente y el tegumento epitelial. Es una excelente fuente para analizar biomarcadores dentales. El método tradicional (Ver Anexo 1) implica el uso de tiras de papel de filtro absorbente que se insertan desde la entrada del sulcus a la base de la bolsa, hasta sentir la mínima resistencia. Las ventajas de esta técnica incluyen su rapidez y facilidad, la capacidad de aplicarla en sitios individuales y causar un trauma mínimo cuando se emplea correctamente. No obstante, algunos protocolos de recolección son considerados tediosos, la técnica es sensible y depende de la especificidad del sitio de toma de muestra.²²

Por otro lado, la saliva es un espejo del cuerpo, refleja el estado normal o de enfermedad, por lo que su uso como fluido de diagnóstico presenta muchas ventajas sobre el suero. La saliva entera se puede recolectar de forma rápida y no invasiva, por personas sin entrenamiento, incluido el paciente. Es fácil de almacenar, no se coagula y dado que no requiere el uso de agujas para su recolección, no sólo es más cómodo para los pacientes sino que además reduce los niveles de ansiedad del paciente. Los métodos de recolección de saliva se clasifican según el uso de estímulos.¹⁹ La saliva estimulada se recolecta al inducir la acción masticatoria sobre cera de parafina o la goma de mascar (es decir, método absorbente; ver Anexo 1) para aumentar la tasa de flujo salival. Este

método obviamente afecta la cantidad y el pH de la saliva, y generalmente solo se usa en pacientes que tienen dificultad para producir suficiente saliva. La saliva no estimulada se recolecta sin facilitación exógena, y su velocidad de flujo se ve afectada principalmente por el grado de hidratación. Los tres enfoques más comunes para la recolección de saliva no estimulada son los métodos de drenaje, escupir y succión. Independientemente del método utilizado, se debe instruir a los sujetos para que limpien la cavidad oral antes de la recolección enjuagándose bien la boca con agua para evitar contaminantes.²³ Los componentes salivales para cualquier diagnóstico incluyen enzimas, inmunoglobulinas, hormonas, bacterias y productos bacterianos, iones, fibroblastos y compuestos volátiles, entre otros.¹⁹ Algunas desventajas del método incluyen la contaminación de las muestras (comida, bebida, bacterias, etc), el tiempo de toma en algunos pacientes, la baja concentración de analitos y procedimientos adicionales para solubilizar la muestra.²³

Finalmente, los métodos morfológico-radiográficos no representan la etapa exacta de maduración esquelética, que los métodos bioquímicos basados en el uso de biomarcadores podrían predecir o identificar con mayor precisión. Si los biomarcadores llegaran a validarse como herramienta de evaluación para la determinación del estado de maduración esquelética, podrían servir para identificar el el pico de crecimiento puberal del paciente de forma fiable, reemplazando a los métodos radiográficos. No obstante, la mayoría de estudios son recientes, por lo que no existe consenso respecto a biomarcadores orales validados y la información se encuentra dispersa y por ello requerirían de grandes tamaños muestrales para una validación dentro de una determinada población.

Este estudio posee una justificación teórico-científica y clínica. Desde el punto de vista teórico-científico; cabe señalar que en la actualidad no contamos con estudios publicados en Perú en donde se evalúe el uso de biomarcadores orales para determinar el estadio de maduración esquelética, por lo que esta información servirá como punto de partida para nuevas líneas de investigación a futuro. Además, se podrán comparar los resultados con estudios realizados en otros países. La justificación clínica radica en que la información obtenida permitirá la implementación de nuevos protocolos clínicos de diagnóstico y monitoreo para pacientes en crecimiento que requieran de tratamiento ortopédico, limitando la exposición a radiaciones ionizantes y brindando mayor precisión en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Esta revisión sistemática tuvo como objetivo evaluar críticamente la literatura científica disponible sobre biomarcadores orales para la determinación de maduración esquelética.

Pregunta de investigación

¿Se pueden utilizar eficazmente los biomarcadores orales como una alternativa diagnóstica para determinar el estado de maduración esquelética?

II. OBJETIVOS

II.1 Objetivo General

Evaluar sistemáticamente la eficacia diagnóstica de los biomarcadores orales en la determinación de la maduración esquelética.

II.2 Objetivos Específicos

II.2.1 Determinar si los biomarcadores pueden ser utilizados como alternativa diagnóstica para la evaluación de maduración esquelética.

II.2.2 Determinar si existen diferencias entre la concentración y/o actividad de los biomarcadores orales en los diferentes estadios de maduración esquelética.

II.2.3 Determinar la concentración y/o actividad de los biomarcadores orales en el pico de crecimiento puberal.

II.2.4 Determinar las tendencias de variación según el sexo.

III. METODOLOGÍA

III.1 Diseño del estudio

Revisión sistemática de tipo diagnóstica.

III.2 Población

Estudios que describan el uso de biomarcadores orales para la determinación de maduración esquelética.

III.3 Muestra

El tamaño final de la muestra (n=16) se obtuvo mediante la aplicación de la estrategia de búsqueda estructurada.

III.4 Criterios de selección

III.4.1 Criterios de inclusión

- Estudios redactados en inglés, español o portugués.
- Estudios en humanos con buen estado general, ausencia de enfermedades sistémicas, sin alteraciones de crecimiento, síndromes craneofaciales, enfermedades óseas o deformidades, problemas de sangrado, antecedente de trauma o injurias en las regiones facial, mano o muñeca, sin medicación.
- Estudios que evalúen la edad esquelética o fases de esta (pre-puberal, puberal o post-puberal), niveles de biomarcadores orales en relación con los indicadores de maduración esquelética validados (Fishman, método de mano-muñeca HWM, método de maduración vertebral cervical CVM), que involucren la recolección de saliva o FGC.

- Estudios que evalúen maduración esquelética en radiografías (cefalométricas, de muñeca), estudios que utilicen los indicadores de maduración esquelética establecidos.

III.4.2 Criterios de exclusión

- Estudios en pacientes que estén cursando un tratamiento ortopédico o de Ortodoncia.
- Estudios que evalúen la edad esquelética o fases de esta (pre-puberal, puberal o post-puberal) mediante niveles de biomarcadores en fluidos corporales.

III.5 Variables

Ver cuadro de operacionalización de variables. (Anexo 2)

III.5.1 Variable independiente

- Maduración esquelética: variable cualitativa medida en escala ordinal; se define conceptualmente como el grado de desarrollo de osificación de un hueso y operacionalmente como el grado de desarrollo de las estructuras óseas evaluadas (vértebras cervicales, huesos de mano y muñeca). El indicador fue la etapa de maduración esquelética según el método utilizado para su determinación (CVM de Baccetti *et al.*, CVM de Hassel y Farman, Hagg y Taranger, QCVM de Chen *et al.*, etc) y sus valores fueron los estadios utilizados en cada método o índice.²⁴ (Anexo 3)

III.5.2 Variables dependiente

- Biomarcador oral: variable cuantitativa medida en escala de razón; se define conceptualmente como una especie molecular que está presente en las muestras de un sujeto con una determinada enfermedad o condición²³ y

operacionalmente como el recuento de biomarcadores orales en peso. El indicador fue el equipo utilizado para su cuantificación (ej: lector de microplacas), su dimensión numérica y sus valores fueron expresados en pg/mL, UI/L, mcg/dL, mU/muestra, U/L, ng/ml o ng/min.

III.5.3 Covariables

- Sexo: variable cualitativa medida en escala nominal; se define conceptualmente como la característica biológica que denota el sexo masculino o femenino. El indicador fue el dato consiguando en el artículo y sus valores masculino o femenino.
- Edad: variable cuantitativa discreta; se define conceptualmente como el tiempo que ha vivido una persona o ciertos animales o vegetales y operacionalmente como el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio medido en años. Su indicador fue la historia clínica y sus valores los años cumplidos.

III.6 Técnicas y procedimientos

Este estudio se realizó de acuerdo al Manual de Revisiones Sistemáticas de validez de pruebas diagnósticas de la Biblioteca de la Colaboración Cochrane y la declaración PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses)^{25,26}. Asimismo, fue inscrito en el Registro Prospectivo Internacional de Revisiones Sistemáticas, más conocido como PROSPERO, Universidad de York-Reino Unido (número de protocolo: CRD42020155540).

Al ser una revisión sistemática de tipo diagnóstica, la pregunta PICO (Population, Index test, Comparator test, Test accuracy (outcome)) que le corresponde es la siguiente:

(Measurement, Bone Age[Title/Abstract])) OR (Measurements, Bone Age[Title/Abstract])) OR (Skeletal Age Measurement[Title/Abstract])) OR (Age Measurement, Skeletal[Title/Abstract])) OR (Age Measurements, Skeletal[Title/Abstract])) OR (Measurement, Skeletal Age[Title/Abstract])) OR (Measurements, Skeletal Age[Title/Abstract])) OR (Skeletal Age Measurements[Title/Abstract])). Para el resto de bases de datos, la estrategia de búsqueda se modificó utilizando estrategias booleanas apropiadas. (Anexo 4)

III.6.2 Selección formal de los resultados de la búsqueda frente a los criterios de elegibilidad

Dos revisores examinaron de forma independiente todos los títulos y resúmenes para excluir documentos irrelevantes. Luego, se obtuvieron los textos completos para una decisión final aplicando los criterios de inclusión y exclusión. Los desacuerdos se resolvieron por consenso, de ser necesario, un tercer revisor participó en la discusión hasta llegar a un acuerdo. Los estudios que cumplieron con los criterios de inclusión fueron aceptados para la extracción de datos y la evaluación del riesgo de sesgo.

La estrategia de búsqueda arrojó 498 registros. Después de eliminar los duplicados, se incluyeron 466 artículos para la lectura de títulos y resúmenes; 452 fueron descartados debido a que no guardaban relación con el tema de investigación, por lo que se evaluaron 14 artículos a texto completo para definir su elegibilidad. Luego de leerlos, los revisores excluyeron una publicación por incluir biomarcadores en otros fluidos corporales. Finalmente, se identificaron 3 estudios a partir de una búsqueda inversa (en las citas de las publicaciones

seleccionadas), dando como resultado un número total de 16 estudios incluidos en la revisión sistemática. La selección a través de las diferentes fases de la revisión sistemática se presenta mediante un diagrama de flujo, según lo establecido en la declaración PRISMA²⁶, en donde se muestra el número de registros identificados, incluidos y excluidos, así como el motivo de dichas exclusiones. (Anexo 5)

III.6.3 Extracción de datos

Dos revisores (AC y AM) extrajeron los siguientes datos de forma independiente por duplicado: *características del estudio* (autor, año, diseño, país, objetivo); *características de la muestra* (edad, sexo, número), *características de los biomarcadores orales* (nombre, tipo, técnica de muestreo, nivel de expresión, metodología de análisis); *comparador*: correlación con indicadores radiográficos de maduración esquelética confiables validados (Índice de Fishman, CVMI, Hagg y Taranger, etc.) basados en radiografías (mano-muñeca, cefalogramas laterales, falange del tercer dedo); *datos de resultados*: nivel o actividad de biomarcadores que se correlacionan con diferentes estadios de maduración esquelética; *técnicas estadísticas utilizadas* (diferencias entre grupos, correlación, precisión diagnóstica); *conclusiones e implicancias clínicas* derivadas del estudio. Adicionalmente, se generó una matriz de recolección de datos (Microsoft Excel para Mac versión 16.16.17) tanto para el contenido descriptivo como para la evaluación de la calidad metodológica.

III.6.4 Evaluación de riesgo de sesgo

El riesgo de sesgo se determinó mediante la herramienta Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2) desarrollada por Whiting et al. en el año 2011, para la evaluación de la calidad de estudios primarios de precisión

diagnóstica.^{28,29} El instrumento consta de cuatro dominios: la selección de pacientes, la prueba índice, la prueba de referencia y, finalmente, el flujo de los pacientes a través del estudio y los tiempos de realización de la prueba índice y la de referencia (flujo y tiempos). Cada dominio se evalúa en términos de su riesgo de sesgo, y en los primeros tres dominios se consideran además las preocupaciones acerca de su aplicabilidad. La herramienta incluye preguntas orientadoras para facilitar la valoración de los aspectos mencionados. Sus respuestas deben ser "sí", "no" o "incierto" y están formuladas de tal forma que la respuesta "sí" indica un bajo riesgo de sesgo. El riesgo de sesgo se juzga como "bajo", "alto" o "incierto". Si las respuestas a todas las preguntas orientadoras de un dominio son "sí", entonces la probabilidad de sesgo puede ser interpretada como "baja". Si se contesta "no" a cualquier pregunta orientadora, existe la posibilidad de sesgo y debería calificarse como "alto". La categoría de "incierto" debe utilizarse únicamente cuando los datos son insuficientes para emitir un juicio. Las secciones de aplicabilidad están estructuradas de una manera similar a las de sesgo pero no incluyen preguntas orientadoras. Los revisores registran la información del juicio de aplicabilidad y luego evalúan si el objetivo del estudio coincide con la pregunta de la revisión. La interpretación acerca de la aplicabilidad es calificada como preocupación "baja", "alta" o "incierto". Los juicios sobre aplicabilidad deben referirse a la fase 1, donde se registró la pregunta de la revisión. La categoría de "incierto" se debe utilizar únicamente cuando se presentan datos insuficientes.²⁹ (Anexo 6)

La evaluación de riesgo de sesgo fue realizada por pares de forma independiente; se llevo a cabo una calibración previa hasta lograr un nivel de concordancia

mínimo de 0.8 (Kappa de Cohen). Los resultados obtenidos por los revisores se observan en el Anexo 7: Tabla 1. En caso de falta de consenso, la decisión fue definida por un tercer revisor.

III.7 Consideraciones éticas

Los procedimientos fueron realizados de acuerdo con los lineamientos científicos y éticos, según el protocolo institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El estudio se ejecutó después de ser aprobado por la Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, al ser una revisión sistemática fue exonerado de revisión por el Comité Institucional de Ética. Asimismo, fue registrado en la Escuela de Posgrado Victor Alzamora Castro (EPGVAC registro: Dr-00809-2022). (Anexo 8)

III.8 Plan de análisis

Debido a que los estudios incluidos en la revisión con bajo riesgo de sesgo no fueron metodológicamente homogéneos ni expresaban sus resultados en términos de sensibilidad y especificidad o cocientes de probabilidad positivos y negativos, no se pudo realizar un metanálisis.

IV. RESULTADOS

Características de los estudios incluidos

Se recopilaron datos de los registros incluidos en relación a las características del estudio, de la muestra y de los biomarcadores orales; su correlación con indicadores radiográficos de maduración esquelética confiables validados (prueba de referencia); los resultados sobre el nivel o actividad de biomarcadores que se correlacionan con diferentes estadios de maduración esquelética; el valor de p y por último, las conclusiones y/o limitaciones de los estudios.

De los dieciséis estudios seleccionados, seis fueron ejecutados en la India^{2,5,19,30,38,39}, uno en Estados Unidos³, tres en Indonesia³¹⁻³³, tres en China³⁴⁻³⁶ y tres en Italia^{1,4,37}. Los estudios fueron publicados en inglés entre el año 2011 y 2021. En relación al diseño de estudio, trece fueron observacionales transversales^{2,3,5,19,30-36,38,39}, dos estudios transversales a doble ciego^{1,4} y uno fue un estudio prospectivo a doble ciego³⁷. En cuanto a las características de las muestras, la edad mínima reportada fue de seis años^{36,38} y la máxima de veintitrés años y tres meses^{34,35}; el menor número muestral fue de veintisiete⁵ y el mayor de ciento treinta y seis^{32,33}. La distribución de la muestra por sexos fue equitativa solo en cuatro estudios^{19,30,34,35}, dos tuvieron muestras únicamente de sexo femenino^{5,31}, y dos no especificaron el sexo de los participantes, pero los subdividieron en grupos de igual número^{38,39}. (Anexo 9: Tabla 2 y 3)

Los biomarcadores orales evaluados fueron: la FA salival^{3,19,31,39}, FA en FGC^{1,4,37}, FA específica ósea salival^{32,33,38}, la dehidroepiandrosterona (DHEA) salival³⁰,

IGF-I², serotransferrina y proteína de unión a vitamina D en FGC³⁶, péptidos en el FGC (1660.2 Da, 1783.0 Da, 2912.5 Da, 4178.6 Da, 5064.9 Da y 6108.9)³⁴, contenido proteico del FGC^{4,35} y cortisol salival⁵. Estos fueron principalmente proteínas, hormonas y glucocorticoides. La técnica de muestreo más utilizada fue la de saliva entera no estimulada^{3,5,30,31,32,33,38,39}, seguida de la toma de muestra de FGC con tiras o conos de papel^{1,4,34-37} y la toma de muestra de saliva no estimulada mediante una copa de Lashley²; un estudio no indicó como realizó la toma de muestra de saliva.¹⁹ El nivel de expresión de los biomarcadores fue presentado en términos de concentraciones. Los diferentes análisis de laboratorio empleados para el procesamiento y medición de concentraciones de los biomarcadores, así como, las características de los biomarcadores evaluados se observan en el Anexo 9: Tabla 4.

Por último, las pruebas de referencia con las que se comparó el potencial diagnóstico de los biomarcadores orales, es decir, los métodos de determinación de maduración esquelética validados basados en radiografías, fueron el CVM de Baccetti et al.^{1,3-5,30-37}, HWM de Hagg y Taranger^{19,38,39}, QCVM de Chen et al.² y CVM de Hassel y Farman³⁹. Los resultados sobre los niveles y/o actividad de los biomarcadores y su correlación con los diferentes estadios de maduración esquelética, el valor de p, las conclusiones y las limitaciones de las investigaciones se observan en la Tabla 5 (Anexo 9). En casi todos los estudios se observó una mayor concentración del biomarcador oral o de su actividad en la etapa puberal, así como una correlación con los estadios de maduración esquelética de los métodos radiográficos validados en los que se esperaría el pico máximo de crecimiento, excepto en el estudio de Wijaya et al.³². Por lo que,

concluyen que los biomarcadores orales podrían ser útiles como método alternativo no invasivo para determinar los estadios de maduración esquelética en pacientes en crecimiento que deseen iniciar un tratamiento ortopédico debido a su potencial diagnóstico para determinar la fase de crecimiento puberal (pico máximo de crecimiento).

Riesgo de sesgo y evaluación de la aplicabilidad

El análisis QUADAS-2 de los 16 estudios incluidos se resume en la Tabla 6 (Ver Anexo 10). Cinco estudios cumplieron con todos los criterios de calidad metodológica y fueron calificados con un riesgo bajo, según esta herramienta.^{1,2,32,37,38} En cuanto al primer dominio de riesgo de sesgo, selección de pacientes, catorce estudios fueron considerados de riesgo bajo y los dos restantes fueron considerados de riesgo alto debido a que presentaban un número de muestra reducido ($n=27$)⁵ y el rango de edad fue muy amplio (7-23 años)³. Para el dominio de prueba de índice, solo seis estudios cumplieron con los criterios^{1,2,17,32,36,38} mencionando que los investigadores interpretaron los resultados de la actividad o concentraciones de biomarcadores orales sin tener conocimiento de los resultados de la prueba de referencia, mientras que, para los estudios clasificados con un riesgo incierto, esa información no pudo ser confirmada. En cuanto al dominio de prueba de referencia, dos artículos fueron considerados de riesgo incierto ya sea porque reportaron una baja confiabilidad inter examinador³ o por no indicar el motivo por el que decidieron agrupar los estadios de maduración esquelética por pares.³¹ Por último, para el cuarto dominio

de riesgo de sesgo, flujo y tiempos, todos los estudios fueron catalogados con un riesgo bajo.

En cuanto a la aplicabilidad, la selección de pacientes en quince estudios fue clasificada con riesgo bajo y un estudio³ fue de riesgo incierto ya que no se pudo confirmar por qué se eligió un rango de edad tan amplio para la muestra (7-23 años) ni cuánto tiempo podría llevar pasar de un estadio a otro en CVM, tomando en cuenta que utilizaron radiografías cefalométricas con una antigüedad no mayor de seis meses. Para el ítem prueba de referencia sobre la aplicabilidad, un estudio fue clasificado con riesgo incierto pues no se pudo confirmar cual era la influencia del tipo de maloclusión sobre la maduración esquelética³⁶, y por último, en relación a la aplicabilidad de la prueba de referencia todos los estudios fueron clasificados con un riesgo bajo. La evaluación QUADAS-2 se ilustra en la Figura 1. (Ver Anexo 10)

V. DISCUSION

La determinación de la maduración esquelética juega un papel clave en el diagnóstico y la planificación del tratamiento ortopédico en Ortodoncia. En muchos casos, la identificación del pico máximo de crecimiento afecta su eficiencia y eficacia, por lo que su precisión es fundamental para modificar el crecimiento de los huesos maxilares.³

Por lo general, los métodos radiográficos son los más utilizados para evaluar la maduración esquelética y determinar el momento de tratamiento más adecuado. Sin embargo, el HWM tiene sus limitaciones, ya que los pacientes son sometidos a una exposición adicional a la radiación mientras que el CVM se puede aplicar en una radiografía lateral estricta, que es parte del examen de rutina previo al tratamiento ortodóntico.

Debido a la naturaleza cualitativa del método CVM, los investigadores han estado tratando de explorar nuevos indicadores cuantitativos como alternativas para predecir el pico de crecimiento puberal, entre los cuales destacan los biomarcadores en fluidos orales como el FGC y la saliva.³⁶ Al ser una línea de investigación en desarrollo, la información se encuentra dispersa en diversos estudios, por lo que esta revisión sistemática tuvo como objetivo evaluar críticamente la literatura científica disponible sobre biomarcadores orales para la determinación de maduración esquelética.

El tamaño de la muestra de esta revisión sistemática diagnóstica incluyó un total de dieciséis estudios que fueron ejecutados en diferentes países entre los años

2011 y 2021. Al analizar sus características generales observamos diferencias en cuanto al diseño, el tamaño de la muestra, el rango de edad de los participantes y su distribución según el sexo; que podrían haber influido en los resultados obtenidos. Específicamente, con respecto a la distribución de la muestra por sexos, los trabajos de Sowmya et al.⁵ e Irham et al.³¹ tuvieron muestras únicamente de sexo femenino mientras que Sangeeth³⁰ y Anbuselvan³⁹ no especificaron el sexo de los participantes, pero los subdividieron en grupos de igual número. En este aspecto, Tarvade et al. (2015) realizaron un estudio para correlacionar los niveles de FA salival con el HWM de Hagg y Taranger, en donde la etapa FG indica la aceleración de la curva del pico de crecimiento puberal y la etapa G el estadio de pico máximo de crecimiento puberal, que disminuye en el estadio H que corresponde a la desaceleración de la curva del pico de crecimiento puberal. Cuando los niveles salivales de FA se compararon con las etapas de maduración de MP3, encontraron que los valores máximos para ambos sexos se correlacionaron con la etapa G de MP3 a la edad de 13 años, lo cual confirma una fuerte asociación de los niveles de FA con el pico de crecimiento.¹⁹ Alhazmi et al. (2017) encontraron diferencias en la actividad de la FA salival entre hombres y mujeres. La actividad promedio de este biomarcador fue mayor para el sexo masculino (0,70 mU/mg) en comparación con la del sexo femenino (0,48 mU/mg). El aumento en la actividad enzimática pudo deberse a que los hombres tienen un mayor potencial de crecimiento y la duración del pico de crecimiento es más prolongada, lo cual podría explicar el aumento de la actividad enzimática en el sexo masculino.³ Ese mismo año, Wijaya et al.³² hallaron que el dimorfismo sexual también fue evidente en los sujetos de estudio,

ya que las mujeres alcanzaban antes la fase de la pubertad en comparación con los hombres, por lo que el sexo de los participantes en los estudios debería ser una covariable a considerar para determinar su influencia en las concentraciones de los biomarcadores orales según el estadio de maduración esquelética.

Los biomarcadores orales con potencial diagnóstico para la determinación de maduración esquelética seleccionados en los estudios fueron la FA salival^{3,19,31,39}, FA en FGC^{1,4,37}, FA específica ósea salival^{32,33,38}, la dehidroepiandrosterona (DHEA) salival³⁰, IGF-I², serotransferrina y proteína de unión a vitamina D en FGC³⁶, péptidos en el FGC (1660.2 Da, 1783.0 Da, 2912.5 Da, 4178.6 Da, 5064.9 Da y 6108.9)³⁴, contenido proteico del FGC^{4,35} y cortisol salival⁵.

La FA es una enzima que juega un papel vital en el metabolismo óseo, se encuentra en la membrana celular de los leucocitos polimorfonucleares, osteoblastos, macrófagos y fibroblastos dentro del área del periodonto; y cataliza la hidrólisis de ésteres de fosfato inorgánico. Asimismo, es esencial para la mineralización ósea, ya que interviene en el proceso favoreciendo la precipitación del fosfato cálcico en los huesos, considerándose un biomarcador de formación ósea con potencial diagnóstico en Periodoncia y Ortodoncia.^{39,41} En condiciones fisiológicas, la FA ósea aumenta en los niños durante las etapas de crecimiento como traducción de la actividad osteoblástica del hueso. En la población pediátrica, la FA sérica total está constituida en un 85% por la fracción ósea y en un 15% por la hepática. Así, en lactantes menores de 6 meses, especialmente en prematuros, pueden encontrarse cifras que triplican los valores normales de un adulto, mientras que a los 2 años de edad las duplican. En la etapa prepuberal se

produce otro incremento, mas precoz y menos intenso en las niñas, y al final de la pubertad se alcanzan los valores del adulto.³⁹

La FA específica ósea es un biomarcador de formación ósea específico y sensible debido a su función en el proceso de mineralización. Los niveles detectados en la saliva humana se correlacionan significativamente con los niveles séricos. En la pubertad, sus niveles aumentan considerablemente, lo que implica que este biomarcador es un indicador del crecimiento esquelético.^{32,33}

La pubertad es un evento neuroendocrino organizado por el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA). Las glándulas suprarrenales secretan esteroides C19 como la dehidroepiandrosterona (DHEA) y dehidroepiandrosterona-sulfato (DHEA-S), los cuales actúan como precursores de los andrógenos, testosterona y dihidrotestosterona, al estimular la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina del hipotálamo, que a su vez estimula la secreción de gonadotropinas por parte de la hipófisis. La DHEA se libera a la circulación en forma sulfatada: DHEA-S, que constituye el noventa y nueve por ciento de la DHEA circulante. La producción de DHEA(S) se inicia en las glándulas suprarrenales fetales y continúa durante el embarazo. Esto da como resultado altas concentraciones de DHEA(S) en el recién nacido. Al año de edad, las glándulas suprarrenales fetales son reemplazadas por corteza suprarrenal definitiva que produce una pequeña cantidad de DHEA(S). Así, la concentración declina durante los primeros meses de vida y se mantiene baja hasta el inicio de la producción de DHEA(S) de la zona reticularis de la corteza suprarrenal que comienza alrededor de los seis años y aumentan gradualmente alcanzando el pico alrededor de los 20 a

30 años. Dado que estas hormonas juegan un papel importante en el inicio de la pubertad, resulta apropiado medir el nivel de este biomarcador para evaluar el pico de crecimiento puberal.³⁰

El IGF-I se detectó por primera vez a nivel sérico y es un factor circulante dependiente de la hormona de crecimiento, cuyo nivel se correlaciona con la madurez sexual. El IGF-I representa una herramienta de diagnóstico útil para evaluar el crecimiento debido a que sus niveles no fluctúan a lo largo del día a diferencia de los niveles de la hormona de crecimiento. Se ha demostrado que el cóndilo responde y es más sensible a IGF-I, pudiendo ser medido en suero, orina y saliva.²

La serotransferrina se sintetiza en el hígado y puede unirse y transportar iones de hierro entre los sitios de absorción, almacenamiento y uso. Anttila et al. informaron que la serotransferrina sérica fue significativamente más alta en púberes. Misaki et al. también encontraron que en varones adolescentes, la tasa de crecimiento en altura se correlacionó significativamente con sus niveles séricos. Sin embargo, la relación entre los niveles de serotransferrina en FGC y la etapa de pubertad no es del todo clara. La proteína de unión a vitamina D transporta entre el 80% y el 90 % de la 25-hidroxivitamina D y la 1,25-dihidroxivitamina D sérica y puede promover la absorción intestinal de calcio, regular la maduración y la mineralización del hueso. Un estudio demostró que los niveles de 1,25-dihidroxivitamina alcanzan su punto máximo durante la pubertad para satisfacer la alta demanda de calcio en esta fase crítica del desarrollo óseo.³⁶

El cortisol es un glucocorticoide producido y secretado por la corteza suprarrenal que es regulado por el eje HPA. El cortisol circula en el plasma principalmente unido a la globulina o albúmina. Se encuentran trazas de cortisol en la saliva debido a que presenta un bajo peso molecular y es de naturaleza lipofílica. Estudios han demostrado que el cortisol tiene la capacidad de modular la acción de la hormona de crecimiento a nivel celular, por la expresión de su receptor. En un estudio in vivo en donde evaluaron la relación entre la hormona de crecimiento y la secreción de cortisol en niños, los resultados mostraron que existía una correlación positiva.⁵

La identificación del perfil completo de proteínas presentes en el FGC aún no se ha esclarecido y poco se sabe sobre los biomarcadores relacionados con el crecimiento puberal. Es por ello que con la finalidad de seleccionar biomarcadores candidatos a indicadores de crecimiento puberal, muchos estudios optan por identificar proteínas expresadas diferencialmente entre grupos puberales y post-puberales.³⁵ Todos los estudios fundamentan la elección de cada uno de los biomarcadores con potencial diagnóstico para la determinación de la maduración esquelética con una justificación biológica, ya que estudios previos evidencian que sus concentraciones podrían fluctuar durante las diferentes fase de crecimiento.

La técnica de muestreo más utilizada fue la de saliva entera no estimulada^{3,5,30,31,32,33,38,39}, seguida de la toma de muestra de FGC^{1,4,34-37} y la toma de muestra de saliva no estimulada mediante una copa de Lashley²; asimismo, un estudio no indicó como realizó la toma de muestra de saliva.¹⁹ En tal sentido, la

toma de muestra de saliva entera no estimulada parece ser la de mayor preferencia debido a que es considerada menos invasiva en comparación con la del FGC, a pesar de que ambas técnicas han sido estandarizadas. Los niveles salivales de ciertos biomarcadores pueden ser considerados bajos en comparación con los niveles séricos y algunos aducen que las muestras de FGC y saliva puede contaminarse con sangre generando lecturas inexactas.^{42,43} Sin embargo, particularmente para las muestras de saliva, el uso de una copa Lashley modificada², permite que sea recolectada pura, directamente de la glándula parótida y, en la actualidad, se cuenta con equipos que pueden procesar las muestras detectando niveles muy bajos de biomarcadores.

Como se mencionó anteriormente, el nivel de expresión de los biomarcadores orales fue presentado en términos de concentraciones. Los diferentes análisis de laboratorio empleados para el procesamiento y medición de dichos niveles se observan en la Tabla 4. A pesar de que las técnicas de laboratorio empleadas no fueron las mismas, todos los equipos lograron identificar y medir las concentraciones de los biomarcadores orales estudiados. En relación a las unidades de medida, estas podrían uniformizarse para obtener resultados homogéneos que permitan ser comparados, o en todo caso podrían convertirse a una determinada unidad. Se espera que surjan nuevas tecnologías con mayor sensibilidad para fines de detección de biomarcadores orales en un futuro próximo. Además, la accesibilidad, disponibilidad y reducción en los costos de equipos y reactivos involucrados en estas técnicas altamente sensibles, permitirá la detección de cantidades aún más pequeñas de analitos en muestras de saliva y FGC para un diagnóstico preciso.

Por otra parte, las pruebas de referencia con las que se comparó el potencial diagnóstico de los biomarcadores orales fueron el CVM de Baccetti et al.^{1,3-5,30-37}, HWM de Hagg y Taranger^{19,38,39}, QCVM de Chen et al.² y CVM de Hassel y Farman³⁹ (Anexo 9: Tabla 4). El tema de la reproducibilidad del CVM es controversial en la literatura. Los trabajos de Gabriel et al.⁴⁴ y Nestman et al.⁴⁵ refirieron una reproducibilidad deficiente. Cabe señalar que en estos dos estudios, no se informó claramente cómo se entrenó a los observadores en el método CVM. No hay duda de que para realizar correctamente el método CVM (como cualquier otro método o índice para evaluar la madurez esquelética individual como el HWM), el observador necesita estar entrenado y calibrado apropiadamente. Este concepto está muy bien ilustrado en el artículo de Perinetti et al. quienes encontraron que cuando se brinda capacitación específica junto con pautas precisas para evaluar visualmente cada etapa, el método CVM demuestra ser preciso y reproducible a un nivel satisfactorio.⁴⁶ En el estudio de Wen et al. (2018), todos los observadores fueron entrenados adecuadamente en el método CVM por un examinador experto. Los autores demuestran que la concordancia interobservadores e intraobservadores fue casi perfecta (valores kappa 0,92 y 0,97, respectivamente).³⁵

La validez del método CVM para detectar la madurez esquelética individual también es un tema de debate en la literatura. Soegiharto et al.⁴⁷ demostraron que el método CVM se puede utilizar como un índice de diagnóstico clínico válido para la predicción del crecimiento máximo del maxilar y la mandíbula. De manera similar, una revisión sistemática de Cericato et al.⁴⁸ informó que los métodos CVM analizados en el estudio fueron confiables para reemplazar la radiografía de

mano-muñeca en la predicción del pico de crecimiento puberal. No obstante, el HWM se sigue considerando como el gold standard en Ortodoncia debido a que la mano y muñeca consta de muchos huesos que se osifican en diferentes momentos y a diferentes velocidades. Como la maduración ocurre en un orden predecible, y hay muchos centros de osificación en sitios relativamente pequeños, estas radiografías son clínicamente importantes para la evaluación e identificación de las etapas de crecimiento. Los SMI y el TW3 (método Tanner-Whitehouse 3) se utilizan con mayor frecuencia en la evaluación de la maduración esquelética. El TW3 permite una evaluación más precisa de la madurez esquelética, pero los SMI son relativamente más fáciles para el uso clínico pues requiere de menos tiempo y esfuerzo. Investigaciones recientes que comparan los SMI y el CVM han informado que el primero es más preciso.⁴⁹ Según Warmeling et al.⁵⁰ los SMI representan la opción más segura y confiable debido a las alteraciones morfológicas de las vértebras; por lo tanto, solo se recomienda el CVM cuando no se dispone de radiografía carpal. Además, los SMI no solo representan los estadios de la maduración ósea sino también los eventos de osificación.⁵¹ Por lo tanto, si el objetivo de los estudios de esta línea de investigación es validar los biomarcadores orales con fines diagnósticos que permitan agruparlos o categorizarlos en las diferentes fases o estadios de los métodos convencionales, es pertinente que se tome en cuenta la confiabilidad de la prueba de referencia elegida, que por lo menos en esta etapa debería ser el gold standard, ya que en esta revisión sistemática se observó que en muchos de los estudios se agruparon los estadios o etapas de cada método sin un fundamento científico. Asimismo,

ninguno de los estudios señala o propone los niveles o concentraciones de biomarcadores orales esperados/umbrales por estadio de maduración esquelética.

La evaluación de riesgo de sesgo utilizando la herramienta QUADAS-2 (Tabla 6 anexo 10) investigó la calidad metodológica de los estudios seleccionados para esta revisión sistemática. Cinco de los estudios coincidieron en todos los dominios, presentando un riesgo de sesgo bajo.^{1,2,32,36-38} Solo dos estudios tuvieron una metodología homogénea^{1,37}, no obstante, ninguno utilizó las pruebas estadísticas adecuadas para definir la verdadera eficacia diagnóstica, por lo que no pudo realizarse el metanálisis. Idealmente, se debieron estimar los resultados de cada estudio utilizando índices que describen su validez. Generalmente, estos índices son la sensibilidad y la especificidad, o bien los cocientes de probabilidad positivo y negativo. Esta información se presenta en diagramas de bosque acoplados (coupled forest plots) y suele emplearse la curva sROC (curva ROC resumida (Receptor Operating Characteristic o característica operativa del receptor)) para evaluar el desempeño de la prueba diagnóstica, a partir de un metaanálisis, que combinará los resultados de estudios metodológicamente homogéneos, es decir, aquellos que hayan evaluado la misma prueba utilizando un método de referencia y pacientes similares. Desafortunadamente, los dos estudios metodológicamente homogéneos no expresaron sus resultados en estos términos haciéndose inviable el metanálisis, demostrando que existe un vacío en la literatura. Los resultados de los estudios incluidos son correlaciones o indican concentraciones y si existe o no asociación con los estadios de maduración esquelética. Básicamente, son estudios descriptivos en donde se realiza un recuento bioquímico, sin embargo, la evaluación de los biomarcadores con

potencial diagnóstico como probables indicadores de maduración esquelética es de utilidad para el desarrollo de la línea de investigación.

Los resultados obtenidos en cada uno de los estudios incluidos en la muestra final demuestran que existe una correlación entre las concentraciones o niveles de los biomarcadores orales evaluados y las fases o estadios de maduración esquelética, durante el pico de crecimiento puberal. Como se ha mencionado a lo largo del documento es importante que estos biomarcadores sean validados. Un biomarcador validado es aquel que se mide en un sistema de prueba analítico con características de rendimiento bien establecidas y para el cual existe un marco científico o un cuerpo de evidencia que aclara la importancia fisiológica, toxicológica, farmacológica o clínica de los resultados de las pruebas.⁵¹ La validación es el proceso de evaluar el biomarcador y sus características de desempeño de medición, y determinar el rango de condiciones bajo las cuales el biomarcador brindará datos reproducibles y precisos.^{52,53} La calificación del biomarcador es el proceso probatorio de vincular un biomarcador con procesos biológicos y criterios de valoración clínicos.^{52,54} La validación de un biomarcador, por su parte, es un componente necesario para la entrega de datos de investigación de alta calidad necesarios para el uso efectivo de biomarcadores.

Existen múltiples dimensiones para la validación de biomarcadores que abarcan elementos importantes del diseño del estudio y el análisis de datos, incluida la evaluación estadística; así como, múltiples vías para la validación de un biomarcador para un uso previsto, y es probable que los datos surjan de la totalidad de la evidencia proporcionada progresivamente por estudios preclínicos

en animales, estudios clínicos tempranos de Fase I y Fase II en voluntarios o pacientes sanos, y ensayos de eficacia y seguridad de última fase en pacientes con la enfermedad objetivo.⁵¹

Normalmente, la validación tiene en cuenta ciertas propiedades de un biomarcador tales como su *sensibilidad*, que se refiere a la capacidad de un biomarcador apropiado o un cambio en el biomarcador para medirse con la precisión adecuada y con una magnitud de cambio necesaria para que sea lo suficientemente sensible como para reflejar un cambio significativo en criterios de valoración clínicos importantes. La sensibilidad también describe la calidad de la relación entre la magnitud del cambio en el biomarcador y la magnitud del cambio en el criterio de valoración clínico porque un alto nivel de correlación no prueba necesariamente una relación causa-efecto. La *especificidad* define hasta qué punto un biomarcador explica todos o la mayoría de los cambios en un criterio de valoración clínico y se puede utilizar tanto para criterios de valoración categóricos como continuos. La *evaluación bioanalítica del laboratorio* o medición de prueba del biomarcador en términos de exactitud, precisión, reproducibilidad, rango de uso, límite de detección y variabilidad, es de vital importancia en este proceso. La *probabilidad de falsos positivos*, definida por situaciones en las que un cambio deseado en un biomarcador no se refleja en un cambio positivo en un criterio de valoración clínico o, peor aún, se asocia con un cambio negativo en un criterio de valoración clínico. También, *la probabilidad de falsos negativos*, definida por situaciones en las que ningún cambio o un pequeño cambio observado en un biomarcador no logra señalar un cambio positivo y significativo en un criterio de valoración clínico. Y por último, *un modelo farmacocinético/farmacodinámico*

que ha demostrado predecir resultados clínicos futuros o ajustes de dosis adecuados en función de la medición de biomarcadores. Afortunadamente, la falta de un consenso claro sobre una vía para la validación de biomarcadores orales para determinar la maduración esquelética puede superarse, ya que el primer paso, la calificación, se ha llevado a cabo en los trabajos iniciales de esta línea de investigación.⁵¹

Finalmente, esta revisión sistemática evidencia que los biomarcadores orales pueden ser considerados como una herramienta de diagnóstico prometedora para la predicción del pico de crecimiento puberal puesto que existe una correlación positiva entre sus concentraciones y los estadios o fases de maduración esquelética de las pruebas de referencia.

VI. CONCLUSIONES

- En la mayoría de los estudios evaluados se encuentra una correlación significativa entre los valores máximos de concentración de los biomarcadores orales y el pico de mayor velocidad de crecimiento puberal. Lo que significa que son eficaces como método alternativo no invasivo para determinar el pico de crecimiento puberal.
- De acuerdo a los estudios revisados no es posible determinar con exactitud la concentración estándar de ninguno de los biomarcadores orales en los estadios de maduración esquelética. El biomarcador oral mas estudiado fue la fosfatasa alcalina en muestras de saliva, en primer lugar seguida de muestras de FGC, en segundo lugar.
- En los estudios revisados no se evaluaron las diferencias en las concentraciones de los biomarcadores orales según sexo.

VII. RECOMENDACIONES

- Los biomarcadores orales evaluados en saliva o FGC no han sido validados, por lo que, no están disponibles para el uso clínico y es menester que los estudios se enfoquen en dicho proceso.
- Las futuras investigaciones deben tener en cuenta el uso de protocolos estandarizados, una muestra calculada mediante una formula que contemple nivel de confiabilidad (valor de p) y potencia de la prueba para poder establecer rangos confiables para las pruebas de referencia y las concentraciones basales para cada biomarcador, métodos de detección confiables (de preferencia los mismos), y expresar sus resultados en términos de índices utilizados para la evaluación de pruebas diagnósticas (sensibilidad y especificidad o bien los cocientes de probabilidad positivo y negativo), de tal forma que, el uso de los biomarcadores orales pueda ser implementado en la práctica clínica como herramienta diagnóstica.
- Se recomienda verificar que los estudios seleccionados para la muestra final no hayan sido publicados en revistas depredadoras puesto que representan una amenaza a la integridad y calidad científica.

VIII. LIMITACIONES

- Existe una necesidad general de estudios estandarizados, bien diseñados y de alta calidad sobre la detección y uso de biomarcadores orales que debe enfatizarse para los estudios de diagnóstico en condiciones in vivo, debido al número limitado y a la heterogeneidad documentada en las publicaciones e investigaciones revisadas.
- El número de estudios de esta línea de investigación en desarrollo es limitado, por lo que es necesario incrementarlo para corroborar los hallazgos iniciales dado que tienen implicancias clínicas importantes en la determinación de los estadios de maduración esquelética en pacientes en crecimiento que busquen un tratamiento ortopédico.
- Institucionalmente, sería de gran ayuda contar con un modelo de protocolo para la elaboración del documento del proyecto de investigación y de tesis de revisiones sistemáticas.
- Para responder en forma definitiva la pregunta de investigación hubiera sido ideal tener estudios con metodologías homogéneas para poder realizar un meta análisis.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Perinetti 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: 44–50.
2. Nayak S, Bhad Patil WA, Doshi UH. The relationship between salivary insulin-like growth factor I and quantitative cervical maturational stages of skeletal maturity. *J Orthod.* 2014;41(3):170-174.
3. Alhazmi N, Trotman CA, 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.
4. Perinetti G, Franchi L, Castaldo A, Contardo L. Gingival crevicular fluid protein content and alkaline phosphatase activity in relation to pubertal growth phase. *Angle Orthod.* 2012; 82(6):1047-1052.
5. Sowmya J, Sasidhar YN, Varma NS, Preetam R, Prasad KG. Cortisol: A Biomarker in Assessing Skeletal Maturation during Circumpubertal Development. *Int J Oral Health Med Res* 2016; 3(1):10-12.
6. Hägg U, Taranger J. Maturation indicators and the pubertal growth spurt. *Am J Orthod.* 1982; 82(4): 299-309.
7. Sandra Coutinho et al. Relationships between mandibular canine calcification stages and skeletal maturity. *Am J Orthod.* 1993; 104: 262-268.
8. Christer Engstrom et al. Lower third molar development in relation to skeletal maturity and chronologic age. *Angle Orthod.* 1983; 53(2): 97-106.

9. Baccetti T, Franchi L, De Lisa S, Giuntini V. Eruption of the maxillary canines in relation to skeletal maturity. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008;133(5):748-51.
10. Bacetti T, Franchi L, McNamara J Jr. The Cervical Vertebral Maturation (CVM) method for the Assessment of the Optimal Treatment Timing in Dentofacial Orthopedics. *Semin Orthod.* 2005; 11:119-129.
11. Bacetti T, Franchi L, McNamara J Jr. An Improved Version of the Cervical Vertebral Maturation (CVM) method for the assessment of mandibular growth. *Angle Orthod.* 2002; 72: 316-323.
12. Fishman L.S. Radiographic evaluation of skeletal maturation- a clinical oriented method based on Hand wrist film. *Angle Orthod* 1982; 98:33-40.
13. Grave KC, Brown T. Skeletal ossification and the adolescent growth spurt. *Am J Orthod.* 1976; 69 (6):611-9.
14. Premkumar S. Textbook of craniofacial growth. 1st edition: Jaypee Brothers Medical Publishers: 2011.
15. Takimoto K, Deguchi T, Mori M. Histochemical detection of acid and alkaline phosphatases in periodontal tissues after experimental tooth movement. *Journal of Dental Research.* 1968; 47: 340.
16. Lamparski DG. Skeletal age assessment utilizing cervical vertebrae. Master's thesis, University of Pittsburgh 1972. 164p.
17. O'Reilly M, Yanniello GJ. Mandibular growth changes and maturation of cervical vertebrae—a longitudinal cephalometric study. *Angle Orthod.* 1988; 58: 179-184.

18. Hassel B, Farman A.G; Skeletal Maturation Evaluation Using Cervical Vertebrae; *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 1995; 107: 58-66.
19. Tarvade SM, Ramkrishna S, Sarode S: Salivary alkaline phosphatase- a biochemical marker for growth prediction: *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research.* 2015; 4(3):17-22.
20. Ishaq RA, Soliman SA, Foda MY, Fayed MM. Insulin-like growth factor I: a biologic maturation indicator. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2012; 142(5):654-61.
21. Madera Anaya M.V. Biomarcadores de cáncer oral en saliva. *Av Odontoestomatol.* 2013; 29(6): 293-302.
22. Papagerakis P, Zheng L, Kim D, Said R, Ehlert AA, Chung KKM, Papagerakis S. Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) Collection for Biomarker Screening. *Methods Mol Biol.* 2019; 1922:549-562.
23. Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009; 22(4):241-8.
24. Bernal N, Arias MI. Indicadores de maduración esquelética y dental. *CES odontol.* 2008; 20(1):59-68.
25. Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011].* The Cochrane Collaboration, 2011. Available from www.cochrane-handbook.org.
26. Page M et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021; 29;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71.
27. Luijendijk H. How to create PICO questions about diagnostic tests. *JBMJ Evidence-Based Medicine.* 2021; 26(4):155-157.

28. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM; QUADAS-2 Group. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011 Oct 18;155(8):529-36.
29. Ciapponi A. QUADAS-2: instrumento para la evaluación de la calidad de estudios de precisión diagnóstica. *Evid Act Pract Ambul.* 2015;18(1): 22-30.
30. Sangeeth, K. Evaluation and Comparison of Salivary Dehydroepiandrosterone (DHEA) Levels and Cervical Vertebral Maturation Stages at Pre-Pubertal, Pubertal and Post-Pubertal Stages of Growth [Masters Thesis]. [Coimbatore]: Sri Ramakrishna Dental College and Hospital, 2017 [citado 3 de noviembre de 2022]. Recuperado a partir de: <http://repository-tnmgrmu.ac.in/id/eprint/5276>
31. Irham F., Bahirrah S. The level of alkaline phosphatase in saliva as biomarker for pubertal growth phase. *Advances in Health Science Research.* 2018; 8:102-105.
32. Wijaya H, Kusdhany LS, Redjeki S, Soegiharto BM. The salivary bone specific alkaline phosphatase in relation to pubertal growth phase in indonesian children. *Asian J Pharm Clin Res.* 2017; 10(5): 389-92.
33. Wijaya, H., Kusdhany, L.S., Redjeki, S., & Soegiharto, B.M. Salivary bone-specific alkaline phosphatase as predictor of puberty phase. *Journal of International Dental and Medical Research.* 2019; 12: 1063-1067.
34. Wen X, Gu Y, Chen F. Gingival Crevicular Fluid as a Novel Potential Source of Biomarkers Distinguishes Pubertal from Post-Pubertal Subjects. *Diagnostics (Basel).* 2016 Nov 17;6(4):41.

35. Wen X, et al. Proteomic Analysis of Gingival Crevicular Fluid for Novel Biomarkers of Pubertal Growth Peak. *Eur J Orthod.* 2018; 40(4): 414-422.
36. Wen X, Gu Y. Preliminary validation of serotransferrin and vitamin D binding protein in the gingival crevicular fluid as candidate biomarkers for pubertal growth peak in subjects with Class I and Class II malocclusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2021; 159 (4): 415-425.e1.
37. Perinetti, G., Contardo, L. Gingival crevicular fluid alkaline phosphatase activity in relation to pubertal growth spurt and dental maturation: A multiple regression study. *South European Journal of Orthodontics and Dentofacial Research.* 2016; 3(1): 6-11.
38. Hedge SS, Revankar AVA, Patil AK. Identification of bone-specific alkaline phosphatase in saliva and its correlation with skeletal age. *Indian J Dent Res.* 2018; 29(6): 721-725.
39. Anbuselvan, P. Salivary Alkaline Phosphatase as a Biomarker of Skeletal Maturation. [Masters thesis]. [Tirunelveli.] Rajas Dental College and Hospital, 2020. [citado 3 de noviembre de 2022]. Recuperado a partir de: <http://repository-tnmgrmu.ac.in/id/eprint/14454>
40. Ricky W.K. Wong, Hessa A. Alkhal, A. Bakr M. Rabie. Use of cervical vertebral maturation to determine skeletal age. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009; 136(4): 484.e1-484.e6.
41. Viñallonga X, Bonjoch C. Hiperfosfatasemia em la infância: interpretação y actitud diagnóstica. *An Pediatr Contin.* 2011; 9(3): 176-80.

42. Ryan J, Mantle T, Costigan DC. A normal population study of human salivary insulin-like growth factor-I concentrations from birth through puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1992a; 74: 774–778.
43. Ryan J, Mantle T, McQuaid S, Costigan DC. Salivary insulin like growth factor- I originates from local synthesis. *J Endocrinol.* 1992; 135: 85–90.
44. Gabriel DB, Southard KA, Qian F, Marshall SD, Franciscus RG, Southard TE. Cervical vertebrae maturation method: poor reproducibility. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009 Oct;136(4):478.e1-7; discussion 478-80.
45. Nestman TS, Marshall SD, Qian F, Holton N, Franciscus RG, Southard TE. Cervical vertebrae maturation method morphologic criteria: poor reproducibility. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011 Aug;140(2):182-8.
46. Perinetti G, Caprioglio A, Contardo L. Visual assessment of the cervical vertebral maturation stages: A study of diagnostic accuracy and repeatability. *Angle Orthod.* 2014 Nov;84(6):951-6.
47. Soegiharto BM, Moles DR, Cunningham SJ. Discriminatory ability of the skeletal maturation index and the cervical vertebrae maturation index in detecting peak pubertal growth in Indonesian and white subjects with receiver operating characteristics analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008; 134(2):227-37.
48. Cericato GO, Bittencourt MA, Paranhos LR. Validity of the assessment method of skeletal maturation by cervical vertebrae: a systematic review and meta-analysis. *Dentomaxillofac Radiol.* 2015; 44(4):1-7.
49. Kang ST, Choi SH, Kim KH, Hwang CJ. Evaluation of cephalometric characteristics and skeletal maturation of the cervical vertebrae and hand-

- wrist in girls with central precocious puberty. *Korean J Orthod.* 2020 May 25;50(3):181-187.
50. Warmeling D; Rodriguez K, Zastrow M, Thiesen G. Comparative study of two skeletal maturation evaluation indexes. *Rev. odonto ciênc.* 2010; 25(2):188-193.
51. Hunter DJ, Losina E, Guermazi A, Burstein D, Lasserre MN, Kraus V. A pathway and approach to biomarker validation and qualification for osteoarthritis clinical trials. *Curr Drug Targets.* 2010 May;11(5):536-45.
52. Wagner JA. Overview of biomarkers and surrogate endpoints in drug development. *Disease Markers.* 2002; 18(2):41–6.
53. Lee JW, Devanarayan V, Barrett YC, et al. Fit-for-purpose method development and validation for successful biomarker measurement. *Pharm Res.* 2006; 23(2):312–28.
54. Wagner JA, Williams SA, Webster CJ. Biomarkers and surrogate end points for fit-for-purpose development and regulatory evaluation of new drugs. *Clin Pharmacol Therapeutics.* 2007; 81(1): 104–7.

ANEXOS

ANEXO 1



Fig.1 Inserción de las tiras de papel en el sulcus gingival.

Recuperado de: Papagerakis P, Zheng L, Kim D, Said R, Ehlert AA, Chung KKM, Papagerakis S. Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) Collection for Biomarker Screening. Methods Mol Biol. 2019;1922:549-562. doi: 10.1007/978-1-4939-9012-2_41. PMID: 30838599.



Fig 2. FGC recolectado en una toma de muestra.

Recuperado de: Papagerakis P, Zheng L, Kim D, Said R, Ehlert AA, Chung KKM, Papagerakis S. Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) Collection for Biomarker Screening. Methods Mol Biol. 2019;1922:549-562. doi: 10.1007/978-1-4939-9012-2_41. PMID: 30838599.

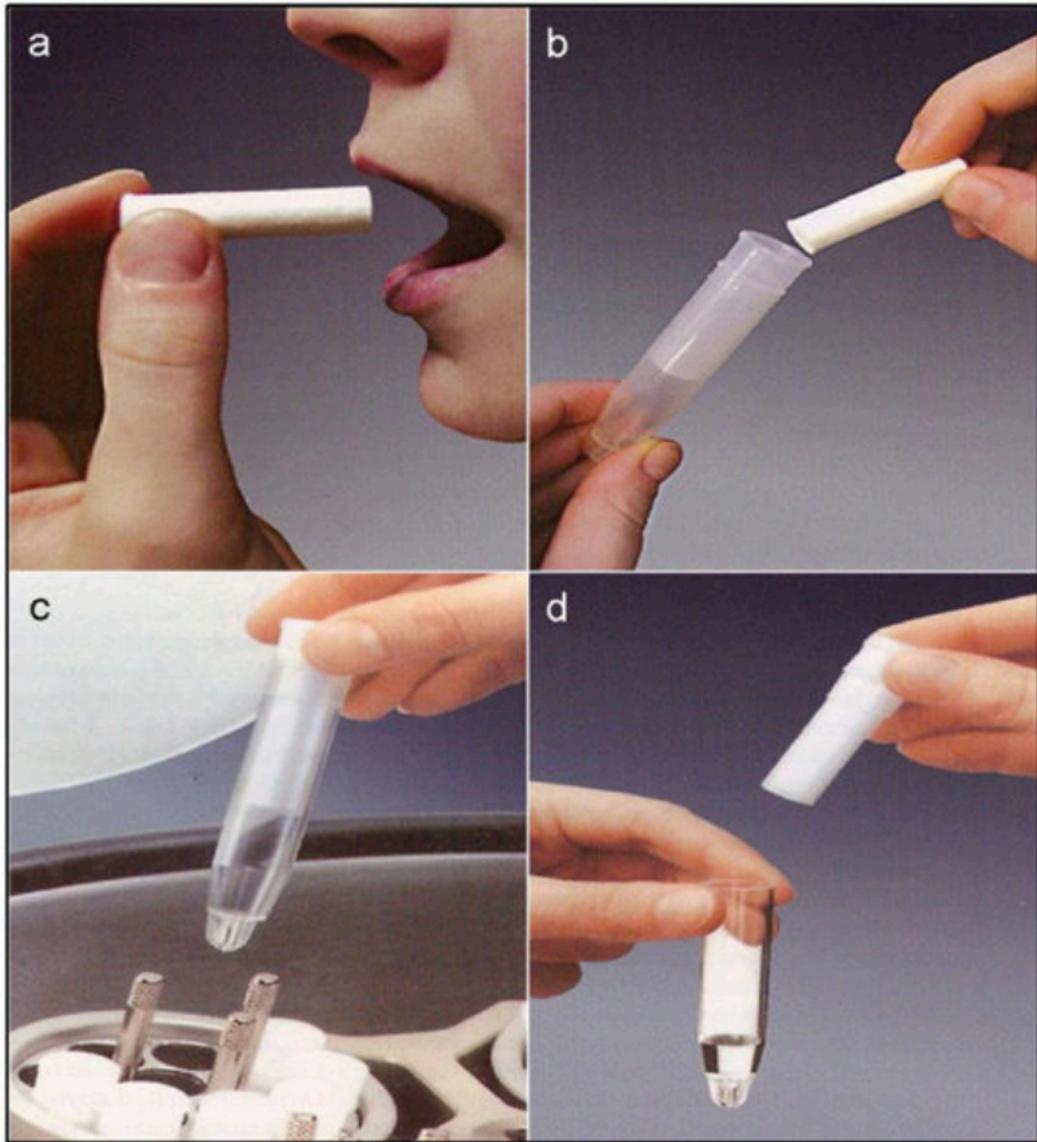


Fig 3. Recolección de saliva entera por el método absorbente. (a) La saliva se recoge masticando un rollo de algodón. (b) El rollo de algodón que contiene saliva se coloca en el tubo. (c) Centrifugación. (d) La saliva se separa del rollo y está lista para el análisis.

Recuperado de: Lee, Y., & Wong, D.T. (2009). Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. American Journal of Dentistry. 2009; 22(4): 241-8 .

ANEXO 2

Operacionalización de Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	VALOR
Variable dependiente:						
Biomarcador oral	Especie molecular que está presente en las muestras de un sujeto con una determinada enfermedad o condición.	Recuento de biomarcadores orales en peso.	Cuantitativa	Equipo utilizado para su cuantificación ej: lector de microplacas	Razón	pg/mL, UI/L, mcg/dL, mU/muestra, U/L, ng/ml o ng/min
Variable independiente:						
Maduración esquelética	Grado de desarrollo de osificación de un hueso	Grado de desarrollo de las estructuras óseas evaluadas (vértebras cervicales, huesos de mano y muñeca).	Cualitativa	Método CVM de Baccetti <i>et al.</i>	Ordinal	CS1 CS2 CS3 CS4 CS5 CS6
				Método CVMIs de Hassel y Farman		Estadio 1 Estadio 2 Estadio 3 Estadio 4 Estadio 5 Estadio 6
				Método de Hagg y Taranger		MP3

						Estadio F Estadio FG Estadio G Estadio H Estadio I.
				Método QCVM de Chen <i>et al.</i>		QCVM I QCVM II QCVM III QCVM IV
Covariables:						
Sexo	Característica biológica que denota el sexo masculino o femenino.		Cualitativa	Articulo	Nominal	Masculino Femenino
Edad	Tiempo que ha vivido una persona o ciertos animales o vegetales.	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio medido en años.	Cuantitativa	Articulo	Discreta	Años cumplidos

ANEXO 3

Métodos o Índices de maduración esquelética

Método de mano-muñeca (HWM) de Hagg y Taranger

Este método incluye 8 etapas de osificación ósea en 2 sitios anatómicos en el radio y el tercer dedo (Fig. 3). El radio representa 3 eventos de crecimiento: inicio (onset), pico y final del pico de crecimiento puberal (end).

En la tercera falange media (MP3), se utilizan 5 etapas de osificación ósea (Fig. 3): (1) MP3-F, la epífisis es tan ancha como la metáfisis; (2) MP3-FG, igual que el estadio F, pero el borde interno y/o lateral de la epífisis forma una línea de demarcación en ángulo recto con el borde distal; (3) MP3-G, los lados de la epífisis se han engrosado y tienden a cubrir la metáfisis formando un borde agudo en uno o ambos lados; (4) MP3-H, ha comenzado la fusión de la epífisis y la metáfisis; (5) MP3-I, se completa la fusión de la epífisis y la metáfisis. En la epífisis distal del radio se utilizan 3 etapas de osificación ósea (Fig. 3): (6) R-I, se ha iniciado la fusión de la epífisis y la metáfisis; (7) R-IJ, la fusión está casi completa, pero todavía hay una brecha en al menos 1 margen; y (8) R-J, se completa la fusión de la epífisis y la metáfisis.⁴⁰

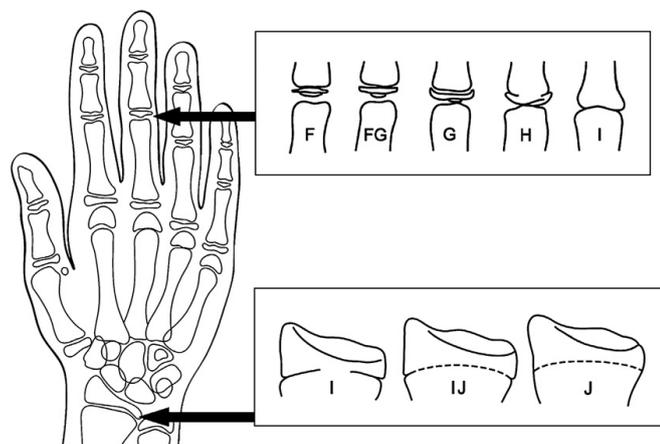


Fig 3. HWM stages.

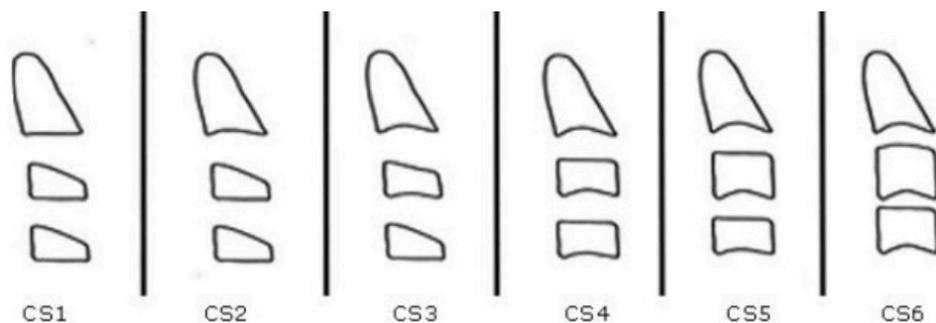
Método de maduración de vértebras cervicales CVM Baccetti *et al.*

La maduración de vértebras cervicales se evaluó utilizando el método desarrollado por Baccetti *et al.* Este método depende de la morfología de las 3 vértebras cervicales (C2, C3 y C4), las cuales fueron analizadas visualmente según (1) presencia o ausencia de concavidad del borde inferior (apófisis odontoides); y (2) diferencias en la forma del cuerpo de las vértebras cervicales con la edad, con 4 formas consideradas: trapezoidal, rectangular horizontal, cuadrada y rectangular vertical.

Estas 2 variables se subdividieron en 5 etapas vertebrales cervicales (CVS) consecutivas de maduración:

- Estadio cervical 1 (CS1): Los bordes inferiores de las tres vértebras (C2-C4) son planos. Los cuerpos de C3 y C4 tienen forma trapezoidal (el borde superior del cuerpo vertebral se estrecha de posterior a anterior). El pico de crecimiento mandibular ocurrirá en promedio 2 años después de esta etapa.
- Estadio cervical 2 (CS2): Una concavidad está presente en el borde inferior de C2 (en cuatro de cinco casos, y los sujetos restantes aún muestran una etapa cervical 1). Los cuerpos de C3 y C4 todavía tienen forma trapezoidal. El pico de crecimiento mandibular ocurrirá en promedio 1 año después de esta etapa.
- Estadio cervical 3 (CS3): Están presentes concavidades en los bordes inferiores de C2 y C3. Los cuerpos de C3 y C4 pueden tener forma trapezoidal u horizontal rectangular. El pico de crecimiento mandibular ocurrirá durante el año posterior a esta etapa.

- Etapa cervical 4 (CS4): Las concavidades en los bordes inferiores de C2, C3 y C4 ahora están presentes. Los cuerpos de C3 y C4 tienen forma rectangular horizontal. El pico en el crecimiento mandibular ha ocurrido dentro de 1 o 2 años antes de esta etapa.
- Etapa cervical 5 (CS5): Las concavidades en los bordes inferiores de C2, C3 y C4 todavía están presentes. Al menos uno de los cuerpos de C3 y C4 tiene forma cuadrada. Si no es cuadrado, el cuerpo de la otra vértebra cervical sigue siendo rectangular horizontal. El pico de crecimiento mandibular ha terminado al menos 1 año antes de esta etapa.
- Etapa cervical (CS6): Las concavidades en los bordes inferiores de C2, C3 y C4 aún son evidentes. Al menos uno de los cuerpos de C3 y C4 es de forma rectangular vertical. Si no es rectangular vertical, el cuerpo de la otra vértebra cervical es cuadrado. El pico de crecimiento mandibular finalizó al menos 2 años antes de esta etapa. ^{10,41}



Método de maduración de vértebras cervicales CVM Hassel y Farman

El método descrito por Lamparski²¹ y posteriormente modificado por Hassel y Farman, evalúa los cambios de maduración de la segunda, tercera y cuarta vértebra cervical en seis estadios se puede relacionar con el sistema de Fishman (SMI) de la siguiente manera:

- **Estadio 1 o Iniciación:** Esto corresponde a una combinación de SMI 1 y 2. En esta etapa, el crecimiento adolescente recién comienza y se espera entre el 80 % y el 100 % del crecimiento. Los bordes inferiores de C2, C3 y C4 son planos en esta etapa. Las vértebras presentan forma de cuña y los bordes vertebrales superiores se estrechan de atrás hacia adelante.
- **Estadio 2 o Aceleración :** Esto corresponde a una combinación de SMI 3 y 4. La aceleración del crecimiento comienza en esta etapa, con un 65% a 85% del crecimiento adolescente esperado. Se desarrollan concavidades en los bordes inferiores de C2 y C3. El borde inferior de C4 es plano. Los cuerpos de C3 y C4 presentan forma casi rectangular
- **Estadio 3 o Transición:** Esto corresponde a una combinación de SMI 5 y 6. El crecimiento adolescente todavía se está acelerando en esta etapa hacia la velocidad de altura máxima, con un 25% a 65% del crecimiento adolescente esperado. Se observan concavidades distintas en los bordes inferiores de C2 y C3 . Empieza a desarrollarse una concavidad en el borde inferior de C4. Los cuerpos de C3 y C4 tienen forma rectangular.
- **Estadio 4 o Desaceleración :** Esto corresponde a una combinación de SMI 7 y 8. El crecimiento adolescente comenzó a desacelerarse

dramáticamente en esta etapa, con un 10% a 25% del crecimiento adolescente esperado. Se observan concavidades distintas en los bordes inferiores de C2, C3 y C4. Los cuerpos vertebrales de C3 y C4 adquirirían una forma más cuadrada.

- **Estadio 5 o Maduración:** Esto corresponde a una combinación de SMI 9 y 10. La maduración final de las vértebras tuvo lugar durante esta etapa, con un 5% a 10% de crecimiento esperado en la adolescencia. Se observan concavidades más acentuadas en los bordes inferiores de C2, C3 y C4. . Los cuerpos de C3 y C4 presentan una forma casi cuadrada a cuadrada .
- **Estadio 6 o Completación:** Corresponde al SMI 11. Se considera que el crecimiento esta completo en esta etapa. Se esperaba poco o ningún crecimiento adolescente. Se observaron concavidades profundas en los bordes inferiores de C2, C3 y C4. Los cuerpos de C3 y C4 son cuadrados o mayores en dimensión vertical que en dimensión horizontal.¹⁸

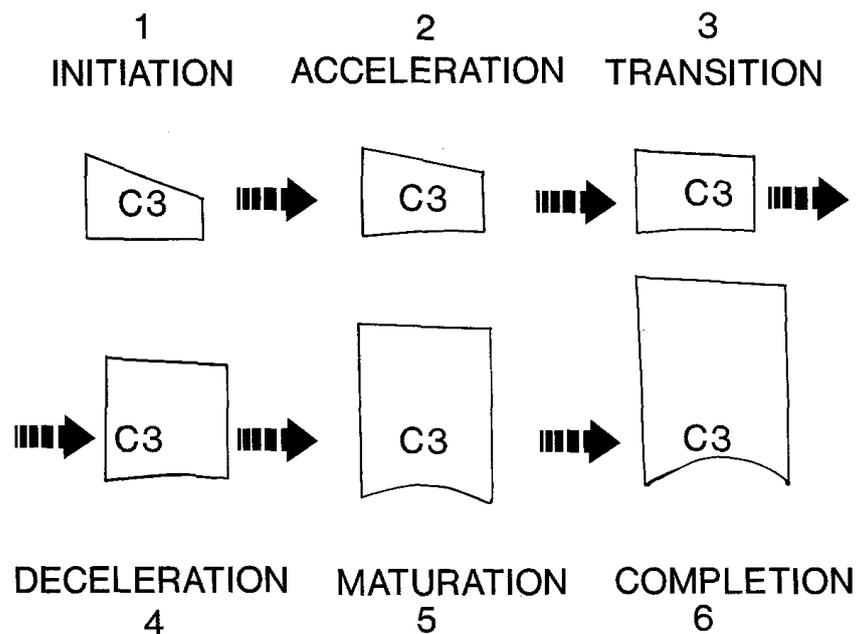


Fig. 1. Cervical vertebrae maturation indicators using C3 as guide. (See Table I.)

Table I. Cervical vertebrae maturation indicators

1. *Initiation*
 - Very significant amount of adolescent growth expected
 - C2, C3, and C4 inferior vertebral body borders are flat
 - Superior vertebral borders are tapered posterior to anterior
 2. *Acceleration*
 - Significant amount of adolescent growth expected
 - Concavities developing in lower borders of C2 and C3
 - Lower border of C4 vertebral body is flat
 - C3 and C4 are more rectangular in shape
 3. *Transition*
 - Moderate amount of adolescent growth expected
 - Distinct concavities in lower borders of C2 and C3
 - C4 developing concavity in lower border of body
 - C3 and C4 are rectangular in shape
 4. *Deceleration*
 - Small amount of adolescent growth expected
 - Distinct concavities in lower borders of C2, C3, and C4
 - C3 and C4 are nearly square in shape
 5. *Maturation*
 - Insignificant amount of adolescent growth expected
 - Accentuated concavities of inferior vertebral body borders of C2, C3, and C4
 - C3 and C4 are square in shape
 6. *Completion*
 - Adolescent growth is completed
 - Deep concavities are present for inferior vertebral body borders of C2, C3, and C4
 - C3 and C4 heights are greater than widths
-

Análisis carpal de Fishman:

Fishman en 1982 creó un sistema de evaluación de maduración esquelética (SMA), su análisis carpal utiliza cuatro estadios de maduración ósea encontrados en seis sitios anatómicos localizados en el dedo pulgar, tercer, quinto dedo y el radio. Once indicadores de maduración esquelética en la adolescencia son encontrados en estos seis sitios. La secuencia de los cuatro estadios de osificación incluye ancho epifisiario, osificación del hueso sesamoideo, cubrimiento o capeamiento de las epífisis sobre las diáfisis y por último, la fusión de dichas epífisis sobre las diáfisis. Una observación sistemática del esquema puede facilitar dicha evaluación. Un primer paso es determinar si es posible observar o no la osificación del sesamoideo. Si no es posible, el paso a seguir esta asociado más con la amplitud epifisiaria que con la fusión, mientras que si el sesamoideo es visible el sistema se guía más por el cubrimiento o fusión epifisiaria.



Fig. 1 Sites of skeletal maturity indicators.

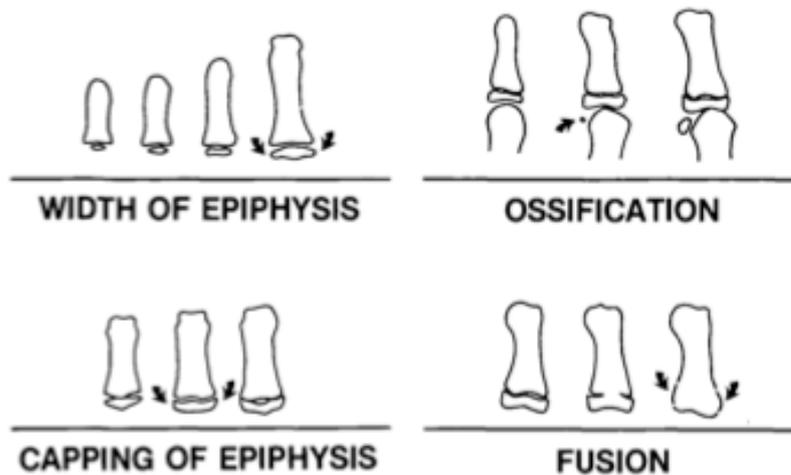


Fig. 2 Radiographic identification of skeletal maturity indicators.
 A. Epiphysis equal in width to diaphysis.
 B. Appearance of adductor sesamoid of the thumb.
 C. Capping of epiphysis.
 D. Fusion of epiphysis.

SMI Indicadores de maduración esquelética

Ancho de epífisis igual al de diáfisis

1. Tercer dedo- falange proximal.
2. Tercer dedo- falange media.
3. Quinto dedo-falange media.

Osificación del sesamoideo

4. Osificación del sesamoideo aductor

Capeamiento de la epífisis

5. Tercer dedo-falange distal.
6. Tercer dedo- falange media.
7. Quinto dedo-falange media.

Fusión de epísis con diáfisis

8. Tercer dedo-falange distal
9. Tercer dedo-falange proximal
10. Tercer dedo-falange media.
11. Radio¹²

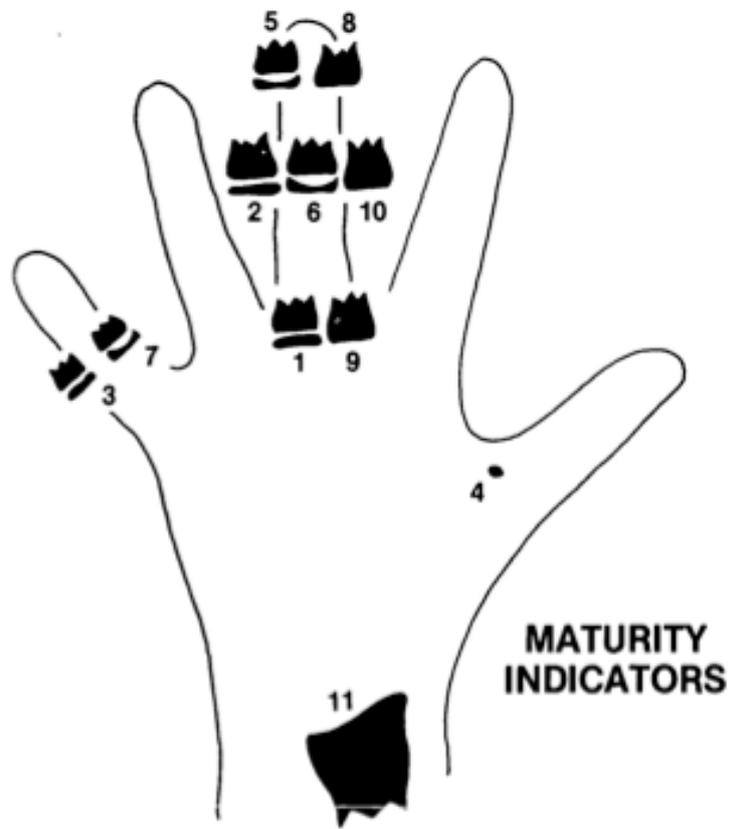


Fig. 3 Eleven skeletal maturity indicators (SMIs).

Fields]) AND "Biologic"[Title/Abstract]) OR "biological markers"[Title/Abstract] OR "biologic markers"[Title/Abstract] OR "markers biologic"[Title/Abstract] OR "Biomarker"[Title/Abstract] OR "markers biological"[Title/Abstract] OR "markers immunologic"[Title/Abstract] OR "immune markers"[Title/Abstract] OR "markers immune"[Title/Abstract] OR (("biomarkers"[MeSH Terms] OR "biomarkers"[All Fields] OR "Marker"[All Fields] OR "Markers"[All Fields]) AND "Immunologic"[Title/Abstract]) OR "immunologic markers"[Title/Abstract] OR "immune marker"[Title/Abstract] OR "marker immune"[Title/Abstract] OR "immunologic marker"[Title/Abstract] OR "clinical markers"[Title/Abstract] OR "biochemical marker"[Title/Abstract] OR "markers biochemical"[Title/Abstract] OR "marker biochemical"[Title/Abstract] OR "biochemical markers"[Title/Abstract] OR "markers laboratory"[Title/Abstract] OR "alkaline phosphatase"[Title/Abstract] OR "insulin like somatomedin peptide i"[Title/Abstract] OR "insulin like somatomedin peptide i"[Title/Abstract] OR "somatomedin c"[Title/Abstract] OR "IGF-I-SmC"[Title/Abstract] OR "IGF-1"[Title/Abstract] OR "IGF-I"[Title/Abstract] OR "insulin like growth factor i"[Title/Abstract]) AND ("skeletal maturation index"[Title/Abstract] OR "index skeletal maturation"[Title/Abstract] OR (("indicate"[All Fields] OR "indicated"[All Fields] OR "indicates"[All Fields] OR "indicating"[All Fields] OR "indicative"[All Fields] OR "indicatives"[All Fields] OR "indicators and reagents"[Pharmacological Action] OR "indicators and reagents"[MeSH Terms] OR ("indicators"[All Fields] AND "reagents"[All Fields]) OR "indicators and reagents"[All Fields] OR "indicator"[All Fields] OR "indicators"[All Fields] OR "indice"[All Fields] OR "Indices"[All Fields]) AND "skeletal maturation"[Title/Abstract]) OR (("maturate"[All Fields] OR "matured"[All Fields] OR "maturating"[All Fields] OR "Maturation"[All Fields] OR "maturational"[All Fields] OR "maturations"[All Fields] OR "maturative"[All Fields] OR "mature"[All Fields] OR "matured"[All Fields] OR "maturer"[All Fields] OR "maturers"[All Fields] OR "matures"[All Fields] OR "maturing"[All Fields] OR "maturities"[All Fields] OR "maturity"[All Fields]) AND "index skeletal"[Title/Abstract]) OR "skeletal maturation indices"[Title/Abstract] OR "bone age measurement"[Title/Abstract] OR (("Age"[Journal] OR "age omaha"[Journal] OR "age dordr"[Journal] OR "adv genet eng"[Journal] OR "Age"[All Fields]) AND "measurement bone"[Title/Abstract]) OR (("Age"[Journal] OR "age omaha"[Journal] OR "age dordr"[Journal] OR "adv genet eng"[Journal] OR "Age"[All Fields]) AND "measurements bone"[Title/Abstract]) OR "bone age measurements"[Title/Abstract] OR (("measurability"[All Fields] OR "measurable"[All Fields] OR "measurably"[All Fields] OR "measure s"[All Fields] OR "measureable"[All Fields] OR "measured"[All Fields] OR "Measurement"[All Fields] OR "measurement s"[All Fields] OR "Measurements"[All Fields] OR "measurer"[All Fields] OR

"measurers"[All Fields] OR "measuring"[All Fields] OR "measurings"[All Fields] OR "measurment"[All Fields] OR "measurments"[All Fields] OR "weights and measures"[MeSH Terms] OR ("weights"[All Fields] AND "measures"[All Fields]) OR "weights and measures"[All Fields] OR "measure"[All Fields] OR "measures"[All Fields]) AND "bone age"[Title/Abstract]) OR "measurements bone age"[Title/Abstract] OR "skeletal age measurement"[Title/Abstract] OR (("Age"[Journal] OR "age omaha"[Journal] OR "age dordr"[Journal] OR "adv genet eng"[Journal] OR "Age"[All Fields]) AND "measurement skeletal"[Title/Abstract]) OR "age measurements skeletal"[Title/Abstract] OR ("measurability"[All Fields] OR "measurable"[All Fields] OR "measurably"[All Fields] OR "measure s"[All Fields] OR "measureable"[All Fields] OR "measured"[All Fields] OR "Measurement"[All Fields] OR "measurement s"[All Fields] OR "Measurements"[All Fields] OR "measurer"[All Fields] OR "measurers"[All Fields] OR "measuring"[All Fields] OR "measurings"[All Fields] OR "measurment"[All Fields] OR "measurments"[All Fields] OR "weights and measures"[MeSH Terms] OR ("weights"[All Fields] AND "measures"[All Fields]) OR "weights and measures"[All Fields] OR "measure"[All Fields] OR "measures"[All Fields]) AND "skeletal age"[Title/Abstract]) OR "measurements skeletal age"[Title/Abstract] OR "skeletal age measurements"[Title/Abstract])

Translations

Marker: "biomarkers"[MeSH Terms] OR "biomarkers"[All Fields] OR "marker"[All Fields] OR "markers"[All Fields]

Marker: "biomarkers"[MeSH Terms] OR "biomarkers"[All Fields] OR "marker"[All Fields] OR "markers"[All Fields]

Indices: "indicate"[All Fields] OR "indicated"[All Fields] OR "indicates"[All Fields] OR "indicating"[All Fields] OR "indicative"[All Fields] OR "indicatives"[All Fields] OR "indicators and reagents"[Pharmacological Action] OR "indicators and reagents"[MeSH Terms] OR ("indicators"[All Fields] AND "reagents"[All Fields]) OR "indicators and reagents"[All Fields] OR "indicator"[All Fields] OR "indicators"[All Fields] OR "indice"[All Fields] OR "indices"[All Fields]

Maturation: "maturate"[All Fields] OR "maturated"[All Fields] OR "maturing"[All Fields] OR "maturation"[All Fields] OR "maturational"[All Fields] OR "maturations"[All Fields] OR "maturative"[All Fields] OR "mature"[All Fields] OR "matured"[All Fields] OR "maturer"[All Fields] OR "maturers"[All Fields] OR "matures"[All Fields] OR "maturing"[All Fields] OR "maturities"[All Fields] OR "maturity"[All Fields]

Age: "Age"[Journal: __jid101090771] OR "Age (Omaha)"[Journal: __jid7801686] OR "Age (Dordr)"[Journal: __jid101250497] OR "Adv Genet Eng"[Journal: __jid101600827] OR "age"[All Fields]

Age: "Age"[Journal: __jid101090771] OR "Age (Omaha)"[Journal: jid7801686] OR "Age"

	<p>(Dordr)"[Journal: __jid101250497] OR "Adv Genet Eng"[Journal: __jid101600827] OR "age"[All Fields]</p> <p>Measurement: "measurability"[All Fields] OR "measurable"[All Fields] OR "measurably"[All Fields] OR "measure's"[All Fields] OR "measureable"[All Fields] OR "measured"[All Fields] OR "measurement"[All Fields] OR "measurement's"[All Fields] OR "measurements"[All Fields] OR "measurer"[All Fields] OR "measurers"[All Fields] OR "measuring"[All Fields] OR "measurings"[All Fields] OR "measurment"[All Fields] OR "measurments"[All Fields] OR "weights and measures"[MeSH Terms] OR ("weights"[All Fields] AND "measures"[All Fields]) OR "weights and measures"[All Fields] OR "measure"[All Fields] OR "measures"[All Fields]</p> <p>Age: "Age"[Journal: __jid101090771] OR "Age (Omaha)"[Journal: __jid7801686] OR "Age (Dordr)"[Journal: __jid101250497] OR "Adv Genet Eng"[Journal: __jid101600827] OR "age"[All Fields]</p> <p>Measurement: "measurability"[All Fields] OR "measurable"[All Fields] OR "measurably"[All Fields] OR "measure's"[All Fields] OR "measureable"[All Fields] OR "measured"[All Fields] OR "measurement"[All Fields] OR "measurement's"[All Fields] OR "measurements"[All Fields] OR "measurer"[All Fields] OR "measurers"[All Fields] OR "measuring"[All Fields] OR "measurings"[All Fields] OR "measurment"[All Fields] OR "measurments"[All Fields] OR "weights and measures"[MeSH Terms] OR ("weights"[All Fields] AND "measures"[All Fields]) OR "weights and measures"[All Fields] OR "measure"[All Fields] OR "measures"[All Fields]</p>
Scopus	<p>((TITLE-ABS-KEY (<i>skeletal</i> AND <i>maturation</i> AND <i>index</i>) OR TITLE-ABS-KEY (<i>skeletal</i> AND <i>maturation</i> AND <i>indices</i>) OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Bone Age Measurement</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Skeletal Age Measurement</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Bone Age Measurements</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Skeletal Age Measurement</i>"))) AND ((TITLE-ABS-KEY (<i>biomarkers</i>) OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Biological Marker</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Immune Markers</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Clinical Markers</i>") OR TITLE-ABS-KEY (<i>biochemical</i> AND <i>marker</i>) OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Alkaline Phosphatase</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Insulin-Like Somatomedin Peptide I</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Insulin Like Somatomedin Peptide I</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Somatomedin C</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>IGF-I-SmC</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>IGF-I</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>IGF-I</i>") OR TITLE-ABS-KEY ("<i>Insulin Like Growth Factor I</i>")))</p>
Web of Science	<p>(#2) and #1</p> <p>#1: Skeletal Maturation Index (Topic) or Skeletal Maturation Indices (Topic) or “Bone Age Measurement” (Topic) or “Skeletal Age Measurement” (Topic or “Bone Age measurements” (Topic) or “Skeletal Age Measurement” (Topic)</p>

	#2: biomarkers (Topic) or “Biological Marker” (Topic) or “ Immune Markers” (Topic) or “Clinical Markers” (Topic) or “ Biochemical Marker” (Topic) or “Alkaline Phosphatase” (Topic) or “ Insulin-Like Somatomedin Peptide I” (Topic) OR “Insulin Like Somatomedin Peptide I” (Topic) or “Somatomedin C” (Topic) or (IGF-I-SmC) (Topic) or “ IGF-1” (Topic) OR “IGF-I” (Topic) or “Insulin Like Growth Factor I” (Topic)
<i>LILACS</i>	(biomarcadores) AND (fosfatasa alcalina) AND (maduración sexual)

Anexo 5

Diagrama de Flujo PRISMA

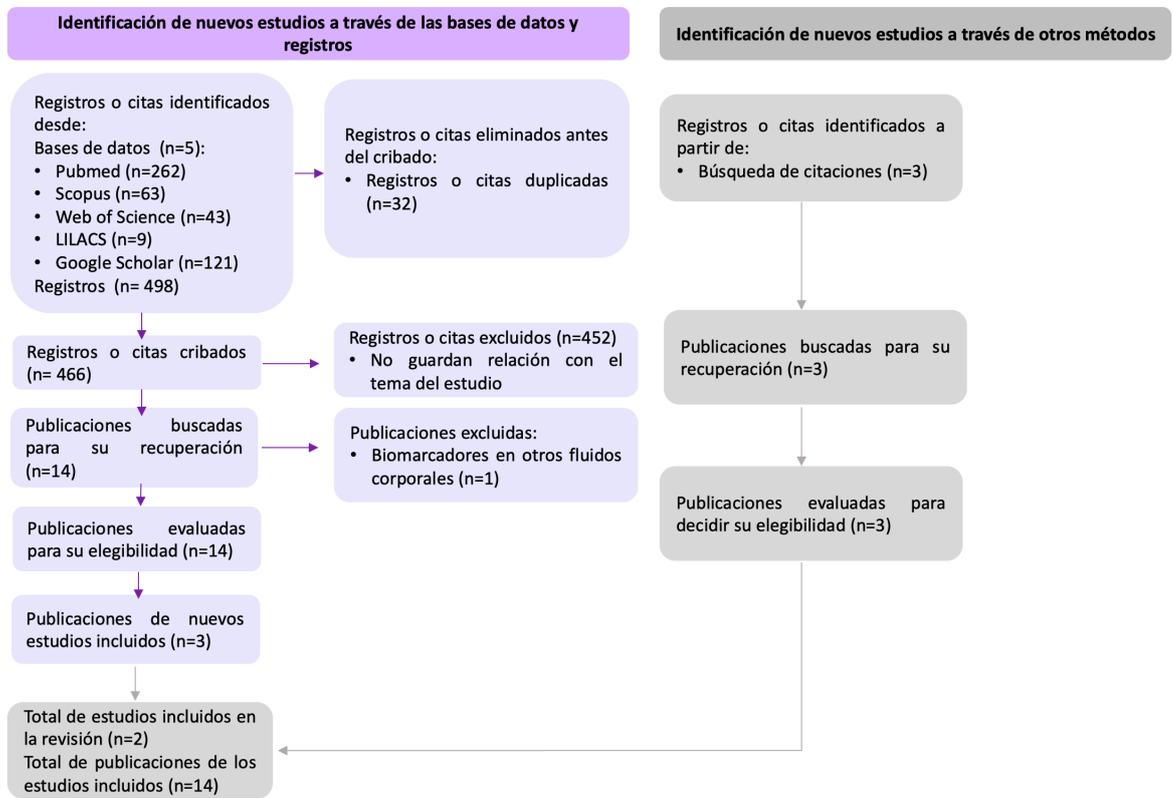


Diagrama de flujo de la selección de estudios incluidos en la revisión sistemática

Anexo 6

Instrumento QUADASs-2

QUADAS-2

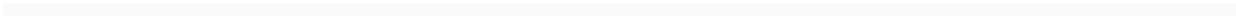
Phase 1: State the review question:

Patients (setting, intended use of index test, presentation, prior testing):

Index test(s):

Reference standard and target condition:

Phase 2: Draw a flow diagram for the primary study



Phase 3: Risk of bias and applicability judgments

QUADAS-2 is structured so that 4 key domains are each rated in terms of the risk of bias and the concern regarding applicability to the research question (as defined above). Each key domain has a set of signalling questions to help reach the judgments regarding bias and applicability.

DOMAIN 1: PATIENT SELECTION

A. Risk of Bias

Describe methods of patient selection:

- | | |
|--|----------------|
| ❖ Was a consecutive or random sample of patients enrolled? | Yes/No/Unclear |
| ❖ Was a case-control design avoided? | Yes/No/Unclear |
| ❖ Did the study avoid inappropriate exclusions? | Yes/No/Unclear |

Could the selection of patients have introduced bias? RISK: LOW/HIGH/UNCLEAR

B. Concerns regarding applicability

Describe included patients (prior testing, presentation, intended use of index test and setting):

Is there concern that the included patients do not match the review question? CONCERN: LOW/HIGH/UNCLEAR

DOMAIN 2: INDEX TEST(S)

If more than one index test was used, please complete for each test.

A. Risk of Bias

Describe the index test and how it was conducted and interpreted:

- | | |
|---|----------------|
| ❖ Were the index test results interpreted without knowledge of the results of the reference standard? | Yes/No/Unclear |
| ❖ If a threshold was used, was it pre-specified? | Yes/No/Unclear |

Could the conduct or interpretation of the index test have introduced bias? RISK: LOW /HIGH/UNCLEAR

B. Concerns regarding applicability

Is there concern that the index test, its conduct, or interpretation differ from the review question? CONCERN: LOW /HIGH/UNCLEAR

DOMAIN 3: REFERENCE STANDARD

A. Risk of Bias

Describe the reference standard and how it was conducted and interpreted:

- ❖ Is the reference standard likely to correctly classify the target condition? Yes/No/Unclear
- ❖ Were the reference standard results interpreted without knowledge of the results of the index test? Yes/No/Unclear

Could the reference standard, its conduct, or its interpretation have introduced bias? RISK: LOW /HIGH/UNCLEAR

B. Concerns regarding applicability

Is there concern that the target condition as defined by the reference standard does not match the review question? CONCERN: LOW /HIGH/UNCLEAR

DOMAIN 4: FLOW AND TIMING

A. Risk of Bias

Describe any patients who did not receive the index test(s) and/or reference standard or who were excluded from the 2x2 table (refer to flow diagram):

Describe the time interval and any interventions between index test(s) and reference standard:

- ❖ Was there an appropriate interval between index test(s) and reference standard? Yes/No/Unclear
- ❖ Did all patients receive a reference standard? Yes/No/Unclear
- ❖ Did patients receive the same reference standard? Yes/No/Unclear
- ❖ Were all patients included in the analysis? Yes/No/Unclear

Could the patient flow have introduced bias? RISK: LOW /HIGH/UNCLEAR

Anexo 7

Tabla 1. Concordancia en la evaluación de riesgo de sesgo utilizando la herramienta Quadas-2					
Medidas simétricas					
		Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,907	,065	9,638	,000
N de casos válidos		112			
a. No se presupone la hipótesis nula.					
b. Utilización del error estándar asintótico que presupone la hipótesis nula.					

Anexo 8



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
**INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)**

CAREG-ORVEI-043-22

Lima, 16 de marzo del 2022

Señor(a)(s)

CAMARENA FONSECA ALEXANDRA ROSY

Presente. -

Estimado(a)(s) investigador(a)(s)(es):

Es grato dirigirme a usted para saludarla y a la vez informarle que hemos recibido el proyecto de investigación titulado: **“EFICACIA DIAGNÓSTICA DE LOS BIOMARCADORES ORALES EN LA DETERMINACIÓN DE LA MADURACIÓN ESQUELÉTICA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS”**. **SIDISI 208259**, el cual ha sido revisado y registrado en la Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. De acuerdo al Manual de Procedimientos de nuestra universidad y por sus características, este proyecto no requiere evaluación por el Comité Institucional de Ética en Humanos o en Animales, pudiendo iniciar su ejecución.

Agradecemos tenga a bien presentar su informe de cierre al concluir la ejecución de su proyecto.

Atentamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Zoila María Vefa Clavo'.

Blg. Zoila María Vefa Clavo
Directora (e)
Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y
Tecnología





UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

REGISTRO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO

Registro	Dr-00809-2022
-----------------	---------------

PARTICIPANTE	CODIGO	NOMBRES Y APELLIDOS
Estudiante	70364982	CAMARENA FONSECA ALEXANDRA ROSY
DIRECTOR	21835962	MENESES LOPEZ ABRAHAM
CO DIRECTOR	09646525	LOZADA REQUENA ARCADIO IVAN

Nombre del Proyecto

EFICACIA DIAGNOSTICA DE LOS BIOMARCADORES ORALES EN LA DETERMINACION DE LA MADURACION ESQUELETICA: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS

Programa Académico

DOCTORADO EN ESTOMATOLOGIA

Unidad de Gestión

Facultad de Estomatología

ÍTEM	FECHA	DETALLES
Registro SIDISI	28/02/2022	Código: 208259
Aprobación CIE - UPCH	16/03/2022	Tipo: CIE Exoneración de Revisión
Aprobación CIE - UPCH	-	Tipo: -
Registro EPGVAC	31/03/2022	Plazo de ejecución: 3 años

El proyecto de investigación deberá ser ejecutado bajo las Normas y Procedimientos del Trabajo de Investigación para la obtención de los grados académicos de Maestría o Doctorado, que se encuentran disponibles en:

<http://www.posgradoupch.pe>

CONSTANCIA

Directora de la Dirección Universitaria de Asuntos Regulatorios en Investigación - DUARI de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, hace constar que se aprobó de manera expedita la **ENMIENDA/MODIFICACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del Proyecto : “Eficacia diagnóstica de los biomarcadores orales en la determinación de la maduración esquelética : una revisión sistemática”

Código de inscripción : 208259

Investigadora principal : Camarena Fonseca, Alexandra Rosy

La **enmienda/modificación** corresponde a los siguientes documentos:

1. **Protocolo de investigación**, versión final recibida el 14 de octubre del 2022.

Lima, 14 de octubre del 2022



Dra. Cinthia Hurtado Esquén
Directora
Dirección Universitaria de Asuntos
Regulatorios en Investigación

/cvch

Anexo 9

Tabla 2. Descripción de las características generales de los estudios incluidos

Autor	Año de publicación	País	Diseño del estudio	Objetivo
<i>Alhazmi et al.</i> ³	2019	Estados Unidos	Observacional transversal	Investigar la relación entre la actividad de FA salival, concentración de proteínas y edad cronológica con los estadios de CVM
<i>Irham et al.</i> ³¹	2017	Indonesia	Observacional transversal	Evaluar los niveles de FA en sujetos en crecimiento en relación a la fase de crecimiento puberal y edad
<i>Sangeeth K.</i> ³⁰	2017	India	Observacional transversal	Encontrar la correlación entre la (DHEA) salival y el método CVM
<i>Sowmya et al.</i> ⁵	2016	India	Observacional transversal	Evaluar el nivel de cortisol salival en la determinación de maduración esquelética
<i>Wen et al.</i> ³⁴	2016	China	Observacional transversal	Identificar potenciales biomarcadores en FGC para el diagnóstico de crecimiento puberal con MALDI-TOF/MS
<i>Perinetti et al.</i> ¹	2011	Italia	Transversal a doble ciego	Evaluar la actividad de la FA en FGC en sujetos en crecimiento y su relación con CVM
<i>Perinetti et al.</i> ⁴	2012	Italia	Transversal a doble ciego	Evaluar el contenido proteico en el FGC y la actividad de la FA en sujetos en crecimiento y su relación con CVM
<i>Tarvade et al.</i> ¹⁹	2015	India	Observacional transversal	Evaluar la actividad de la FA salival en sujetos en crecimiento en relación a los estadios de maduración esquelética HWM
<i>Wen et al.</i> ³⁵	2017	China	Observacional transversal	Detectar candidatos a biomarcadores para crecimiento puberal en FGC mediante TMT
<i>Wijaya et al.</i> ³³	2019	Indonesia	Observacional transversal	Analizar el potencial de la FA específica ósea salival, la edad cronológica y el percentil IMC para predecir el pico de crecimiento
<i>Hedge et al.</i> ³⁸	2018	India	Observacional transversal	Evaluar los niveles de FA específica ósea salival y su correlación con los estadios de HWM
<i>Wen et al.</i> ³⁶	2021	China	Observacional transversal	Validar preliminarmente la serotransferrina y proteína de unión a vitamina D en sujetos con maloclusión Clase I y II
<i>Anbuselvan</i> ³⁹	2020	India	Observacional transversal	Evaluar la actividad de FA salival como indicador de maduración esquelética en comparación con CVM y HWM
<i>Perinetti y Contardo</i> ³⁷	2016	Italia	Prospectivo a doble ciego	Evaluar la posible relación entre la FA en FGC y el pico de crecimiento puberal y dentición
<i>Wijaya et al.</i> ³²	2017	Indonesia	Observacional transversal	Evaluar el nivel de FA específica ósea salival durante las fases de crecimiento puberal en niños indonesios
<i>Nayak et al.</i> ²	2013	India	Observacional transversal	Cuantificar los niveles de IGF-I y su tasa de secreción en los diferentes estadios de QCVM

Tabla 3. Características de la muestra de los estudios incluidos				
Autor	Edad (años)	Sexo		Tamaño de la muestra
		Femenino	Masculino	
<i>Alhazmi et al.</i> ³	7-23	48	31	79
<i>Irham et al.</i> ³¹	8-15	57	---	57
<i>Sangeeth K.</i> ³⁰	9-18	33	33	66
<i>Sowmya et al.</i> ⁵	9-16	27	---	27
<i>Wen et al.</i> ³⁴	10.6-23.3	20	20	40
<i>Perinetti et al.</i> ¹	7.8-17.7	45	27	72
<i>Perinetti et al.</i> ⁴	7.8-17.7	31	19	50
<i>Tarvade et al.</i> ¹⁹	10-15	60	60	120
<i>Wen et al.</i> ³⁵	9.2 ± 1.4 (fase puberal) 23.3 ± 0.64 (post puberal)	20	20	40
<i>Wijaya et al.</i> ³³	8-18 años	72	64	136
<i>Hedge et al.</i> ³⁸	6-19 años	18 por grupo sin especificaciones del sexo		90
<i>Wen et al.</i> ³⁶	6-18 años	31	35	66
<i>Anbuselvan</i> ³⁹	8-18 años	3 grupos de 20 sin especificaciones del sexo		60
<i>Perinetti y Contardo</i> ³⁷	7.6-17.7 años	63	38	100
<i>Wijaya et al.</i> ³²	8-18 años	64	72	136
<i>Nayak et al.</i> ²	7-23 años	24	21	45

Tabla 4. Características del biomarcador oral estudiado

Autor	Biomarcador	Tipo	Técnica de muestreo	Nivel de expresión	Análisis de la muestra
<i>Alhazmi et al.</i> ³	FA	Enzima	Saliva entera no estimulada	mU/mg (unidad de masa atómica en megagramo)	Análisis colorimétrico para FA (ab83369; Abcam, Cambridge, UK) y método de Bradford para cuantificar proteínas (Bradford, kit II, 500-0002; Bio-Rad, Hercules, Calif)
<i>Irham et al.</i> ³¹	FA	Enzima	Saliva entera no estimulada	IU/L	Análisis colorimétrico y espectrofotométrico (Kit comercial BioAssay Systems-USA)
<i>Sangeeth K.</i> ³⁰	DHEA	Hormona esteroidea	Saliva entera no estimulada	pg/ml	ELISA competitivo
<i>Sowmya et al.</i> ⁵	Cortisol	Glucocorticoide	Saliva entera no estimulada	mcg/dL	Electroquimioluminiscencia (ECL)
<i>Wen et al.</i> ³⁴	1660.2 Da, 1783.0 Da, 2912.5 Da, 4178.6 Da, 5064.9 Da, 6108.9	Péptidos	FGC tomado tiras de papel	ug/mL	MALDI-TOF/MS
<i>Perinetti et al.</i> ¹	FA	Enzima	FGC tomado con tiras de papel	mU/muestra	Ensayo de espectrofotometría
<i>Perinetti et al.</i> ⁴	Contenido proteico y FA	Proteinas/enzima	FGC tomado con tiras de papel	microg/muestra	Ensayo de espectrofotometria
<i>Tarvade et al.</i> ¹⁹	FA	Enzima	Muestras de saliva, no indica la técnica	IU/L	Método enzimático utilizando un análisis colorimétrico
<i>Wen et al.</i> ³⁵	Proteoma	Enzima	FGC tomado con tiras de papel	µg/ml	SDS-PAGE,digestión en gel (MS), TMT, ELISA
<i>Wijaya et al.</i> ³³	FA específica ósea	Enzima	Saliva entera no estimulada	pg/mL	Método de Bradford para cuantificar proteínas (hermo Fisher Scientific, USA),ELISA
<i>Hedge et al.</i> ³⁸	FA específica ósea	Enzima	Saliva entera no estimulada	U/l	ELISA (Human Bone Alkaline Phosphatase ELISA kit, Kinesis Dx, Los Angeles, USA)
<i>Wen et al.</i> ³⁶	Serotransferrina y proteína de unión a vitamina D	Proteinas	FGC tomado tiras de papel	Biomarcador/ % de proteínas em FGC	Kit bicinchoninic acid kit (Beyotime Biotechnology, Beijing, China), ELISA kits of human DBP and TF (Qisong Company, Beijing, China)
<i>Anbuselvan</i> ³⁹	FA	Enzima	Saliva entera no estimulada	U/L	Kit comercial para FA, espectrofotometría
<i>Perinetti y Contardo</i> ³⁷	FA	Enzima	FGC tomado conos de papel	mU/muestra	Los ensayos bioquímicos y las tasas de aumento de la absorbancia se leyeron con un espectrofotómetro.
<i>Wijaya et al.</i> ³²	FA específica ósea	Enzima	Saliva entera no estimulada	Pg/ml	Método de Bradford para cuantificar proteínas (Thermo Fisher Scientific, USA), ELISA kit (Elabscience China)
<i>Nayak et al.</i> ²	IGF-I	Hormona	Copa de Lashley modificada de la glándula parótida	ng/ml	IRMA

Tabla 5. Prueba de referencia utilizada y hallazgos de los estudios incluidos

Autor	Prueba de referencia	Concentración/actividad de biomarcadores orales	Valor de p	Conclusiones	Limitaciones/implicancias clínicas
<i>Alhazmi et al.</i> ³	CVM Baccetti et al.	FA salival alcanzó el pico en la etapa puberal temprana, mayor concentración de proteínas en CVM III y CVM V. Correlación positiva significativa entre la edad y el CVMS.	≤0.05	La edad cronológica y actividad de la FA salival predicen mejor los estadios de CVM.	-Baja confiabilidad interexaminador para CVM. -Toma de muestra y Rx. en diferentes días. -Participantes principalmente caucásicos.
<i>Irham et al.</i> ³¹	CVM Baccetti et al.	Concentración de FA orden decreciente: Fase puberal: 233,39 ± 106,29 (UI/L) Fase pre-puberal: 192,87 ± 69,02 (UI/L) Fase post-puberal: 79,20 ± 31,41 (UI/L)	0.05	Concentración de FA similar entre mujeres y hombres hasta los 10 años. Niveles más altos en mujeres entre los 10-11 años; disminuyen después de los 12 años.	La concentración de FA salival puede ser útil para identificar las fases de crecimiento y determinar el momento para realizar el tratamiento ortopédico/funcional o iniciar la planificación quirúrgica.
<i>Sangeeth K.</i> ³⁰	CVM Baccetti et al.	Niveles de DHEA salival fueron de: -Pre-puberal :25 pg/ml -Puberal: de 25 pg/ml a 57 pg/ml -Post-puberal superior a 57 pg/ml	0.05	La correlación de los niveles de DHEA salival con los CVM demuestra que puede ser un posible SMI.	Necesidad de mayor tamaño de muestra para establecer los rangos precisos de las seis etapas CVM.
<i>Sowmya et al.</i> ⁵	CVM Baccetti et al.	Valores promedio y DS: CSI-CSII: 0,28 ± 0,05 mcg/dL; CS3-CS4: 0,50 ± 0,11 mcg/dL y CS5-CS6: 0,61 ± 0,13 mcg/dL.	<0.05	La mayor concentración de cortisol salival se encontró en el grupo puberal.	La validación del cortisol salival para evaluar el estado puberal debe confirmarse mediante estudios longitudinales con una muestra mayor.
<i>Wen et al.</i> ³⁴	CVM Baccetti et al.	MALDI-TOF/MS mostró que el perfil peptídico del FGC es diferente entre el grupo puberal y post-puberal. Seis péptidos fueron significativamente diferentes: 1660,2 Da, 1783,0 Da, 2912,5 Da, 4178,6 Da, 5064,9 Da y 6108,9 Da.	<0.05	MALDI-TOF/MS en el análisis proteómico del FGC permite la identificación múltiple de biomarcadores.	El tamaño de la muestra fue reducido y se necesitan más estudios para identificar potenciales biomarcadores.
<i>Perinetti et al.</i> ¹	CVM Baccetti et al.	Significancia entre la actividad de FA en FGC y los CVM. Dos picos en la actividad enzimática de las etapas puberales (CS3 y CS4), tanto en los sitios maxilares como mandibulares.	<0.05	La FA en FGC parece ser un candidato a biomarcador del pico de crecimiento puberal en sujetos periodontalmente sanos.	El tipo de maloclusión esquelética sagital per se no influye en la actividad de FA FGC.
<i>Perinetti et al.</i> ⁴	CVM Baccetti et al.	La actividad FA total mostró un pico en la fase de crecimiento puberal. Sitios maxilares y mandibulares: 73.8 y 78.9 mU/muestra, respectivamente.	<0.05	La actividad FA en FGC normalizada obtuvo una baja correlación con la fase de crecimiento. No se observaron diferencias entre los sitios maxilares y mandibulares, ni por sexo.	El contenido total proteico FGC no es sensible a la fase de crecimiento pero la actividad de FA tiene potencial diagnóstico cuando se expresa en un valor total no normalizado.
<i>Tarvade et al.</i> ¹⁹	HWM Hagg y Taranger	Diferencias significativas entre los niveles de FA y estadios HWM mostrando una asociación con la edad esquelética a los 13 años; y en niñas y niños de 12 años y 13 años, respectivamente, en MP3-G con un crecimiento máximo.	0.05	Los niveles de FA salival pueden utilizarse como una herramienta de diagnóstico adicional.	La recolección de saliva es un procedimiento fácil, no invasivo y requiere de pocos materiales.
<i>Wen et al.</i> ³⁵	CVM Baccetti et al.	Detección de 537 proteínas en muestras de FGC. La expresión de TF y DBP se	<0.05	La TMT en combinación con LC-MS/MS probaron ser	El tamaño muestral fue reducido, los factores dietéticos como la ingesta de

		incrementó en niños en estadio circumpuberal.		métodos útiles para el análisis proteómico.	Vit D y hierro, no se tomaron en cuenta. Se requiere de estudios longitudinales para validar los resultados.
<i>Wijaya et al.</i> ³³	CVM Baccetti et al.	Concentraciones de mayor a menor: fase pre-pico 1000.71 pg/mL, fase de pico de crecimiento 834.80 pg/mL y fase post-pico 619.16 pg/mL.	<0.05	Los niveles FA específica ósea en saliva son altos en la fase previa al pico, luego disminuyen.	Se necesitan estudios para comparar los niveles de FA específica ósea en saliva y FGC. Se recomienda investigar la relación entre sus concentraciones y las actividades totales de FA.
<i>Hedge et al.</i> ³⁸	HWM Hagg y Taranger	Concentración salival muestra un valor significativamente más alto en el pico de crecimiento puberal (etapa MP3-G) y bajos en el período pre-puberal (etapa So) y finalización del crecimiento (etapa R-J)	<0.05	La FA específica ósea mostró una correlación significativa con las diferentes etapas de maduración esquelética.	La FA específica ósea se puede identificar y estimar cuantitativamente en saliva en diferentes etapas de maduración esquelética según lo evaluado por el HWM (Hagg y Taranger)
<i>Wen et al.</i> ³⁶	CVM Baccetti et al.	El porcentaje de TF fue significativamente mayor en púberes, en sujetos con maloclusión Clase I y Clase II, mientras que la diferencia observada en la DBP fue menos significativa.	<0.05	El TF maxilar mostró mejor precisión diagnóstica entre los biomarcadores GCF con AUC superior a 0,8. La edad cronológica no fue un indicador fiable del pico de crecimiento puberal.	La TF en FGC podría considerarse como un biomarcador potencial del pico puberal.
<i>Anbuselvan</i> ³⁹	HWM Hagg y Taranger/ CVM Hassel y Farman	La mayor concentración se observó en el grupo de pico de crecimiento puberal (96.23 U/L) para MP3-G y H/CVM III y IV.	<0.05	La FA salival se correlaciona con las etapas CVM y HWM que mostrando valores máximos en las etapas puberales.	La FA salival podría considerarse como método alternativo para evaluar la maduración esquelética.
<i>Perinetti y Contardo</i> ³⁷	CVM Baccetti et al.	La actividad de FA en FGC fue mayor en la fase de crecimiento puberal. Los odds ratios para los sujetos prepúberes y postpúberes, en relación con el grupo puberal, fueron 0,76 y 0,84, respectivamente.	<0.05	La actividad de FA es un candidato válido para la identificación del pico de crecimiento puberal independientemente de la fase de dentición.	El análisis FGC ofrece ventajas en la toma de muestras, además, la actividad puede determinarse mediante análisis de laboratorio rutinarios disponibles.
<i>Wijaya et al.</i> ³²	CVM Baccetti et al.	La mayor concentración promedio de FA específica ósea se encontró en la fase de pre-pico de crecimiento puberal (CVM I-II) 931.90 pg/ml y la más baja en la fase de crecimiento puberal posterior al pico (CVM V-VI) 777.58 pg/ml.	<0.05	No se encontraron diferencias en el nivel de FA salival durante la fases de crecimiento puberal. Su uso como biomarcador es cuestionable.	Existe la necesidad de realizar más estudios para este biomarcador.
<i>Nayak et al.</i> ²	QCVM Chen et al.	Los niveles IGF-1 salival y la tasa de secreción fueron bajos en la etapa de aceleración de la velocidad (2,1 ng/ml y 0,063 ng/min). Aumentaron hasta un pico en la etapa de alta velocidad (4,3 ng/ml y 0,163 ng/min). En la etapa de desaceleración, los niveles disminuyeron (3,5 ng/ml y 0,14 ng/min).	<0.05	Los niveles de IGF-1 salival o su tasa de secreción pueden utilizarse como un indicador del crecimiento esquelético, pero se necesitan datos longitudinales para confirmarlo.	El IGF-1 presenta niveles reducidos en saliva y es difícil obtener saliva pura sin contaminación. La disponibilidad rutinaria de ensayos especializados es cuestionable.

Anexo 10

Evaluación del riesgo de sesgo y problemas de aplicabilidad (QUADAS-2)

Tabla 6. Resumen QUADAS-2 de los estudios incluidos en la revisión sistemática

Estudio	RIESGO DE SESGO				APLICABILIDAD		
	Selección de pacientes	Prueba índice	Prueba de referencia	Flujo y tiempos	Selección de pacientes	Prueba índice	Prueba de referencia
<i>Alhazmi et al.</i> ³	🔴	🟡?	🟡?	😊	🟡?	😊	😊
<i>Irham et al.</i> ³¹	😊	🟡?	🟡?	😊	😊	😊	😊
<i>Sangeeth K.</i> ³⁰	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Sowmya et al.</i> ⁵	🔴	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Wen et al. 2016</i> ³⁴	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Perinetti et al. 2011</i> ¹	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Perinetti et al. 2012</i> ⁴	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Tarvade et al.</i> ¹⁹	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Wen et al. 2017</i> ²⁵	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Wijaya et al. 2019</i> ³³	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Hedge et al.</i> ³⁸	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Wen et al. 2021</i> ³⁶	😊	😊	😊	😊	😊	🟡?	😊
<i>Anbuselvan</i> ³⁹	😊	🟡?	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Perinetti y Contardo 2016</i> ²⁷	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Wijaya et al. 2017</i> ²²	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
<i>Nayak et al.</i> ²	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊

😊 Riesgo Bajo 🔴 Riesgo Alto 🟡? Riesgo Incierto

Figura 4. Resultados generales de las evaluaciones de calidad de los estudios incluidos utilizando la herramienta QUADAS-2

