

**ASOCIACIÓN ENTRE FISURAS LABIO PALATINAS NO SINDRÓMICAS,
CARACTERÍSTICAS CRANEOFACIALES Y EXPOSICIÓN A METALES PESADOS
EN FAMILIAS DE LA CIUDAD DE CARTAGENA.**

Luis Wilches Vergara
Lesbia Tirado Amador
Luis Carmona Arango
Farith González Martínez

Universidad De Cartagena
Facultad De Odontología
Programa Odontología
X semestre
Publicaciones científicas
Cartagena de Indias
2016

**ASOCIACIÓN ENTRE FISURAS LABIO PALATINAS NO SINDRÓMICAS,
CARACTERÍSTICAS CRANEOFACIALES Y EXPOSICIÓN A METALES PESADOS
EN FAMILIAS DE LA CIUDAD DE CARTAGENA.**

Investigadores principales

DR. FARITH DAMIAN GONZALEZ MARTINEZ

Odontólogo – Universidad De Cartagena

Maestría en salud pública – Universidad Nacional

Doctorado en toxicología ambiental – Universidad De Cartagena

DR LUIS EDUARDO CARMONA ARANGO

Odontólogo – Universidad De Cartagena

Maestría en Microbiología – Universidad De Cartagena

Coinvestigadores

LUIS ALBERTO WILCHES VERGARA

Estudiante de odontología - Universidad De Cartagena

DRA. LESBIA ROSA TIRADO AMADOR

Odontóloga – Universidad De Cartagena

Estudiante de maestría en estadística – Universidad Tecnológica de Bolívar

Nota de aceptación

Firma del jurado No 1

Firma del jurado No 2

Cartagena de Indias, Enero de 2016

CONTENIDO.

	Pág.
Resumen	6
Introducción	9
1. Planteamiento del problema y su justificación	11
2. Objetivos	14
2.1 Objetivo general	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. Marco teórico	15
4. Metodología	18
5. Resultados	26
6. Discusión	32
7. Conclusión	38
8. Recomendaciones	39
9. Bibliografía	40

LISTA DE TABLAS.

	Pág.
Tabla 1. Características sociodemográficas entre los casos y controles.	26
Tabla 2. Medidas antropométricas entre casos y controles, de acuerdo con el tipo de fisura.	27
Tabla 3. Medidas faciales entre casos y controles, de acuerdo con el tipo de Fisura.	29
Tabla 4. Relación entre las medidas antropométricas y faciales entre los casos y controles.	30
Tabla 5. Valor promedio de metales pesados en los grupos (Caso y control).	31

RESUMEN.

INTRODUCCIÓN. Las fisuras bucales se generan a partir de la falta de unión o fusión de los tejidos del labio o del paladar durante las primeras etapas del desarrollo fetal. Estas se encuentran entre los más comunes defectos congénitos causados por el desarrollo facial anormal durante la gestación. Según la extensión pueden limitarse al labio, o extenderse al paladar de manera incompleta, completa y bilateral. La etiología de las fisuras Labio Palatinas No Sindrómicas (FLPNS) no se encuentra totalmente aclarada, sin embargo se intenta explicar por medio del modelo de umbral multifactorial, en el cual se plantea que es producto de la interacción de factores endógenos (genes) y factores exógenos (exposiciones ambientales). Algunos de los factores asociados a la aparición de FLAPNS son exposición intensa a la luz Ultravioleta (UV), y además a ciclos de enfermedades infecciosas y la exposición a fertilizantes o pesticidas usados en el sector agropecuario para controlar plagas, modificaciones de los niveles de metales pesados como el cobre cuando se incrementa y disminución de los niveles de Zinc. Así mismo, es reconocido que las madres que han tenido hijos con FLPNS comparten algunos rasgos morfológicos presentes en el fenotipo cráneo-facial y estos pueden ser evidencia del aporte genético de los padres, lo cual incrementa el riesgo en sus hijos. **OBJETIVO.** El objetivo del presente proyecto es estimar la asociación entre la presencia de FLPNS en familias Cartageneras, las características morfológicas cráneo-faciales y la exposición a metales pesados. **METODOLOGÍA.** Este diseño es analítico tipo casos y controles. El tamaño de la muestra se calculó en el programa epi-info a partir de un error tipo I del 5% y un poder

del 80%, asumiendo la frecuencia esperada de la exposición en el grupo control del 20%, para una relación de casos y controles de 1:1, requiriéndose 120 familias; 60 casos y 60 controles. Se denominaron casos a las familias que tengan niños con FLPNS, evaluándolos mediante un cuestionario sobre características de FLPNS Síndromicas, con historia residencial en la ciudad de Cartagena durante la concepción del niño y que acepten participar en la obtención de muestras de saliva, fotografías de frente y de perfil y radiografías laterales y posteroanteriores. Se denominaron como controles a las familias con niños de similares edades que no presenten FLPNS con historia residencial en la ciudad de Cartagena durante la concepción del niño. Los datos fueron analizados mediante pruebas de tendencia central y dispersión. Los estimadores de asociación fueron obtenidos usando las razones de disparidad y el coeficiente de correlación de Pearson. **RESULTADOS.** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones de la línea media facial-zigión derecha ($p < 0,05$) y la línea media facial-zigión izquierda ($p < 0,05$), al evaluar las mediciones cefalométricas en los dos grupos, teniendo en cuenta el tipo de fisura siendo mayor el promedio para los padres que tenían niños con FLPNS bilaterales. Respecto a las medidas faciales entre casos y controles, de acuerdo con el tipo de fisura hubo diferencias significativas en línea media facial-zigión derecho ($p < 0,05$) y la línea media facial-zigión izquierdo ($p < 0,05$), siendo mayor el promedio para los padres que tenían niños con FLPNS unilaterales. Para las diferencias entre las proporciones obtenidas para las mediciones faciales entre los casos y controles, se presentó significancia para las diferencias distancia intercantal, siendo mayor para los controles solo en los padres ($p = 0,005$) como para los valores generales ($p = 0,002$). En lo que

respecta a la medición de metales pesados (Cu y Zn) en saliva no se encontraron diferencias significativas en los niveles reportados para los dos grupos.

CONCLUSIONES. Existe asociación entre varias características fenotípicas de los familiares (padres y madres) con las características clínicas de los niños con y sin FLPNS de la ciudad de Cartagena, como faciales y dactilares como variaciones en el tercio medio e inferior de la cara, alas nasales y un aumento en la asimetría de la tienda izquierda y presilla radial izquierda, lo que nos indica que aumentan el riesgo o predisposición de tener un niño con FLPNS en las familias cartageneras.

Palabras clave: fisura labio palatina; características craneofaciales; exposiciones ambientales; metales pesados.

INTRODUCCIÓN.

El desarrollo normal facial de un individuo se inicia con la migración de las células de la cresta neural que al combinarse con las células mesodérmicas generan el primordio facial. Las fisuras bucales se generan a partir de la falta de unión o fusión de los tejidos del labio o del paladar durante las primeras etapas del desarrollo fetal. Las fisuras de la región orofacial se encuentran entre los más comunes defectos congénitos causados por el desarrollo facial anormal durante la gestación. Estas pueden clasificarse en hendiduras labiales y del paladar. La fisura labial se considera una anomalía congénita del paladar primario (es decir, anterior al agujero incisivo), la cual puede ser completa, incompleta o microformas, unilateral o bilateral, y puede implicar una fisura palatina. Un paladar hendido está clasificado como una anomalía congénita del paladar secundario y puede ser completa o incompleta, unilateral o bilateral, o en la submucosa(1). La incidencia global de hendidura orofacial es de aproximadamente uno de cada 700 nacidos vivos, esta frecuencia varía en relación al origen étnico, el área geográfica y a la naturaleza propia hendidura.

En el contexto de las fisuras labiales extendidas a paladar, la incidencia es de aproximadamente 0,3 por cada 1000 en poblaciones afroamericanas, de 1,0 por cada 1000 en poblaciones caucásicas y de 2,1 por cada 1000 en poblaciones asiáticas. Las fisuras unilaterales son nueve veces más comunes que las fisuras bilaterales. Los varones son en su mayoría más afectados por fisuras labiales en una relación de 2:1, respecto a las mujeres; mientras que las mujeres son más afectadas por fisuras palatinas(2). El presente estudio tiene como fin obtener un modelo predictor del riesgo

que tiene una pareja para concebir un niño con FLPNS a partir de la identificación de ciertas características craneofaciales asociadas a la presencia de un polimorfismo en el gen AXIN2, el cual influye en la susceptibilidad de FLPNS. Así mismo, el modelo incluye como covariables la presencia de algunos metales pesados en saliva y cabello, los cuales son considerados biomarcadores que incrementan el riesgo para presentar FLPNS.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y SU JUSTIFICACIÓN.

Las FLPNS presentan un incremento en los últimos años, constituyendo uno de los principales problemas morfológicos, funcionales y estéticos. En Colombia este tipo de malformaciones se presenta con una prevalencia de 1:1.000 nacidos vivos y el Tercer Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB III), reportó una prevalencia tanto de labio como de paladar fisurado de 0,2% en el total de las personas examinadas³. A nivel local existen investigaciones como la realizada en el hospital Universitario de Cartagena para determinar la prevalencia por medio de 4.226 registros de historias clínicas hospitalarias durante un periodo de 7 años. Sin embargo no se encuentra alta evidencia de estudios epidemiológicos que reporten la magnitud y frecuencia con la que algunos factores de riesgo, como la exposición a metales pesados, se asocian con la aparición de esta enfermedad, lo que permitirá desarrollar nuevas estrategias y políticas de manipulación en las industrias que permitan un control exhaustivo del manejo de estos compuestos químicos, a fin de evitar que la comunidad se encuentre expuesta y pueda presentar alteraciones en su salud, principalmente secuelas morfológicas en los niños durante el desarrollo fetal, para así poder contribuir a disminuir su prevalencia.

La etiología de las fisuras Labio Palatinas No Sindrómicas (FLPNS) no se encuentra totalmente aclarada, sin embargo se intenta explicar por medio del modelo de umbral multifactorial, en el cual se plantea que es producto de la interacción de factores endógenos (genes) y factores ambientales(4-6). Algunos de los factores estacionales

de las madres implicados en la etiología de las hendiduras, se encuentran la exposición intensa a la luz Ultravioleta (UV), y además a ciclos de enfermedades infecciosas y la exposición a fertilizantes o pesticidas usados en el sector agropecuario para controlar plagas en los cultivos(7). Otro de los factores asociados con la aparición de fisuras orofaciales son las modificaciones de los niveles de metales pesados como el cobre al producirse incremento o la disminución en los niveles de zinc en el organismo. El monitoreo de estos valores basales de zinc se ha usado para identificar el riesgo de fisuras(8).

En otros estudios realizados en los países bajos, Filipinas y Polonia se ha utilizado el nivel bajo de zinc como un factor de riesgo materno en la aparición de fisuras orofaciales, estos marcadores surgieron por reportes de valores medios de Zinc Sérico menos frecuentes en las madres que dieron a luz a niños con este defecto de nacimiento, en relación a aquellas cuyos hijos nacieron sanos(9-12). En un segundo estudio en Polonia se obtuvo que las bajas concentraciones de zinc en sangre aumentan el riesgo a 2,5 veces, de que la descendencia nazca con fisuras orofaciales(13,14).

Así mismo, es reconocido que las madres que han tenido hijos con FLPNS comparten algunos rasgos morfológicos presentes en el fenotipo cráneo-facial y estos pueden ser evidencia del aporte genético de los padres, lo cual incrementa el riesgo de FLPNS en sus hijos. El tamaño de la mandíbula, la presencia de asimetrías faciales, de asimetrías en las manos y otros rasgos fenotípicos parecen estar conectadas con el desarrollo de

FLPNS unilaterales y bilaterales. El fenotipo cráneo-facial ha sido descrito también como un factor de riesgo de presentar fisura. Se especula que estas características morfológicas poseen un patrón hereditario que probablemente se relaciona con la forma craneofacial de los padres biológicos; que fenotípicamente varían con respecto a la población general(15). Dentro de las particularidades anatómicas de los sujetos con fisuras labiales se puede encontrar la disminución vertical del macizo nasomaxilar(16), así como también una reducción en las dimensiones del maxilar superior, con poca o ninguna alteración en las dimensiones del maxilar inferior a nivel de la rama ascendente(17), la forma de la cara, y la asimetría son los rasgos que al parecer presentan una mayor susceptibilidad(18,19).

Diversos trabajos reportan que algunos genes como MSX1(20), IRF636(21), GABA(22), TGFB3(20), muestran gran susceptibilidad para riesgo de fisura en algunas poblaciones, pero en otras no. Weinberg et al(21) 2006 sugieren que estas inconsistencias son debidas a una deficiencia en la clasificación de las personas afectadas con FLPNS y propone realizar investigaciones que conduzcan a ampliar el fenotipo contemplado actualmente para esta patología.

Los autores plantean resolver el siguiente interrogante ¿Existe asociación entre la presencia de FLPNS en familias Cartageneras y las características morfológicas cráneo-faciales y exposición a metales pesados en los padres?

2. OBJETIVOS.

2.1. Objetivo general.

Estimar la asociación entre la presencia o no de FLPNS en familias Cartageneras y las características morfológicas cráneo-faciales y exposición a metales pesados en sus padres.

2.2. Objetivos específicos.

- Describir la distribución de las características sociodemográficas en los sujetos de estudio.
- Describir las mediciones cráneo-faciales en las familias que presenten o no FLPNS.
- Evaluar las características morfológicas en familias con y sin FLPNS.
- Cuantificar las concentraciones de metales pesados (zinc y cobre) en muestras de saliva y cabello de padres provenientes de familias con y sin FLPNS.
- Describir la proporción de participantes expuestos a concentraciones de metales pesados por encima de los valores de referencia en familiares con y sin FLPNS.
- Cuantificar la fuerza de asociación entre las mediciones morfológicas craneofaciales, exposición a metales pesados y características sociodemográficas en padres de familias con y sin FLPNS.

3. MARCO TEORICO.

Las FLPNS ocurren por la unión insuficiente de los procesos maxilares y del labio durante la gestación. La formación del paladar y el labio se dan desde finales de la quinta a la duodécima semana de embarazo, pero el periodo crítico va de la sexta a la novena semana, en donde los procesos palatinos migran hacia la línea media; cuando alguno de los dos procesos alcanza su objetivo se produce una fisura de tipo unilateral y si ninguno de los dos logra llegar a la línea media se produce una fisura bilateral(6,7). Ésta una de las patologías congénitas de más alta prevalencia, la literatura reporta que es más común entre los asiáticos y determinados grupos de indios americanos. Su incidencia es menor entre los afroamericanos. Se ha comprobado que las fisuras de labios son más frecuentes en los varones(8-10), mientras que las fisuras aisladas del paladar son más comunes en las mujeres(10-12). Igualmente, el compromiso del labio fisurado es más frecuente del lado izquierdo que el derecho(9-13). Estos fenómenos carecen de explicación, y la causa subyacente de la deformidad se comprende sólo de una manera parcial. La falta de unión de las partes que normalmente forman el labio y el paladar, se produce en un momento temprano de la vida fetal.

La etiología de FLPNS es multifactorial influenciada por factores genéticos, exposición ambiental, características craneofaciales, presencia de metales pesados en altas dosis dentro del organismo(3-5). Se ha asociado los niveles bajos de zinc con la aparición de fisuras orofaciales(8).

Las enzimas con actividad colinesterasa pueden ser inhibidas por ciertos agentes químicos como los insecticidas organofosforados (OP) y carbamatos (CB), así como ciertos metales pesados y detergentes. Por ello, un nivel disminuido de actividad colinesterasa en tejidos de origen animal es un signo fuertemente indicativo de que se ha producido algún tipo de exposición a un agente inhibidor de esta enzima(9). La saliva se ha utilizado para evaluar una amplia gama de marcadores biológicos, drogas, y los contaminantes ambientales, como metales pesados (Mercurio, Cobre y Zinc) y pesticidas(10). Una de las formas de exposición al mercurio es la inhalación de aire que contiene vapor de mercurio liberado de los rellenos utilizados en diversas actividades industriales y por otro lado la confección de amalgamas para uso odontológico, lográndose una absorción del 10% del Hg hacia los pulmones. Esta exposición puede lograrse de manera directa por medio de las restauraciones de las amalgamas dentales, ya que la disolución de algunas partículas por corrosión en la saliva o por medio del jugo gástrico, pueden permitir una absorción de aproximadamente del 5%(11). Por tanto un individuo con un promedio de ocho amalgamas oclusales, puede tener un total 120g de Hg liberado a diario en la saliva y luego ingresar por esta vía a sangre. Por otro lado al menos el 65% del mercurio excretado en la orina humana se deriva únicamente de las amalgamas dentales. Por ende las concentraciones de estos metales en saliva, orina y sangre pueden estar aumentadas en los sujetos con restauraciones dentales de amalgama que en aquellos que no las poseen(12).

Así mismo, es reconocido que las madres que han tenido hijos con FLPNS comparten algunos rasgos morfológicos presentes en el fenotipo cráneo-facial y estos pueden ser evidencia del aporte genético de los padres, lo cual incrementa el riesgo de FLPNS en sus hijos. El tamaño de la mandíbula, la presencia de asimetrías faciales, de asimetrías en las manos y otros rasgos fenotípicos parecen estar conectadas con el desarrollo de FLPNS unilaterales y bilaterales. El fenotipo craneofacial ha sido descrito también como un factor de riesgo de presentar fisura. Se especula que estas características morfológicas poseen un patrón hereditario que probablemente se relaciona con la forma craneofacial de los padres biológicos; que fenotípicamente varían con respecto a la población general(15). Dentro de las particularidades anatómicas de los sujetos con fisuras labiales se puede encontrar la disminución vertical del macizo nasomaxilar(16), así como también una reducción en las dimensiones del maxilar superior, con poca o ninguna alteración en las dimensiones del maxilar inferior a nivel de la rama ascendente(17), la forma de la cara, y la asimetría son los rasgos que al parecer presentan una mayor susceptibilidad(18,19).

4. METODOLOGÍA.

Estudio de tipo analítico de casos y controles, retrospectivo. Se incluyeron 120 sujetos de estudio; 60 casos y 60 controles; distribuidos de la siguientes forma; los 60 casos estuvieron conformados por padres de niños con FLPNS, convocados en diferentes centros de atención en la ciudad de Cartagena durante el año 2014 y 2015; El Hospital Universitario del Caribe, la Clínica Maternidad Rafael Calvo y otras entidades sin ánimo de lucro. Los 60 controles fueron madres y padres de niños sin FLPNS, emparejados por edad, sexo, región de procedencia y origen étnico, elegidos a partir de las características sociodemográficas presentadas por los casos como referencias. Para el cálculo de la muestra se tuvo en cuenta un nivel de confianza de 95%, con un error tipo I del 5% y una frecuencia esperada de la variable fenotípica.

Para el reclutamiento de los participantes inicialmente se contactó a los padres y sujetos de estudio por medio de la información suministrada por las diferentes instituciones anteriormente mencionadas, con sus debidos requerimientos y criterios de selección. Para esto se tuvieron en cuenta los hospitales de referencia para la atención de los niños con FLPNS en la ciudad de Cartagena, luego se les presentó el consentimiento informado a los padres o personas encargadas, cuya finalidad consistió en explicarles a los participantes mayores de edad sobre el objetivo del estudio y las actividades que serían realizadas, teniendo en cuenta los riesgos y beneficios que se obtendrían. Una vez diligenciado éste, se prosiguió al diligenciamiento de un formato que recopilaba información de aspectos socio-demográficos (sexo, edad, procedencia,

domicilio) y posibles factores de asociados a la FLPNS (alcohol, tabaquismo y antecedentes familiares de cáncer).

Fueron incluidos únicamente participantes mujeres y hombres con fisura labiopalatina unilateral o bilateral no sindrómica (FLPNS). Individuos con síndromes, presencia de otras patologías asociadas o con fisura palatina aislada fueron excluidos del estudio. Además, no se incluyeron sujetos cuyos padres no puedan ser analizados para esta investigación o cuyos padres presentaron cicatrices, tatuajes o aquellos padres que no aceptaron participar en el estudio a partir de su consentimiento informado por escrito, teniendo en cuenta la normatividad nacional vigente resolución 8430 de 1993 antiguo Ministerio de Salud- República de Colombia(20).

Este consentimiento contenía la información suficiente para solicitar la donación de muestras de saliva de cada miembro, fotografías de frente y de perfil y radiografías panorámicas, además se les explicaron los riesgos a que estarían expuestos y los beneficios que traerían los resultados del presente estudio en la población. Este proyecto obtuvo el aval ético a partir del comité de ética institucional Universidad de Cartagena y fue aprobado para financiación en la séptima convocatoria interna para proyectos de investigación de la Universidad de Cartagena.

Los datos de las historias clínicas de cada niño fueron complementados con un cuestionario para recolección de la información de variables de interés. Así mismo, se

realizaron varias sesiones de estandarización a través de una prueba piloto que permitió calibrar al operador y la estandarización de los protocolos en cuanto a la recolección de encuestas, toma de radiografías posteroanteriores, medidas cefalométricas, toma de fotografías faciales y manos, y mediciones de metales en saliva.

Para ambos grupos se diseñó un cuestionario tendiente a obtener información de los padres relacionada con las características socio-demográficas a partir de las siguientes variables: (1-edad, 2-sexo, 3-estrato socioeconómico, 3- procedencia, 4-ocupación).

Luego de obtener el concepto ético institucional se inician los procedimientos de estandarización y calibración de los instrumentos y los examinadores con el fin de disminuir los posibles sesgos de mala clasificación, los cuales consistieron en varias evaluaciones realizadas por un sujeto tomado como punto de referencia realizando análisis de concordancia ($\kappa=0,75$) para tener mediciones confiables. Así mismo se realizó una estandarización del examen clínico de la fisura labiopalatina unilateral o bilateral no sindrómica (FLPNS), comparándose los resultados con un examinador usado como referencia.

Valoración fenotípica de los participantes. A cada participante afectado con FLPNS se le realizó una valoración de cabeza y cuello con énfasis en el diagnóstico del tipo de fisura, utilizando la clasificación de Kernahan(21), la cual contiene los siguientes aspectos según el tipo de Fisura: Incompleta: fisura solo de paladar blando; Completa: fisuras de paladar blando y duro, que pueden ir hasta el agüero incisivo; Unilateral:

fisura unilateral completa de paladar primario y la totalidad del paladar secundario; Bilateral: fisura bilateral completa de los paladares primario y secundario; Submucosa: fisura del labio únicamente, no afecta el paladar. Esta clasificación considera que es necesario tener en cuenta el foramen palatino si se ubica antes de este cubija nariz y piso nasal derecho e izquierdo, nomenclatura correspondiente a 1 y 4 compromiso de labio, 2 y 5 alveolo, 3 y 6 paladar duro antes del foramen se clasifica en 7 y 8 paladar blando, 9 paladar blando.

Valoración de los niveles de metales pesados. En cuanto a las mediciones de metales (Cobre y Zinc) se realizaron las correspondientes curvas de calibración con blancos usando espectrometría de absorción atómica. Se obtuvieron los correspondientes valores de reproducibilidad para lograr la correspondiente reproducibilidad y precisión de los resultados.

Obtención de las muestras de saliva. Las muestras de saliva humana no estimulada (en reposo) se colectaron entre las 9 y las 11 de la mañana en tubos de polipropileno previamente fríos, en una cantidad de 5ml. A todos los sujetos se les indicó el lavado de los dientes utilizando el protocolo que utilizan cotidianamente y posterior a esto se les indicó la no ingesta de bebidas ni comida dos horas antes de la colección salival. Las muestras de los sujetos capaces de expectorar se obtuvieron siguiendo el protocolo de acuerdo con el método propuesto por Tenuovo, para el caso de los niños de meses no capaces de expectorar se procedió a la recolección de la saliva con una jeringa estéril y fue depositada la muestra en el frasco colector. Posteriormente fueron

llevadas al laboratorio de la Facultad de Medicina Universidad de Cartagena para analizadas con base en el siguiente protocolo:

Preparación y análisis de las muestras de saliva por absorción atómica (Medición de metales pesados; Cobre y Zinc).

Alrededor de 5 mL de saliva fueron digeridos con 1 mL de ácido nítrico grado suprapur y 100 mL de peróxido de hidrógeno en vasos de precipitado de 100 mL, tapados con vidrios de reloj. Las muestras fueron calentadas suavemente en una parrilla eléctrica teniendo cuidado de que no hirvieran, de modo que se evaporaran hasta alcanzar casi la sequedad. Una vez terminado este paso, los vasos se dejaron enfriar y se procedió a añadir 1 mL de ácido nítrico y nuevamente se evaporaron hasta que quedaron casi secos. Este procedimiento se repitió dos veces más hasta completar la digestión. Los residuos resultantes, una vez fríos, se disolvieron con 1 mL de ácido nítrico al 2.5% v/v (fórmula: HNO_3 ; M.=63,01). Las soluciones finales fueron transferidas cuantitativamente a matraces volumétricos de 5 mL. Una vez completado esto, los vasos de precipitado y los vidrios de reloj fueron enjuagados con agua desionizada; estas soluciones de enjuague se adicionaron a los matraces volumétricos con las muestras y así fueron aforadas al volumen (5 mL) con agua desionizada (la acidez de estas soluciones debe ser de 0.5% v/v). Paralelamente se trataron “blancos” de agua desionizada, como una medida control, siguiendo el procedimiento descrito para las muestras salivales. El control de calidad analítico se realizó por el método de recuperación (*spiked samples*), adicionando a las muestras cantidades conocidas de analitos, ya que no existen estándares de saliva de referencia certificados. Una vez procesadas las muestras, se determinó el contenido de cobre y

zinc por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando el sistema de horno de grafito(22).

Mediciones de la morfología craneofacial. Se tomaron fotos faciales de frente y de perfil para cada uno de los padres (madre o padre) de las familias participantes con FLPNS. Adicionalmente se tomaron las fotos faciales de frente y perfil en el grupo control. Este procedimiento fue estandarizado a partir de las indicaciones de los software requeridos para el análisis. Después de diversas tomas fotográficas se determinó que la manera más acertada fue medir a partir de la base del suelo hasta 90 centímetros de tal manera que la cuadrícula abarcara desde el torso del cuerpo hasta 10 cm o más de la superficie coronal del cráneo, el paciente se colocaba de espaldas al plotter y de frente a la cámara digital y al trípode con una distancia de 120 cm de este último a la pared de apoyo donde se encuentra el plotter, sin apretar los labios y en una posición de reposo tanto para los labios como para el cuerpo se encontraba de pie totalmente recto indicándole mirar al horizonte, colocando en un Angulo de 90° el mentón y su cuello, para ello el operador también coincidía la posición con la arrojada por el lente donde su línea facial media, intercantal y bipupilar coincidieran con las cuadrículas del plotter.

En el análisis de las fotografías, se estandarizó el tamaño de la cuadrícula de manera que se llevará a una escala de 1 a 1, con el software Adobe Photoshop Elements versión 6.0. Una vez que se obtenida la dimensión exacta de las fotos, se determinó digitalmente con ayuda de la barra de medición la dimensión de las diferentes medidas.

Además, se obtuvieron radiografías laterales de cráneo y posteroanteriores para valorar las posibles alteraciones dentales y esqueléticas presentes en los individuos con y sin FLPNS(23). Las radiografías posteroanteriores fueron tomadas en un mismo equipo (PANEREX; de la casa comercial MORITA), por un mismo operador calibrado. Por último, se estandarizaron a los encuestadores que realizaron las encuestas para el manejo del instrumento de recolección de datos y la forma de diligenciarlo, determinar el grado de aceptación de los mismos y las opciones de mejoramiento, lo que permitió hacer las modificaciones necesarias. Para las mediciones se tomaron radiografías posteroanteriores a los participantes del estudio (padre-madre) con el equipo de radiología (PANEREX; de la casa comercial MORITA) de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena. Posteriormente un investigador previamente calibrado identificaba los puntos de referencia intracraneales según análisis de Grummons (33) y así poder elaborar los trazos cefalométricos digitales en cada radiografía mediante el uso del software DOLPHIN. El proceso fue dirigido por un Ortodoncista- Radiólogo Oral y Maxilofacial experto en el manejo del Dolphin.

Análisis estadístico

Se inició a través del diseño de una base de datos en Excell® Microsoft® office 2007. Luego fue transportada al programa STATA® (Stata Corp. LP, College Station, TX, USA). Para todas las variables inicialmente se evaluó el supuesto de normalidad a partir del test de Shaphiro Wilk; para su análisis descriptivo se usaron las medidas de tendencia central y dispersión. Para las variables cualitativas (tipo de fisura y características sociodemográficas) se realizó análisis de frecuencias absolutas,

relativas y proporciones. Así mismo se evaluó la relación entre las mediciones antropométricas y faciales a través del coeficiente de correlación de Spearman. Fue usada la prueba t- student para grupos independientes para las diferencias de medias de las mediciones antropométricas y faciales entre el grupo de casos y el grupo de controles. Así mismo, para las diferencias entre proporciones obtenidas para las variables antropométricas, faciales y de huellas digitales entre el grupo de casos y el grupo de controles, se utilizó el test de χ^2 , con corrección de Yates. Se tuvo en cuenta intervalos de confianza del 95% y valores de significancia ($p < 0,05$). Para analizar las asociaciones entre las variables antropométricas, faciales y de huellas digitales y concentraciones de metales entre el grupo de casos y el grupo de controles con el tipo de fisura se realizó un análisis categórico a partir de tablas de contingencia, usando razones odds ratio (OR) e intervalos de confianza del 95%, la prueba χ^2 , con corrección de Yates para la significancia con una probabilidad límite de decisión ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS.

De acuerdo a las características socio-demográficas de los individuos evaluados, tenían un promedio de edad de 33 años (DE=7,6) para los casos y 33,2 años (DE=8,2) para los controles, siendo el grupo de edades más frecuente el de 24 a 35 años (43,6%), con una proporción similar entre casos y controles. Así mismo, en cuanto al sexo los grupos estuvieron emparejados. Por otra parte, en la procedencia la mayor frecuencia fue para la urbana (68,2%), presentando proporciones similares tanto casos como controles (tabla 1).

Tabla 1. Características sociodemográficas entre los casos y controles

Características	Casos (%)	Controles (%)	Total (%)
Grupos de edad			
19 a 24	9 (15)	9 (18,4)	18 (16,4)
25 a 35	27 (45)	21 (42,1)	48 (43,6)
>35	24 (40)	20 (39,5)	44 (40)
Sexo			
Masculino	30 (50)	25 (50)	55 (50)
Femenino	30 (50)	25 (50)	55 (50)
Procedencia			
Urbana	51 (85)	41 (82)	75 (68,2)
Rural	9 (15)	9 (18)	15 (13,6)
Total	60	50	110

p>0,05

Para las mediciones cefalométricas en los dos grupos, teniendo en cuenta el tipo de fisura, solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones de la línea media facial-zigión derecha ($p<0,05$) y la línea media facial-zigión izquierda ($p<0,05$), siendo mayor el promedio para los padres que tenían niños con FLPNS

bilaterales. En general los controles siempre tuvieron valores inferiores con respecto a los casos (tabla 2).

Tabla 2. Medidas antropométricas entre casos y controles, de acuerdo con el tipo de fisura

Medición	Mamá			Papá			Total		
	Caso		Control	Caso		Control	Caso		Control
	Unilateral	Bilateral	Sin fisura	Unilateral	Bilateral	Sin fisura	Unilateral	Bilateral	Sin fisura
Medidas antropométricas									
Trichion-glabela	56,6	53,5	54,3	53,4	61,5	56,3	55,8	56,4	54,8
Glabela-subnasale	60,8	60,9	61,2	64,6	60,1	64,8	61,7	60,6	62,2
Subnasale-mentón	57,0	58,5	58,2	62,5	62,2	63,0	58,3	59,8	59,5
Nasión-ala nasal derecha	54,3	54,7	55,0	58,2	55,0	58,1	55,2	54,8	55,9
Nasión-ala nasal izquierda	54,9	54,6	55,2	59,3	56,0	59,1	55,9	55,1	56,3
Subnasal-ala derecha	17,5	17,7	18,3	20,2	17,9	21,3	18,1	17,8	19,2
Subnasal-ala izquierda	17,1	17,2	17,8	19,5	18,6	20,4	17,7	17,7	18,5
Arco Cupido-comisura derecha	29,8	31,6	30,7	34,2	33,9	32,0	30,8	32,5	31,0
Arco Cupido-comisura izquierda	28,8	30,8	30,4	33,5	33,9	31,6	30,0	31,9	30,7
Línea media facial-zigión derecho*	65,4	64,9	62,6	66,6	70,6	63,2	65,7	67,0	62,7
Línea media facial-zigión izquierdo*	62,6	63,8	61,7	62,9	65,5	61,9	62,7	64,5	61,8
Bicomisura	50,9	53,7	50,5	57,3	56,9	53,2	52,4	54,8	51,2
Longitud oreja derecha (lateral)	48,2	48,6	50,5	54,7	51,0	56,5	49,8	49,5	52,2
Longitud oreja izquierda (lateral)	47,7	49,6	51,0	53,6	51,5	57,1	49,1	50,3	52,7

*Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Para las diferencias entre las proporciones obtenidas para las mediciones antropométricas entre los casos y controles, se presentó significancia para la relación línea media zigiónizq/der, siendo mayor para los controles solo en las madres ($p=0,03$) y para los valores generales ($p=0,005$). Además, también hubo diferencias para los

padres entre casos y controles en las mediciones de relación oreja nariz der/izq, siendo mayor en los controles ($p=0,03$). En cuanto a las proporciones de la relación lóbulo mentón der/izq, se encontraron diferencias en los valores generales, siendo mayor para los controles ($p=0,04$).

De acuerdo a las mediciones fotográficas en los dos grupos, teniendo en cuenta el tipo de fisura, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones de la línea media facial-zigión derecho ($p<0,05$) y la línea media facial-zigión izquierdo ($p<0,05$), siendo mayor el promedio para los padres que tenían niños con FLPNS unilaterales. En general los controles siempre tuvieron valores superiores con respecto a los casos. Además, hubo diferencias en las mediciones de Lóbulo-mentón derecho, cuyos promedios fueron superiores para las madres en el caso de niños con FLPNS bilateral ($p<0,05$) y para los padres en el caso de niños con FLPNS unilateral ($p<0,05$), aunque en este último, el promedio de los controles fue superior. Para las mediciones del lóbulo-mentón izquierdo, los valores siempre fueron superiores en los controles ($p <0,05$) (tabla 3).

Tabla 3. Medidas faciales entre casos y controles, de acuerdo con el tipo de fisura

Medición	Mamá			Papá			Total		
	Caso		Control	Caso		Control	Caso		Control
	Unilateral	Bilateral	Sin fisura	Unilateral	Bilateral	Sin fisura	Unilateral	Bilateral	Sin fisura
Medidas fotográficas									
Trichion-glabela	70,4	69,8	78,6	67,4	73,1	77,9	69,7	71,0	78,4
Glabela-subnasale	77,5	75,7	83,3	81,1	74,7	84,7	78,4	75,3	83,7
Subnasale-mentón	81,6	82,8	89,2	89,4	87,6	97,7	83,5	84,6	91,6
Nasión-ala nasal derecha	70,5	68,8	73,1	74,7	68,6	75,9	71,5	68,7	73,9
Nasión-ala nasal izquierda	70,8	69,1	73,0	74,0	68,9	75,7	71,6	69,0	73,8
Subnasal-ala derecha	17,6	17,8	19,2	19,1	17,8	20,7	18,0	17,8	19,6
Subnasal-ala izquierda	18,2	17,7	19,2	21,3	18,9	21,6	19,0	18,1	19,8
Arco Cupido-comisura derecha	31,3	32,9	34,4	35,1	32,2	35,0	32,2	32,7	34,6
Arco Cupido-comisura izquierda	31,8	30,6	33,8	35,2	33,3	35,6	32,6	31,6	34,3
Línea media facial-zigión derecho*	84,7	84,4	91,2	89,8	84,3	93,1	85,9	84,4	91,7
Línea media facial-zigión izquierdo*	85,7	82,4	89,6	88,0	86,2	93,0	86,2	83,8	90,6
Interlímbico ojo derecho-comisura labial izquierda	81,7	82,2	91,1	91,6	87,1	97,3	84,0	84,0	92,8
Interlímbico ojo izquierdo-comisura labial izquierda	82,5	81,7	91,9	91,3	86,4	97,8	84,6	83,4	93,5
Lóbulo-mentón derecho*	70,8	78,2	75,5	77,7	76,0	80,4	72,4	77,4	76,8
Lóbulo-mentón izquierdo*	70,9	76,6	76,8	75,6	77,6	83,0	72,0	76,9	78,6
Comisura labial derecha-zigión der.	53,5	52,1	57,6	54,4	57,2	59,5	53,8	54,0	58,1
Comisura labial izquierda-zigión izq.	54,3	51,3	55,6	53,7	56,1	59,6	54,1	53,0	56,7
Longitud total de la oreja	79,0	81,9	82,5	83,4	84,0	95,1	80,0	82,7	86,0
Longitud total de la nariz	68,5	67,8	70,0	78,9	70,4	73,2	70,9	68,7	70,9
Quinto facial medio derecho	36,2	36,2	39,5	37,4	36,4	40,8	36,5	36,2	39,9
Quinto facial medio izquierdo	36,8	36,7	39,6	37,9	36,7	40,6	37,0	36,7	39,9
Distancia intercantal	41,8	40,5	43,5	40,9	40,5	45,1	41,6	40,5	43,9
Distancia interalar	49,2	49,4	50,9	51,1	51,0	58,3	49,6	50,0	52,9
Longitud oreja derecha (frontal)	68,3	68,6	72,6	73,7	73,0	79,5	69,6	70,2	74,5
Longitud oreja izquierda (frontal)	69,0	69,4	72,7	74,3	73,6	81,1	70,3	70,9	75,1

*Diferencias estadísticamente significativas (p< 0,05)

Para las diferencias entre las proporciones obtenidas para las mediciones faciales entre los casos y controles, se presentó significancia para las diferencias distancia intercantal, siendo mayor para los controles solo en los padres (p=0,005) como para los valores generales (p=0,002). Además, también hubo significancia entre los casos y

controles en las diferencias distancia interalar, siendo superiores en los controles, tanto para padres ($p=0,001$) y valores generales ($p=0,03$). En cuanto a la relación entre las mediciones para los casos y controles la mayoría presentación correlación moderada según el coeficiente de Spearman con significancia estadística ($p<0,05$). Solo no se encontró significancia para las mediciones de la línea media facial a zigión derecho e izquierdo ($p 0,05$) (tabla 4).

Tabla 4. Relación entre las medidas antropométricas y faciales entre los casos y controles

Medida	Coeficiente de Spearman	p
Trichionlabela*	0,324	0,01
Glabelasubnasale*	0,503	<0,001
Subnasalementon*	0,463	<0,001
Nasion ala nasal derecha*	0,455	<0,001
Nasion ala nasal izquierda*	0,404	<0,001
Subnasal ala derecha*	0,330	<0,001
Subnasal ala izquierda*	0,445	<0,001
Cupido comisura derecha	0,350	<0,001
Cupido comisura izquierda*	0,486	<0,001
Línea media facial a zigión derecho	0,036	0,708
Línea media facial a zigión izquierdo	-0,016	0,867
Bicomisural*	0,396	<0,001

*Valores significativos ($p< 0,05$)

Respecto a la asociación entre las diferencias y proporciones para las mediciones entre los casos y los controles, hubo significancia con las siguientes variables; Relación nasion ala nasal izq/der; para las diferencias entre el 2 y el 5% (OR= 4,50; IC 95%; 1,8

-11,2) y las diferencias mayores al 5% (OR=6,75; IC 95% 2,0-23,1). Relación línea media zigionizq/der; para las diferencias mayores al 5% (OR=3,18; IC 95%; 1,2-8,4). Tercio con una mayor proporción (fotos); para el tercio medio (OR=22,8; IC 95%; 2,1-244,9) y para el tercio inferior (OR=8,26; IC 95%; 1,0-70,1). Relación longitud oreja izq/der; para las diferencias mayores al 5% (OR=3,17; IC 95%; 1,2-8,1). Relación arco cupido comisura labial izq/der(fotos); diferencias mayores al 5% (OR=0,27; IC 95%; 0,1-0,9).

En lo que respecta a la medición de metales pesados (Cu y Zn) en saliva no se encontraron diferencias significativas en los niveles reportados para los dos grupos (Tabla 5).

Tabla 5. Valor promedio de metales pesados en los grupos (Caso y control)

Metal pesado	Grupo Casos (n=60)	Grupo Controles (n=50)
Cobre (Cu)	Ref. 0,0196 ppm	
Masculino	0,0114 ppm	0,0079 ppm
Femenino	0,0125 ppm	0,0084 ppm
Zinc (Zn)	Ref. 23000-70000 ppm	
Masculino	0,2381 ppm	0,0216 ppm
Femenino	0,0683 ppm	0,0176 ppm

Unidades de medida: ppm (partes por millón).

6. DISCUSIÓN

El presente estudio tiene algunas limitaciones como la implementación de encuestas transversales para indagar sobre posibles factores asociados, los cual no permite establecer de manera certera asociaciones, sin embargo la realización de procedimientos como criterios de selección, emparejamiento por sexo y edad y la utilización de instrumentos calibrados permiten obtener resultados confiables y reproducibles acerca de la relación entre las características fenotípicas y clínicas de familias Cartagenera en presencia de FLPNS.

Por otro lado es importante reconocer que la medición de los metales pesados sólo se hizo considerando la saliva como única matriz biológica, lo cual puede influir en los resultados obtenidos, por lo que se sugiere para próximas investigaciones utilizar adicionalmente otras matrices como cabello lo que permitiría obtener información correspondiente a un mayor tiempo de exposición en comparación a la orina, la sangre y la saliva(34).

Los resultados del análisis de fotografías de frente y de perfil de padres de individuos afectados por FLPNS en la población cartagenera sugieren que existen diferencias entre las características fenotípicas faciales de los padres con y sin niños con FLPNS, lo cual podría servir como parte de otro trabajo de investigación en la predicción o riesgo de tener un niño con FLPNS, lo cual es similar a lo reportado por Borrero²³ quien afirma que la forma craneofacial de individuos con o sin fisura orofacial es distinta y

está influenciada por factores hereditarios, por lo cual existe la probabilidad de que la morfología craneofacial de los padres biológicos de los niños con FLPNS sea diferente a la población general, así mismo sostiene que algunos rasgos fenotípicos parecen estar relacionados con el desarrollo de fisuras labio palatinas unilaterales o bilaterales, entre ellos tenemos el tamaño de los tercios.

En el presente estudio se encontró un aumento en el tercio medio facial de los sujetos pertenecientes al grupo de FLPNS, evidenciándose una tendencia de valores mayores en comparación con los controles, lo cual concuerda con lo reportado por Young(35) en el 2004, contrario a esto autores como Nakasima(36), McIntyre(37) y Weinberg(32) reportan una disminución del tercio medio, aunque cabe aclarar que las contradicciones de estos resultados probablemente se deban a las diferencias en las metodologías empleadas por cada autor a evaluar este parámetro, ya que Weinberg utilizó modelos en 3D.

Para las diferencias entre las proporciones: se presentó significancia para la distancia intercantal e interalar, siendo superiores en los controles, tanto para padres y valores generales, contrario a esto Borrero(23) no encontró diferencias estadísticamente significativas al comparar el ancho nasal (alar-alar) con la distancia intercantal interna, ya que tanto los casos como controles presentaron un mayor ancho nasal en el 90% y el 97,14%, respectivamente.

Susuki y colaboradores(24) en 1999, al evaluar la morfología craneofacial de 25 padres y 40 madres japonesas que tuvieran hijos con FLPNS, hallaron un mayor ancho interorbital. En contraste, Yoon y colaboradores(25) (2004) evaluaron la forma

craneofacial transversal en 29 familias con hijos afectados con FLPNS en una población de Costa Rica, y encontraron un incremento en el ancho interorbital en los probandos (pacientes con FLPNS); sin embargo, los padres y los hermanos no afectados no mostraron dicho incremento, de igual forma en este estudio las medidas craneofaciales transversales de los padres con hijos con FLPNS (media facial-zigión derecha; media facial-zigión izquierda) están aumentadas respecto al grupo control. Estos hallazgos sugieren que la forma craneofacial transversal puede considerarse como un factor etiológico de riesgo en las fisuras orofaciales que estaría relacionado específicamente con una desproporción entre el tamaño de los procesos maxilares, nasales y palatinos durante la morfogénesis craneofacial al alterar el potencial de fusión de dichos procesos.

En cuanto a las mediciones fotográficas tomadas en los dos grupos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la línea media facial-zigión derecho y la línea media facial-zigión izquierdo, siendo mayor el promedio para los padres que tenían niños con FLPNS unilaterales. Además, hubo diferencias en las mediciones de Lóbulo-mentón derecho, cuyos promedios fueron superiores para las madres en el caso de niños con FLPNS bilateral y para los padres en el caso de niños con FLPNS unilateral. Para las mediciones del lóbulo-mentón izquierdo, los valores siempre fueron superiores en los controles en la relación nasion ala nasal izq/der; para las diferencias entre el 2 y el 5, relación arco cupido comisura labial izq/der; diferencias mayores al 5%. Esto coincide con varios reportes de la literatura donde se ha sugerido que el incremento en las dimensiones transversales faciales en padres representa un factor

de riesgo de fisura palatina en la descendencia. Diversos autores describen que el ancho nasal puede ser mayor en los padres de individuos afectados, si se compara con los controles sin hendidura(34,40-42).

El interés por la medición de los niveles de metales pesados en la población de familiares de niños con FLPNS ha generado la necesidad de utilizar diferentes matrices biológicas incluyendo la saliva. Sin embargo en la literatura los estudios que evalúan los niveles de estos metales pesados utilizan como muestras biológicas el suero y sangre total, reportando la existencia de asociación entre la variación de los niveles de estos metales y el riesgo para desarrollar malformaciones faciales. En un estudio realizado por Tamura en 2005, la medición de valores medio de Zinc en suero de madres de niños con FLPNS en relación a aquellas cuyos hijos nacieron sanos reportó niveles bajos de Zinc en las madres de niños con FLPNS por lo que se considera un factor de riesgo(30), lo cual concuerda con los hallazgos de Hozyasz (2009) en donde las concentraciones disminuidas de Zinc en sangre provocan incremento del riesgo a 2,5 veces para que la descendencia nazca con fisuras orofaciales(43). Otros estudios han considerado que el riesgo de fisuras orofaciales se asocia con el incremento en los niveles de cobre(18) y de mercurio(19).

En la presente investigación los niveles de metales pesados se determinaron en muestras de saliva (Cu y Zn) y los valores promedio de metales pesados obtenidos no mostraron diferencias entre los grupos (caso y control) lo que no permite aseverar que

los niveles de metales presentes en la saliva puedan estar relacionados con mayor riesgo.

Al considerar que los estudios para medición de metales en este tipo de población (familias de niños con FLPNS) se han realizado en otras matrices biológicas y que el grupo control está conformado por individuos sistémicamente no comprometidos, es necesario utilizar los valores de referencia para estos metales en saliva reportados en la literatura, para el Cobre (Cu) 19,6 $\mu\text{g/L}$ (45) y para el Zinc (Zn) 23-70 mg/g(46), evidenciándose que a su vez los valores de las mediciones obtenidas se encuentran dentro de los rangos normales establecidos.

Aunque el uso de la saliva como matriz biológica para medición de metales pesados ofrece los beneficios de ser un método seguro, simple y no invasivo para su recolección, que beneficia tanto al operador como al paciente, se presentan algunos limitantes como el tiempo empleado para lograr la colección de la muestra deseada, ya que fue diferente en cada uno de los participantes y por ende el tiempo de permanencia de la muestra sin que se realizará la disposición y almacenamiento final. Situación que era predecible pues se reporta que la secreción salival varía en el individuo y de este a otro(47).

Por otro lado, para el monitoreo biológico de exposición a metales pesados en toxicología ocupacional, las muestras de sangre y orina son las matrices más utilizadas y aceptadas con un método definido, sin embargo estas matrices muestran información con enfoque a la exposición aguda, por lo cual se recomienda utilizar muestras biológicas que determinen la presencia crónica de metales pesados como el pelo(53) y

uñas(50). Aunque existe evidencia de que se puede lograr el aislamiento en saliva de algunos metales como Cadmio, Plomo, Zinc, Mercurio, Titanio, Cromo, Hierro y Cobalto(47-49) el método de obtención de la muestra así como la determinación de metales no se encuentra estandarizado. Por lo que resultaría útil en investigaciones futuras presentar reportes de las concentraciones que puedan aproximarse a la realidad de los sujetos considerando la medición de los niveles de metales en saliva y adicionar otras matrices biológicas como la sangre(47), para las cuales se encuentre estandarizado el protocolo de medición y las uñas que debido a su falta de actividad metabólica pueden aportar información con respecto a exposiciones mayores en el tiempo(50).

7. CONCLUSIÓN.

Se puede concluir que existe asociación entre varias características fenotípicas de los familiares (padres y madres) con las características clínicas de los niños con y sin FLPNS de la ciudad de Cartagena, entre las cuales se encuentran las faciales y dactilares como variaciones en el tercio medio e inferior de la cara, alas nasales y un aumento en la asimetría de la tienda izquierda y presilla radial izquierda, lo que proporciona parámetros fenotípicos puntuales a tener en cuenta para el riesgo o predisposición de tener un niño con FLPNS en las familias cartageneras.

Teniendo en cuenta lo anterior, los resultados arrojados en la presente investigación tienen una gran utilidad práctica debido a que la determinación de las características fenotípicas faciales de padres de individuos afectados con FLPNS en Cartagena, brinda la posibilidad de conocer cuál es el comportamiento a nivel fenotípico de las familias cartageneras con FLPNS, adicionalmente facilita la posibilidad de que a través de otras investigaciones en este campo se cree un modelo predictor que incluya otras variables involucradas en el desarrollo de esta patología en las familias colombianas.

8. RECOMENDACIONES.

Se recomienda la medición de la exposición a metales pesados en muestras de cabello y uñas para el diseño de futuras investigaciones, con el fin de evaluar la exposición crónica a dichos metales. Así mismo se invita a la ampliación de la muestra para poder extrapolar los resultados a la población en general.

9. BIBLIOGRAFÍA.

1. Goodacre T, Marc C. Swan. Cleftlip and palate: current management 2008 June; 18 (6):283–292.
2. Wyszynski DF, Beaty TH, Maestri NE. Genetics of nonsyndromic oralclefts revisited. *Cleft Palate Craniofac J.* 1996; 33(5): 406–17.
3. Chavarriaga J, González M, Rocha A, Posada A, Agudelo A. Factores relacionados con la prevalencia de Labio y Paladar Hendido en la población atendida en el Hospital Infantil “Los Ángeles”. Municipio de Pasto (Colombia), 2003-2008. *Revista CES Odontología.*2011; 24(2): 33-41.
4. Mitchell L. Genetic Epidemiology of Birth Defects: Nonsyndromic Cleft Lip and NeuralTube Defects. *Epidemiol* 1997; 19 (1):57-66.
5. Krost B, Schubert J. Influence of season on prevalence of cleft lip and palate. *Int. J.Oral Maxillofac. Surg.* 2006; 35: 215–218.
6. Jugessur A, Murray JC. Orofacial clefting: recent insights into a complex trait. *Curr Opin Genet Dev* 2005; 15(3): 270–8.
7. B. Krost, J. Schubert. Influence of season on prevalence of cleft lip and palate. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2006; 35: 215–218.
8. Hozyasz KK, Kaczmarczyk M, Dudzik J, Bulska E, Dudkiewiz Z, Szymanski M. Relation between the concentration of zinc in maternal whole blood and the risk of an infant being born with an orofacial cleft. *Br J Oral Maxillofac Surg.*2009; 466- 469.
9. Guilhermino L., Barros P., Silva M.C., Soares A.M.V.M.. Should the use of inhibition of cholinesterases as a specific biomarker for organophosphate and carbamate pesticides be questioned? *Biomarkers.* 1998; 3: 157- 163.
10. Berlin M, Nordberg G, Serenius F. On the site and mechanism of mercury vapor resorption in the lung. *Arch Environ Health* 1969;18:42-50.
11. Mackert J R, Berglund A. Mercury Exposure From Dental Amalgam Fillings: Absorbed Dose and the Potential for Adverse Health Effects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997 8:410-436.
12. Timchalk C, Poet TS, Kousba AA, Campbell JA, Lin Y. Noninvasive biomonitoring approaches to determine dosimetry and risk following acute chemical exposure: analysis of lead or organophosphate insecticide in saliva. *J Toxicol Environ Health A.* 2004; 67(8-10):635-50.

13. Krapels JP, Van Rooij IA, Wever RA, Zielhuis GA, Spawen PH, Brussel W, et al. Myo-inositol, glucose and zinc status as a risk factors for non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in offspring: case-control study. *BJOG: int J Obstet Gynaecol.* 2004; 111: 661-668.
14. Tamura T, Munger RG, Corcoran C, Bacayao JY, Nepomuceno B, Solon F. Plasma zinc concentrations of mothers and risk of nonsyndromic oral clefts in their children: a case-control study in the philippines. *Birth Deefects Res A Clin Mol Teratol.* 2005; 73: 612-616.
15. Borrero D, Gutiérrez S, Izaguirre D, Otero L. Caracterización fenotípica de la morfología facial en un grupo de población africana con fisura labio-palatina no sindrómica. *Univ Odontol.* 2010; 29(62): 11-18.
16. Turro A, García-Robés M, Correa B. Morfología craneofacial en gemelos; uno con fisura labiopalatina. *Rev Cubana Ortod.* 2000; 15(2): 71-4.
17. DiBiase AT, DiBiase DD, Hay NJ, Sommerlad BC. The relationship between arch dimensions and the 5-year index in the primary dentition of patients with complete UCLP. *Cleft Palate Craniofac J.* 2002; 39(6): 635-40.
18. Weinberg Seth, Neiswanger K, Deleyiannis MP, Avila J, Cooper M, Brandon C, Vieira A, Noorchashm N, Bardi KM, Marazita M. Candidate Genes for Oral-Facial Clefts in Guatemalan Families. *Annals of Plastic Surgery.* 2006; 56 (5): 518-521.
19. McIntyre GT, Mossey PA. Parental craniofacial morphology in orofacial clefting. *European Journal of orthodontics.* 2004; 26 (4): 375-384.
20. Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Seres Humanos. Resolución 008430 Ministerio de Salud. República de Colombia; 1993. p. 53-54.
21. Qiang Liu, M.-L.Y., Zeng-Jian Li, Xiao-Feng Bai, Xu-Kai Wang, Li Lu, Yu-Xin Wang., A Simple and Precise Classification for Cleft Lip and Palate: A Five-Digit Numerical Recording System. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal,* 2007. 44(5): p. 465-468.
22. Zimmer H, Ludwig H, Bader M, Bailer J, Eickholz P, Staehle HJ, Triebig G. Determination of mercury in blood, urine and saliva for the biological monitoring of an exposure from amalgam fillings in a group with self-reported adverse health effects. *Int J Hyg Environ Health.* 2002; 205(3): 205-11.
23. Susuki A, Takenoshita Y, Honda Y, Matsuura C. Dentocraniofacial morphology in parents of children with cleft lip and/or palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 1999 Mar; 36(2): 131-8.

24. Yoon YJ, Perkiomaki MR, Tallents RH, Barillas I, HerreraGuido R, Fong CT, Kyrkanydes S. Transverse craniofacial features and their genetic predisposition in families with nonsyndromic unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J*. 2004 May; 41(3): 256-61.
25. Weinberg SM, Maher BS, Marazita ML. Parental craniofacial morphology in cleft lip with or without cleft palate as determined by cephalometry: a meta-analysis. *Orthodontics Craniofacial Research*. 2006;9(1):18 -30.
26. Lidral AC, Murray JC, Buetow KH, et al. Studies of the candidates genes TGFB2, MSX1, TGFA, and TGFB3 in the etiology of cleft lip and palate in the Philippines. *Cleft Palate Craniofac J* 1997;34(1):1– 6.
27. Zuccherro TM, Cooper ME, Maher BS, et al. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) gene variants and the risk of isolated cleft lip and palate. *NEngl J Med* 2004;351:769 – 780.
28. Palomino, H. & Montenegro, M. A. Genes y moléculas en el desarrollo cráneo-facial. *Rev. Chil. Ortod.*, 19:20-31, 2002.
29. Weinberg Seth, Neiswanger K, Deleyiannis MP, Avila J, Cooper M, Brandon C, Vieira A, Noorchashm N, Bardi K, Murray J, Marazita M. Candidate Genes for Oral-Facial Clefts in Guatemalan Families. *Annals of Plastic Surgery*: May 2006; 56 (5): 518-521.
30. Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Seres Humanos. Resolución 008430 Ministerio de Salud. República de Colombia; 1993. p. 53-54.
31. Zimmer H, Ludwig H, Bader M, Bailer J, Eickholz P, Staehle HJ, Triebig G. Determination of mercury in blood, urine and saliva for the biological monitoring of an exposure from amalgam fillings in a group with self-reported adverse health effects. *Int J Hyg Environ Health*. 2002; 205(3):205-11.
32. McIntyre GT, Mossey PA. Parental craniofacial morphology in orofacial clefting *European Journal of orthodontics*. 2004; 26 (4):375-384.
33. Tamura T, Munger RG, Corcoran C, Bacayao JY, Nepomuceno B, Solon F. Plasma zinc concentrations of mothers and risk of nonsyndromic oral clefts in their children: a case- control study in the philippines. *Birth Deefects Res A Clin Mol Teratol*. 2005; 73: 612-616.
34. Weinberg SM, Maher BS, Marazita ML. Parental craniofacial morphology in cleft lip with or without cleft palate as determined by cephalometry: a meta-analysis. *Orthodontics Craniofacial Research*. 2006;9(1):18 -30.
35. Grummons D. Nonextraction emphasis: emphasis: Spsce-gaining efficiencies, parts 1 and 2 *world J Orthod* 2002;3:21-32,177-189.

36. Hallvard Gjerde, Elisabeth Leere Øiestad and Asbjørg S. Christophersen. Using biological samples in epidemiological research on drugs of abuse. *Norsk Epidemiologi* 2011; 21 (1): 5-14.
37. Young KJ. et. al. Transverse craniofacial features and their genetic predisposition in families with nonsyndromic unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 2004; 41(3): 256-261.
38. Nakasima A, Ichinose M. Characteristics of craniofacial structures of parents of children with cleft lip and/or palate. *Am J Orthod.* 1983; 84(2):140-6.
39. McIntyre GT, Mossey PA. Parental craniofacial morphology in orofacial clefting. *Eur J Orthod.* 2004; 26(4): 375-84.
40. Susuki A, Takenoshita Y, Honda Y, Matsuura C. Dentocraniofacial morphology in parents of children with cleft lip and/or palate. *Cleft Palate Craniofac J.* 1999; 36(2):131-8.
41. Cassolato, SF. et. al. Treatment of dental anomalies in children with complete unilateral cleft lip and palate at Sickkids Hospital, Toronto. *Cleft Palate Craniofac J.* 2009; 46(2):166-172.
42. Duffy S, Noar J, Evans RD, Sanders R. Three-dimensional analysis of the child cleft face. *Cleft Palate Craniofac J.* 2000; 37(2):137-44.
43. Hozyasz, K.K., et al., Relation between the concentration of zinc in maternal whole blood and the risk of an infant being born with an orofacial cleft. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2009. 47(6): p. 466-9
44. Sepúlveda L, Agudelo L, Arengas A. El mercurio, sus implicaciones en la salud y en el ambiente. *Revista Luna Azul.* 1997; 4. [Citado 20 de marzo de 2014] Disponible en: http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/e4822404Revista4_8.pdf
45. Dixin Wang, Xuqin Dua, Wei Zheng. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. *Toxicology Letters.* 2008; 176: 40–47.
46. Florea D, Molina J, Millán E, Sáez L, Pérez de la Cruz A, Planells P. Nosotros y el cinc. *Nutr Hosp.* 2012; 27(3):691-700.
47. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta.* 2007; 383(1-2):30-40.
48. Ben-Aryeh H, Sela J, Peled M. [Salivary tests as a diagnostic tool in oral disease management]. *Refuat Hapeh Vehashinayim.* 2002; 19(3):51-6, 90.
49. Olmedo P, Pla A, Hernández AF, López-Guarnido O, Rodrigo L, Gil F. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2010; 659(1-2):60-7.

50. Batista BL, Rodrigues JL, Nunes JA, Tormen L, Curtius AJ, Barbosa F Jr. Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature: comparison with ETAAS. *Talanta*. 2008;76(3):575-9.