



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE GENÉTICA MOLECULAR

**PREVALENCIA DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES QUE
CODIFICAN LA INTERLEUCINA-1 EN SUJETOS MEXICANOS
CON PERIODONTITIS CRÓNICA Y AGRESIVA**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

PRESENTA:

ADRIANA PÉREZ SORIA

TUTORA:

DRA. LAURIE ANN XIMÉNEZ FYVIE





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicado con todo mi amor a la persona mas importante de mi vida...

Mi adorada Madre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme llegar hasta este punto de mi vida.

A mi padre por todo su apoyo, sus sabios consejos y por creer en mí.

A mi hermano quien es mi segundo padre, le agradezco infinitamente por cuidarme como a una hija, por brindarme todo su cariño y por los grandes esfuerzos que tuvo que realizar para llevarme a donde estoy, por su buen ejemplo y su guía impecable a lo largo de mi vida.

A mis queridas hermanas por permitirme aprender de ustedes y enseñarme a ser una mejor persona, porque nunca me ha faltado el amor a su lado.

A la Dra. Laurie Ann Ximénez Fyvie por su gran apoyo en la realización de esta tesis.

A los integrantes del laboratorio de Genética Molecular que me han abierto las puertas y me han brindado su amistad.

A aquellos profesores que han dejado huella en mi vida.

A mis familiares y mis grandes amigos.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
A. Antecedentes bibliográficos	1
Generalidades	1
Clasificación de las enfermedades periodontales	1
Patogenia de las enfermedades periodontales	5
Factores de riesgo	10
Diagnóstico genético de las enfermedades periodontales	11
B. Objetivo	13
C. Planteamiento y justificación del problema	13
D. Hipótesis	13
II. MATERIALES Y MÉTODOS	14
A. Diseño experimental	14
B. Población de estudio	14
Captura de sujetos de estudio	14
Criterios de selección	14
C. Evaluación clínica	15
D. Evaluación genética	15
Recolección y procesamiento de muestras de sangre	16
Detección de polimorfismos en genes IL-1A e IL-1B	16
E. Análisis estadístico de datos	17
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSIÓN	20
A. Conclusiones	22
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
VI. TABLAS	33
VII. FIGURAS	38
VIII. ANEXOS	44

A. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

GENERALIDADES

La palabra periodonto proviene del latín *peri* = alrededor de, *odontos* = diente. El periodonto está formado por tejidos blandos como la encía y el ligamento periodontal, y por tejidos duros como el cemento radicular y el hueso alveolar.

Las funciones del periodonto son: conservar la integridad de la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad oral, unir el diente al tejido óseo de los maxilares, resistir y resolver las fuerzas de la masticación, deglución, fonación y defender contra las influencias nocivas del medio externo (Ramfjord, 1982; Hoag, 1990; Lindhe, 1992).

CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

Las enfermedades periodontales son condiciones patológicas que afectan las estructuras de soporte del diente. Dichas enfermedades son caracterizadas por desafíos bacterianos que pueden instigar respuestas inmunológicas destructivas en el huésped que conducen a la pérdida de hueso y en última instancia a la posible pérdida del diente (Irfan, et al., 2001).

Los dos cuadros patológicos que caracterizan la enfermedad periodontal son: gingivitis y periodontitis (Armitage, 1999). Tanto la gingivitis como la periodontitis son infecciones bacterianas endógenas mixtas, es decir, que más de una especie bacteriana contribuye al desarrollo de las enfermedades y dichas especies son microorganismos de la flora comensal (Mayrand & Grenier, 1985).

La gingivitis es una lesión inflamatoria de los tejidos blandos que rodean al diente y que se presenta como una consecuencia de la acumulación local de microorganismos específicos en la placa bacteriana (Page & Schroeder, 1976) y puede persistir durante años sin destrucción del ligamento periodontal o pérdida ósea (Amano, et al., 1994).

A diferencia de la gingivitis, la respuesta inmune inflamatoria que se da en la periodontitis debido a la presencia crónica de grupos específicos de bacterias en la placa dentobacteriana, da lugar a la destrucción de los componentes estructurales del periodonto, misma que se caracteriza por destrucción tisular y pérdida ósea en grados variables dependiendo del progreso de la enfermedad (Lindhe, et al., 1998; Preshaw, 2004).

Las enfermedades de los tejidos periodontales cuentan con sistemas de clasificación para proporcionar un marco en el cual se pueda estudiar científicamente la etiología, patogenia y tratamiento de las mismas de manera ordenada. En la clasificación de 1989, se omitían algunas condiciones de presentación frecuente, no se incluían las enfermedades gingivales y además se describían 5 tipos de periodontitis basados principalmente en la edad del individuo, es decir, hacían un inapropiado énfasis en la edad y los periodos de progresión por lo que dicha clasificación fue considerada como inadecuada. Esto fue discutido ampliamente y en 1993 se creó una nueva clasificación, misma que carecía de los detalles necesarios para una adecuada caracterización del amplio espectro de las enfermedades periodontales encontradas en la clínica práctica. Finalmente, en el año de 1999 se desarrolló la nueva clasificación vigente para las enfermedades periodontales (Armitage, 1999), y se incluyó una sección sobre enfermedades gingivales y lesiones no previstas en la clasificación de 1989. Según la clasificación de 1999 las enfermedades gingivales pueden ser:

I. Inducidas por la placa dentobacteriana. En este apartado se incluyen las gingivitis asociadas únicamente a la placa dentobacteriana, enfermedades gingivales asociadas a factores sistémicos, enfermedades gingivales asociadas a medicamentos y enfermedades gingivales asociadas a malnutrición.

II. No inducidas por la placa dentobacteriana. Dentro de este grupo se incluyen enfermedades gingivales de origen bacteriano, de origen viral y fúngico, así como lesiones gingivales de origen genético, manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas, lesiones traumáticas, reacciones a cuerpos extraños y otras no especificadas.

De acuerdo con la clasificación de 1999 las enfermedades periodontales pueden agruparse de la siguiente manera:

- I. Periodontitis crónica (localizada o generalizada).
- II. Periodontitis agresiva (localizada o generalizada).
- III. Periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas.
 - a. Asociada a desórdenes hematológicos.
 - b. Asociada a desórdenes genéticos.
 - c. Otros no especificados.
- IV. Enfermedades periodontales necrotizantes.
- V. Abscesos periodontales.
- VI. Periodontitis asociada a lesiones endodóncicas.
- VII. Deformidades y condiciones desarrolladas o adquiridas.

Bajo este esquema de clasificación, se excluyeron la edad y el ritmo de progresión de la enfermedad como factores para el diagnóstico de la periodontitis y se reemplazaron los términos de “periodontitis del adulto” y “periodontitis de inicio temprano” por “periodontitis crónica” y “periodontitis agresiva”, respectivamente. Esto se debió principalmente a que en la experiencia clínica la periodontitis comúnmente encontrada en adultos también puede presentarse en adolescentes y ésta se caracteriza por presentar periodos prolongados de progresión lenta acompañados por periodos cortos de rápida progresión. Por lo tanto, la edad y el ritmo de progresión creaban problemas para establecer un esquema adecuado de clasificación. Otro término reemplazado fue “periodontitis ulcerativa necrozante” por “enfermedades periodontales necrozantes” y se adicionaron las categorías de “absceso periodontal”, “lesiones endo-periodontales” y “deformidades y condiciones desarrolladas o adquiridas” (Armitage, 1999).

Finalmente se acordó la siguiente definición para la periodontitis crónica: Es una enfermedad infecciosa que resulta en inflamación de los tejidos de soporte del diente y pérdida

progresiva de hueso. Es caracterizada por la formación de bolsas periodontales y/o recesión gingival. Es reconocida como la forma más frecuente que existe de periodontitis. Puede presentarse a cualquier edad pero es comúnmente encontrada en adultos. La prevalencia y severidad de la enfermedad aumenta con la edad. Puede afectar a un número variable de dientes y tiene periodos variables de progresión. Las características clínicas principales de la periodontitis crónica ya sea localizada o generalizada se describieron como (Armitage, 1999):

- Mayor prevalencia en adultos, pero puede presentarse en niños y adolescentes.
- La destrucción es constante en presencia de factores locales.
- El cálculo subgingival es encontrado frecuentemente.
- Periodos de progresión lentos a moderados, pero pueden presentarse periodos de rápida progresión.
- Puede ser subclasificada en base a su extensión y severidad.
- Puede estar asociada a factores de predisposición locales.
- Puede ser modificada por enfermedades sistémicas o estar asociada a ellas.
- Puede ser modificada por otros factores como fumar y estrés emocional.

Así mismo, las características de la periodontitis agresiva localizada o generalizada se describieron como:

- Excepto por la presencia de periodontitis, los pacientes son clínicamente sanos.
- Pérdida de inserción y destrucción ósea.
- Predisposición familiar.

Las características secundarias que se presentan generalmente pero no universalmente son las siguientes:

- Cantidades de depósitos microbianos inconsistentes con la severidad de la destrucción de tejido periodontal.
- Elevadas proporciones de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y en algunas poblaciones también de *Porphyromonas gingivalis*.

- La progresión de la pérdida de inserción y de hueso puede ser autolimitada.

No todas las características deben estar presentes para diagnosticar o clasificar la enfermedad. Otros factores como fumar, estrés emocional, drogas y hormonas sexuales pueden afectar el curso de cualquier tipo de enfermedad periodontal (Armitage, 1999).

PATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

Las enfermedades periodontales destructivas son infecciones endógenas mixtas que conducen a la destrucción de los tejidos de soporte del diente. Dichas enfermedades son la principal causa de pérdida dental en la población adulta a nivel mundial. Los procesos patológicos que llevan a la destrucción del periodonto son iniciados por grupos específicos de microorganismos que colonizan la placa dentobacteriana subgingival como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* (Socransky & Haffajee, 1990; Socransky & Haffajee, 1994). La acumulación local de productos bacterianos, tales como lipopolisacáridos y ácidos teicoicos en el tejido periodontal, estimula a las células del sistema inmunológico innato a producir una gama de citocinas proinflamatorias y otros factores humorales para proteger los tejidos del huésped de la invasión microbiológica (Hart & Kornman, 1997; Kornman, et al., 1997; Kornman & Duff, 1997). La producción de dichas citocinas proinflamatorias induce a otras líneas celulares como células endoteliales y fibroblastos a producir metaloproteasas de la matriz, prostaglandinas y otras citocinas, lo cual lleva a la destrucción de tejido conectivo y hueso por acción directa de dichas proteínas o bien mediante la activación de células como los osteoclastos, pudiendo este proceso culminar en evidencias clínicas de enfermedad periodontal tales como la profundidad de bolsa y la pérdida de la inserción.

Citocina es el nombre en general para el conjunto de pequeñas proteínas solubles (<20,000 daltons) secretadas por una célula que puede modificar el comportamiento o las propiedades de la célula misma o de otras células. Las citocinas pueden actuar en las células

que las producen (acción autócrina), sobre otras células inmediatas (acción parácrina) o sobre células a distancia (acción endócrina) después de haber sido transportadas en sangre o líquidos tisulares. Estas son liberadas por diversas células además de las células del sistema inmune (Hart & Kornman, 1997; Kornman, et al., 1997; Kornman & Duff, 1997) y cada una actúa sobre un receptor específico, muchos de los cuales usan señales rápidas y directas (Janeway, et al., 1999). Las citocinas producidas por linfocitos frecuentemente son llamadas linfocinas pero ésta nomenclatura puede confundir a algunos ya que existen linfocinas que también son secretadas por células no linfoides, así mismo, la mayoría de las citocinas producidas por células T se les nombra interleucinas (IL) seguidas de un número. Las interleucinas son mediadores de la inflamación y también regulan los componentes de la matriz extracelular y del hueso que comprenden los tejidos periodontales (Hart & Kornman, 1997). Dentro de las citocinas destacan, por sus propiedades inflamatorias y de metabolismo óseo el factor de necrosis tumoral alfa y beta ($TNF\alpha$ y $TNF\beta$), las interleucinas 1 alfa, 1 beta, 6, 8, 10 y 12 (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12) y el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra) (Honig, et al., 1989; McFarlane, et al., 1990; Page, 1991; Stashenko, et al., 1991a; Stashenko, et al., 1991b; Kjeldsen, et al., 1995; Wilson, et al., 1995; Galbraith, et al., 1997; Gonzales, et al., 2001). La familia de citocinas de la IL-1, consiste de al menos tres polipéptidos relacionados estructuralmente IL-1 α , IL-1 β e IL-1ra. IL-1 α e IL-1 β son dos citocinas pleiotrópicas que poseen un amplio espectro de actividades inflamatorias, metabólicas, hematopoyéticas e inmunológicas. Las dos formas de IL-1 son bioquímicamente distintas (IL-1 α e IL-1 β) y codificadas por distintos genes en el cromosoma humano (2q13) (Lafage, et al., 1989; Hart & Kornman, 1997). La IL-1ra es un antagonista natural de las actividades de ambas interleucinas (IL-1 α e IL-1 β) (Lennard, 1995; Guasch, et al., 1996).

La IL-1 es producida por células de la línea de fagocitos mononucleares, aunque también es producida por células endoteliales, queratinocitos, células sinoviales, astrocitos, osteoblastos, neutrófilos y células gliales, entre otras. Las funciones biológicas de la IL-1 han

sido reportadas e incluyen la estimulación de la proliferación de fibroblastos e inducción de fiebre, entre otras. Una de las funciones biológicas más importantes de la IL-1 es su función como factor activador de linfocitos. La IL-1 juega un papel importante en la patogénesis de enfermedades inmunes e inflamatorias. La producción de IL-1 durante la respuesta inmune produce una serie de cambios asociados con varias enfermedades (Rosenwasser, 1998), además la IL-1 actúa sobre las células endoteliales para aumentar la quimiotaxis de neutrófilos y monocitos, y de ésta manera ayudar al reclutamiento de estas células dentro de los sitios de inflamación. Como es sabido, existe acumulación de neutrófilos en las lesiones periodontales y en el fluido crevicular de pacientes con la enfermedad activa y los monocitos son también observados en estos tejidos (Richards & Rutherford, 1988). La producción de IL-1 puede ser estimulada por una gran variedad de agentes, incluyendo endotoxinas, otras citocinas, microorganismos y antígenos (Rosenwasser, 1998). Esta amplia variedad de funciones de IL-1 refleja el amplio espectro de los tipos de células blanco (Furutani, et al., 1986; Bailly, et al., 1993). Un efecto secundario proinflamatorio de la IL-1 es la inducción de prostaglandina E₂ (PGE₂) sintetizada por células del tejido conectivo de la sinovia en el caso de pacientes con artritis reumatoide y también puede sintetizada por fibroblastos gingivales. PGE₂ es un vasodilatador y cofactor involucrado en el incremento de la permeabilidad vascular que ocurre en sitios de inflamación (Richards & Rutherford, 1988). PGE₂ se ha encontrado en el fluido crevicular durante la enfermedad periodontal (Offenbacher, et al., 1981).

La IL-1 es una citocina mediadora de muchas interacciones celulares dentro del sistema inmune, se definió originalmente como el producto de macrófagos aunque recientes estudios han indicado que algunas otras células, entre ellas fibroblastos, linfocitos y células córneas, también producen IL-1 (Furutani, et al., 1986; Bailly, et al., 1993). La sospecha de que la IL-1 está involucrada en la patogénesis de la enfermedad periodontal, se debe a la similitud entre los efectos biológicos ya conocidos de la interleucina 1 y las manifestaciones de la enfermedad periodontal (Masada, et al., 1990). Los polimorfismos genéticos, en regiones reguladoras de los

genes que codifican proteínas mediadoras de la inflamación, pueden actuar para crear diferencias individuales en sus respuestas, por ejemplo, el gen polimórfico para IL-1 está asociado con un incremento en la susceptibilidad a padecer periodontitis severa, incremento en la inflamación y aumenta la posibilidad de pérdida dental (Hart & Kornman, 1997).

Estudios sobre la asociación de genotipos con numerosas enfermedades intentaron contestar la pregunta de si existen determinantes genéticos responsables de la severidad de diversas enfermedades. Un polimorfismo en el gen que codifica para IL-1 α ha sido asociado con enfermedades severas como artritis reumatoide juvenil (McDowell, et al., 1995; Cantagrel, et al., 1999; Buchs, et al., 2001). Otro polimorfismo en el gen que codifica para IL-1 β fue asociado con diabetes mellitus insulino dependiente (Pociot, et al., 1992) y un polimorfismo en el gen del IL-1ra ha sido asociado con una variedad de enfermedades inflamatorias y autoinmunes como colitis ulcerativa (Bioque, et al., 1996; Papo, et al., 1999), alopecia areata (Tazi-Ahnini, et al., 2002), psoriasis (Cork, et al., 1993) y lupus eritematoso sistémico (Blakemore, et al., 1994), entre otras (Guasch, et al., 1996).

Un parámetro inmunológico importante en el estudio de la enfermedad periodontal es la IL-1 β . Esta citocina se ha convertido en un foco de interés desde que es sabido que es el factor activador más potente de osteoclastos dentro del organismo humano. Numerosos tipos de células en tejidos gingivales producen IL-1 β en respuesta a infección periodontal incluyendo macrófagos, fibroblastos, células epiteliales y leucocitos polimorfonucleares (Deinzer, et al., 2000). Esta citocina proinflamatoria (IL-1 β) ha sido implicada en la destrucción de tejidos periodontales ya que lleva a cabo actividades que son directamente relacionadas con la periodontitis como son: estimular la producción de proteasa y ácido araquidónico además de estimular la resorción ósea e inhibir la formación de hueso (Mark, et al., 2000). Por otra parte, durante los últimos años muchos artículos han sido publicados analizando la relación entre el estrés psicológico y la inflamación periodontal, la mayor parte de éstos sostienen la hipótesis de que el estrés es un factor de riesgo para presentar periodontitis (Genco, 1996; Genco, et al.,

1998; Kamma, et al., 2004). Se analizaron los efectos del estrés académico sobre la IL-1 β en el fluido crevicular en sitios de perfecta higiene oral y en sitios con gingivitis experimental donde un grupo de estudiantes se privaron de cualquier procedimiento de higiene oral en dos cuadrantes opuestos durante 21 días. Los resultados de este estudio indicaron que el estrés puede afectar la salud periodontal debido al incremento local de niveles de IL-1 β especialmente cuando la higiene oral es inadecuada además de que se ha demostrado que el estrés tiene un número de consecuencias endocrinológicas e inmunológicas como el incremento de catecolaminas y la secreción de cortisol (Deinzer, et al., 2000). También han sido observados incrementos de IL-1 β en el inicio de la gingivitis experimental. Los niveles de IL-1 β son elevados en tejidos periodontales enfermos y en el fluido crevicular gingival, estos niveles de IL-1 β en tejidos corresponden a episodios de destrucción periodontal activa (Mark, et al., 2000).

Diversos estudios han reportado niveles elevados de IL-1 β (Masada, et al., 1990; Tsai, et al., 1995), IL-1 α (Masada, et al., 1990; Stashenko, et al., 1991b) y TNF- α (Kjeldsen, et al., 1995; Galbraith, et al., 1998) tanto en el fluido crevicular como en el tejido gingival de sujetos con periodontitis crónica severa. Así mismo, se ha reportado la producción de cantidades importantes de IL-1 β por células polimorfonucleares bucales en este tipo de individuos (Galbraith, et al., 1997). La acción de dichas citocinas sobre los diversos grupos celulares presentes en los tejidos periodontales es amplia e incluye el reclutamiento celular y la activación de células inmunitarias, endoteliales, fibroblastos y osteoclastos. Dicha activación lleva a la resorción ósea y destrucción tanto del tejido conectivo como del ligamento periodontal por acción directa de las citocinas o bien por la acción de prostaglandinas y metaloproteasas de la matriz (MPMs) producidas por los grupos celulares activados (Page, et al., 1972; Page & Schroeder, 1976; Page, 1991). En la actualidad está ampliamente demostrado que la acción directa de bacterias es responsable solo de una mínima parte de la destrucción tisular observada durante el curso de la enfermedad periodontal, y que son las moléculas secretadas por las células del huésped, estimuladas primordialmente por productos bacterianos, las

responsables de la mayor parte de la destrucción observada (Page, et al., 1975; Page & Schroeder, 1976; Page, et al., 1978; Araya, et al., 2003).

FACTORES DE RIESGO

Considerando los eventos involucrados en la patogenia de las enfermedades periodontales, y la evidencia de las escasas diferencias microbiológicas entre individuos con diferentes tipos de enfermedad periodontal (Haffajee, et al., 1999; Ximenez-Fyvie, et al., 2000), a la fecha se reconocen los factores exógenos y endógenos del huésped capaces de acentuar la respuesta inmunológica y la producción de citocinas proinflamatorias, como determinantes y predisponentes de la extensión, tipo y severidad de enfermedad periodontal, así como de la respuesta individual a la terapia periodontal (Haber, 1994b; Haber, 1994a; Hassell & Harris, 1995; Hart, 1996; Galbraith, et al., 1998; Kornman & di Giovine, 1998; Cullinan, et al., 2001; Laine, et al., 2001; van Winkelhoff, et al., 2001; Albandar, 2002; Meisel, et al., 2002; Meisel, et al., 2003; Kamma, et al., 2004). A dichos factores de riesgo, se les ha denominado “factores modificadores” de la enfermedad periodontal, dentro de los cuales destacan el tabaquismo (exógeno) (Genco, 1996; Meisel, et al., 2003) y la presencia de variaciones (polimorfismos) en los genes que codifican citocinas proinflamatorias (endógeno) (Kornman & di Giovine, 1998; Lang, et al., 2000; Meisel, et al., 2002). Algunos estudios sugieren que más de la mitad de las variaciones observadas entre individuos en las presentaciones clínicas de la enfermedad se deben a factores genéticos del huésped (Michalowicz, 1993; Michalowicz, 1994). Por lo tanto, la identificación de los polimorfismos genéticos que influyen sobre el control de la respuesta inmune en el curso de la enfermedad periodontal en poblaciones específicas, podría proporcionar información para el establecimiento de estrategias preventivas y terapéuticas específicas de acuerdo al riesgo y predisposición a desarrollar formas severas de enfermedad periodontal (Kornman & di Giovine, 1998). El concepto de la utilidad de los análisis genéticos como herramientas de uso clínico para efectuar valoraciones del riesgo y susceptibilidad de

cada paciente a presentar determinadas enfermedades no es nuevo. Los polimorfismos en el grupo de genes de la IL-1 han sido propuestos como marcadores genéticos de diversas enfermedades inflamatorias, infecciosas y autoinmunes, incluyendo artritis reumatoide (Jouvenne, et al., 1999; Buchs, et al., 2001), esquizofrenia (Katila, et al., 1999), colitis ulcerativa y enfermedad intestinal inflamatoria (Bioque, et al., 1995; Bioque, et al., 1996; Heresbach, et al., 1997; Hacker, et al., 1998; Stokkers, et al., 1998; Nemetz, et al., 1999), psoriasis (Cork, et al., 1993), enfermedad de Graves (Blakemore, et al., 1995) y lupus eritematoso (Blakemore, et al., 1994). Sin embargo, el uso de diagnósticos genéticos en el campo de la odontología clínica continúa representando una idea relativamente nueva.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

En la actualidad existe comercialmente una prueba de diagnóstico genético periodontal patentada llamada PSTTM (Periodontal Susceptibility Test, Interleukin Genetics Incorporated, Waldham, MA, USA), la cual detecta la presencia de dos variaciones genéticas (+3954 del gen que codifica IL-1 β y -889 del gen que codifica IL-1 α) (Kornman, et al., 1997). Los diseñadores de dicha prueba sugieren que los individuos portadores de ambas variaciones, conocidos como portadores del “genotipo compuesto”, tienen más de 6 veces el riesgo de padecer formas severas de enfermedad periodontal que los no portadores (Kornman & Duff, 1997). En muchos países, incluyendo México, la prueba PSTTM es solicitada por clínicos de práctica privada por ser considerada como un “marcador genético” predictivo del riesgo a padecer enfermedad periodontal así como de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, la validación de dicha prueba (única prueba desarrollada para esta aplicación disponible actualmente en el mundo) fue realizada con estudios sobre una población caucásica del norte de Europa y en la actualidad, a pesar de ser comercializada en Australia, Francia, Alemania, Italia, los países bajos y recientemente en el resto del mundo, se desconoce su utilidad para otras poblaciones.

Debido a que la frecuencia de variaciones genéticas difiere significativamente entre poblaciones, zonas geográficas y grupos étnicos, es necesario establecer la frecuencia de dichas variaciones y sus asociaciones con entidades patológicas en diferentes regiones del mundo antes de que tales pruebas genéticas puedan ser de utilidad para otras poblaciones además de las estudiadas para su validación. Algunos estudios, han determinado la frecuencia de individuos portadores del “genotipo compuesto” en diferentes grupos étnicos, así como su asociación con la enfermedad periodontal. Dos estudios realizados en poblaciones caucásicas del norte de Europa reportaron que el porcentaje de portadores del “genotipo compuesto” en sujetos con periodontitis severa era de 34% y 28% (Kornman, et al., 1997; Gore, et al., 1998). Dichos estudios encontraron asociaciones significativas entre portadores del “genotipo compuesto” y la periodontitis crónica severa en individuos no-fumadores. Por otra parte, en otro estudio (Walker, et al., 2000) realizado en sujetos áfrico-americanos con periodontitis severa no se encontró asociación con la enfermedad periodontal. Hallazgos similares fueron reportados en otro estudio con sujetos chinos en el cual se encontró que un bajo porcentaje de los individuos con periodontitis severa eran portadores del “genotipo compuesto”. En dicho estudio tampoco se encontraron asociaciones con la enfermedad periodontal severa (Armitage, et al., 2000). Dos estudios realizados en poblaciones “hispanicas” reportaron que el porcentaje de sujetos con periodontitis severa portadores del “genotipo compuesto” fue del 23% y 43% (Arregui, et al., 2000; Caffesse, et al., 2002). Uno de los estudios fue realizado en una población definida como “mexicana” (Caffesse, et al., 2002) y el otro en una “española” (Arregui, et al., 2000), sin embargo, en ninguno de los reportes se especificó la ascendencia de los sujetos incluidos en el estudio.

B. OBJETIVO

Determinar y comparar las frecuencias alélicas y genómicas de polimorfismos en las regiones -889 y +3954 de los genes que codifican las citocinas IL-1 α e IL-1 β , respectivamente, en sujetos mexicanos con periodontitis crónica, periodontitis agresiva y salud periodontal.

C. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Las grandes variaciones reportadas en la prevalencia de portadores del “genotipo compuesto” en poblaciones de diferentes orígenes, imposibilita la extrapolación de hallazgos genéticos entre poblaciones o grupos étnicos, y hace evidente que la exportación de servicios de diagnósticos genéticos tales como la prueba PSTTM, a poblaciones que no fueron estudiadas para sustentar las pruebas, es inadecuada y carece tanto de utilidad clínica como de fundamentación científica. La evidencia indica que será improbable que pruebas genéticas similares pudieran ser de utilidad a nivel global, sino que será necesario determinar marcadores genéticos específicos para cada población y de acuerdo a los mismos diseñar pruebas diagnósticas de gran especificidad.

D. HIPÓTESIS

La presencia del “genotipo compuesto” en la población mexicana no se asociará significativamente con la periodontitis crónica ni agresiva.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente proyecto de investigación comprendió la realización de un estudio de tipo transversal en donde fueron evaluadas muestras de sangre de un total de 118 sujetos de estudio. Los sujetos de estudio fueron evaluados en una sola visita en la que se realizó una evaluación de su estado de salud médico y periodontal, se registraron los datos clínicos y se llevó a cabo la recolección de la muestra. Las muestras de sangre fueron analizadas para determinar la presencia de polimorfismos en regiones específicas de los genes IL-1A e IL-1B. Con esta información fue posible determinar y comparar los perfiles genéticos con el estado de salud periodontal.

B. POBLACIÓN DE ESTUDIO

CAPTURA DE SUJETOS DE ESTUDIO

Los sujetos de estudio provinieron de la población de pacientes que reciben atención en la clínica de Periodoncia de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

La **tabla 1** proporciona una descripción de las poblaciones que fueron incluidas en el presente proyecto, así como de los parámetros periodontales que se utilizaron para su clasificación. Todos los sujetos eran mexicanos por nacimiento y tenían como mínimo ambos padres y 2 abuelos nacidos en México. Fueron excluidos del estudio todos los sujetos que estaban en etapa de embarazo o lactancia y los que presentaron cualquier condición sistémica que pudiera influir sobre el curso o severidad de la enfermedad periodontal, tal como diabetes, VIH/SIDA, hemofilia y enfermedades autoinmunes, entre otras. El propósito del estudio se

explicó a cada sujeto y éstos recibieron copia de la forma de consentimiento informado, aprobada por el Comité de Ética de la Dependencia, en la que se delineó explícitamente el protocolo del estudio (**Anexo 1**). Se pidió a los sujetos que firmaran dicha forma, con lo cual establecieron su deseo voluntario de participar.

C. EVALUACIÓN CLÍNICA

Cada sujeto de estudio recibió una evaluación periodontal completa realizada por clínicos calibrados para éste propósito. Todas las mediciones clínicas fueron registradas de 6 sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) de todos los dientes en la boca excluyendo los terceros molares (máximo 168 sitios por sujeto dependiendo del número de dientes faltantes) de acuerdo con procedimientos previamente descritos en la literatura (Haffajee, et al., 1983). Los parámetros clínicos evaluados y el orden de las mediciones se realizaron de la siguiente manera: **1.** Acumulación de placa (0/1, ausente/presente), **2.** Enrojecimiento gingival (0/1), **3.** Profundidad de bolsa (mm), **4.** Nivel de inserción (mm), **5.** Sangrado al sondeo (0/1) y **6.** Supuración al sondeo (0/1). La profundidad de bolsa y el nivel de inserción fueron registrados al mm más cercano utilizando una sonda periodontal “Carolina del Norte” (UNC) de 15 mm de longitud (North Carolina periodontal probe, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Estas medidas fueron registradas dos veces y el promedio de las dos mediciones fue utilizado para el análisis de datos. El resto de los parámetros clínicos fueron evaluados en una sola ocasión con mediciones dicotómicas de presencia (1) ó ausencia (0).

D. EVALUACIÓN GENÉTICA

Se evaluó la presencia de polimorfismos en regiones específicas de los genes IL-1A e IL-1B descritos con más detalle en la **tabla 2**, mediante la utilización de la técnica de longitud polimórfica de fragmentos de restricción (RFLP: restriction fragment length polymorphism).

RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Una muestra de 1 ml de sangre periférica total fue recolectada de cada sujeto de estudio. Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos de 6 ml de capacidad conteniendo 1.0 ml de solución de citrato ácido de dextrosa (ACD) (BD, Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, USA) y procesadas inmediatamente para la extracción y purificación de DNA genómico. El DNA genómico fue extraído y purificado a partir de una alícuota de 200 μ l de sangre de cada sujeto de estudio utilizando el kit de alta purificación para la preparación de templates para PCR (High pure PCR template preparation kit) siguiendo las instrucciones del fabricante (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Esto resultó en la obtención de 3 a 10 μ g de DNA genómico de cada muestra de sangre.

DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES IL-1A E IL-1B

Los genotipos y alelos polimórficos fueron detectados mediante 2 reacciones individuales de PCR para cada muestra de DNA utilizando las secuencias de primers (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) que se presentan en la **tabla 3**. Las reacciones de PCR se prepararon utilizando 150 ng de DNA genómico purificado, 2.5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Biogénica, México, D.F.), 1 μ M de cada primer, 0.2 mM de mezcla de dNTPs (Biogénica), 1 x *Taq* DNA polimerasa buffer (10 mM Tris-HCl (pH 9.0 a 25°C), 50 mM KCl, Biogénica), 1.5 mM MgCl₂ (Biogénica), y 0.01% gelatina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) en un volumen final de 50 μ l por reacción. Los ciclos de amplificación para cada polimorfismo se describen en la **tabla 4**.

Los productos de las amplificaciones fueron analizados para determinar la presencia de polimorfismos genéticos mediante los procedimientos que se describen en la **tabla 5**. En breve, 5 μ l de los productos de digestión se analizaron mediante electroforesis utilizando geles de TBE en gradiente del 4 al 20% (Invitrogen). Los geles fueron teñidos durante 40 min en SYBR Green I (Molecular Probes, Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) y las bandas visualizadas bajo luz UV.

Se obtuvieron imágenes digitales de todos los geles utilizando el sistema de documentación de geles DigiDoc (BioRad Laboratories, Hercules, CA,USA). El análisis de los pesos moleculares de las bandas se hizo utilizando el programa Quantity One (BioRad Laboratories) mediante la comparación con estándares de pesos moleculares conocidos. Esta información fue analizada para determinar las frecuencias alélicas y genómicas de los sujetos de estudio para cada polimorfismo.

E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Se determinó la distribución de las frecuencias alélicas (proporción entre los alelos detectados y el número total de alelos analizados) y genómicas (portadores homocigotos y heterocigotos para cada alelo analizado) de cada polimorfismo, de manera individual y en combinación, haciendo una comparación entre cada uno de los 2 grupos de sujetos con enfermedad periodontal y el grupo de sujetos periodontalmente sanos. Las comparaciones entre grupos se hicieron utilizando la prueba exacta de Fisher y la estimación de riesgo fue calculada mediante la determinación de la razón de momios (RM) común de Mantel-Haenszel utilizando intervalos de confianza al 95% (IC95%). Se analizaron las diferencias en la distribución de las frecuencias alélicas y genómicas tanto para fumadores contra no fumadores como para hombres contra mujeres mediante la prueba U de Mann-Whitney.

III. RESULTADOS

La distribución de las frecuencias alélicas y genómicas individuales y combinadas para cada grupo de estudio se presentan en la **tabla 6**. Se realizó una estimación de riesgo de las frecuencias genómicas y alélicas entre los diferentes grupos de estudio y los datos se presentan en la **tabla 7**. En todos los grupos de estudio se detectaron tanto homocigotos como heterocigotos que cargaban los alelos A1 y A2 para ambos polimorfismos exceptuando en el grupo de sujetos periodontalmente sanos el cual no presentó ningún individuo portador del genotipo homocigoto A2/A2 para el polimorfismo IL-1A-889 (**Figura 2**). En el caso del polimorfismo IL-1B+3954 las diferencias entre grupos de estudio no fueron estadísticamente significativas como se presenta en la **figura 1**. El alelo A1 para ambos polimorfismos fue el de mayor prevalencia en todos los grupos de estudio con porcentajes de 75.8%, 86.4% y 66.7% para el polimorfismo IL-1B+3954, de 50%, 86.4% y 73.3% para el polimorfismo IL-1A-889 en los grupos con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP), respectivamente. A pesar de que no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio cuando se analizaron las frecuencias genómicas y alélicas para el polimorfismo IL-1B+3954, un mayor porcentaje de sujetos periodontalmente sanos fueron portadores del alelo A2 y de los genotipos A1/A2 y A2/A2 que los sujetos incluidos en cualquiera de los dos grupos con enfermedad periodontal (**Figura 1**). En contraste, un porcentaje significativamente menor de sujetos con PCG fueron portadores del genotipo homocigoto A1/A1 para el polimorfismo IL-1A-889 en comparación con los otros dos grupos de estudio ($p < 0.05$ PCG vs. SP y $p < 0.01$ PCG vs. PAG), además un mayor porcentaje de sujetos con PCG fueron portadores del alelo A2 para el polimorfismo IL-1A-889 que los sujetos con PAG y SP ($p < 0.05$ PCG vs. SP y $p < 0.01$ PCG vs. PAG). Además un menor porcentaje de sujetos con periodontitis agresiva fueron portadores del genotipo heterocigoto (A1/A2) para el polimorfismo IL-1A-889 comparado con los sujetos de periodontitis crónica ($p < 0.05$, **Figura 2**). Por otra parte, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas

entre los grupos PAG y SP para ninguno de los polimorfismos evaluados cuando se analizaron individualmente o en combinación, aunado esto a las bajas razones de momios observadas entre los grupos PCG y SP para el genotipo A1/A1 (RM=0.36, IC95%=0.14-0.93), la única diferencia considerada como importante fue aquella que se detectó entre los grupos PCG y SP en la frecuencia de A2 para el polimorfismo IL-1A-889 (RM=2.75, IC95%=1.07-7.05).

Los resultados de los análisis de las frecuencias genómicas combinadas para IL-1B+3954 e IL-1A-889 entre los grupos de estudio muestran diferencias importantes en la distribución del genotipo combinado para el alelo 1 de ambos polimorfismos (A1/A1 IL-1B+3954 + A1/A1 IL-1A-889) esto se observa entre los grupos PCG y PAG haciendo evidente que predominó este genotipo en los sujetos con periodontitis agresiva. Otra diferencia significativa se encontró entre los grupos PCG y SP en el genotipo combinado (A1/A1 IL-1B+3954 + A1/A2 IL-1A-889) donde existió un mayor porcentaje de sujetos con PCG que presentaron este genotipo combinado comparado con los otros 2 grupos de estudio. En las combinaciones restantes no hubo diferencias estadísticamente significativas. Los resultados de cada uno de los datos arriba mencionados se presentan en la **figura 3**.

En la distribución de las frecuencias alélicas combinadas de los 2 polimorfismos se presentaron diferencias estadísticamente significativas de $p < 0.05$ entre los grupos PCG y SP, así como de $p < 0.01$ entre los grupos PCG y PAG ambos en la combinación de alelos A1 + A2 de los polimorfismos IL-1B+3954 e IL-1A-889 respectivamente (**figura 4**). Dicha combinación alélica predominó en los sujetos del grupo PCG.

Además se analizó la distribución de las frecuencias genómicas y alélicas, comparando a los sujetos fumadores contra no fumadores de cada uno de los grupos de estudio como se muestra en la **figura 5**. De manera similar se evaluaron las diferencias en los distintos grupos de estudio comparando las poblaciones de hombres y mujeres (**figura 6**). En ninguno de los dos casos se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los polimorfismos evaluados de manera individual o en combinación.

IV. DISCUSIÓN

Se cree que la enfermedad periodontal tiene una base genética ya que la presencia de ciertas variaciones en los genes que se asocian con diferentes tipos de enfermedad son responsables de que las células del sistema inmunológico del huésped produzcan cantidades más abundantes de ciertas citocinas proinflamatorias ante los mismos estímulos bacterianos que los individuos que no presentan estas variaciones. El aumento en la producción de dichas citocinas lleva entonces a los individuos portadores de las variaciones genéticas a tener una destrucción más severa de los tejidos periodontales. Sin embargo, hasta el momento se desconoce cuales son los polimorfismos individuales o combinaciones de polimorfismos que pueden llevar a un individuo a tener una susceptibilidad mayor para padecer formas severas de enfermedad periodontal.

El descubrimiento de un marcador genético que es altamente asociado con el riesgo de padecer periodontitis es lo más nuevo en el manejo clínico de los pacientes en el consultorio. Teóricamente este marcador genético puede identificar adultos altamente susceptibles a padecer periodontitis severa. El genotipo compuesto de IL-1 (A2 en IL-1B+3954 + A2 en IL-1A-889) ha sido sugerido como un fuerte predictor de enfermedad periodontal severa en no-fumadores entre 40-60 años se ha sugerido que los individuos portadores de dicho genotipo compuesto están 6.8 veces en mayor riesgo de padecer periodontitis que los no portadores (Kornman, et al., 1997). Es de interés que la asociación genética con periodontitis fue evidente sólo cuando los fumadores fueron excluidos, confirmando la importancia de este factor de riesgo y sugiriendo que sus efectos son suficientemente fuertes para ser vistos incluso en sujetos que no están genéticamente predispuestos a padecer periodontitis severa. Dichos estudios han sugerido que los individuos portadores del alelo 2 en únicamente uno de los genes IL-1A en la posición -889 o IL-1B en la posición +3954, no tienen un incremento significativo en el riesgo de padecer enfermedad periodontal severa ya sean fumadores o no-fumadores, sino

que es necesario portar el alelo 2 en ambos genes para que se observe este incremento en la susceptibilidad (Kornman, et al., 1997). Desde el primer reporte de la relación entre el genotipo compuesto IL-1 y la periodontitis se ha confirmado esta asociación en numerosos estudios, en algunas ocasiones con resultados controversiales (Meisel, et al., 2002). Dos estudios realizados en poblaciones caucásicas del norte de Europa encontraron asociaciones significativas entre portadores del “genotipo compuesto” y la periodontitis crónica severa en individuos no-fumadores el porcentaje de portadores con periodontitis fue de 34% y 28% (Kornman, et al., 1997; Gore, et al., 1998). En otro estudio sobre una población de sujetos afro-americanos con periodontitis severa se reportó que únicamente el 8% de dicha población portaba el “genotipo compuesto” y no hubo asociación con la enfermedad periodontal (Walker, et al., 2000). Lo mismo se reportó en otro estudio con una población de 300 sujetos chinos donde solamente el 2.3% de los individuos con periodontitis severa eran portadores del llamado “genotipo compuesto” y tampoco se encontraron asociaciones con la enfermedad periodontal severa (Armitage, et al., 2000). Por otra parte, se realizó un estudio en una población hispánica (Arregui, et al., 2000; Caffesse, et al., 2002) en el que se reportó un 43% de sujetos mexicanos con periodontitis severa que eran portadores del genotipo compuesto (Caffesse, et al., 2002). Sin embargo, en otros estudios realizados sobre una población Española se reportaron resultados muy distintos con un 23% de portadores del genotipo compuesto (Arregui, et al., 2000). Mientras que uno de dichos estudios no reportó asociación significativa con la enfermedad periodontal severa, el otro determinó que existía una asociación con los individuos no-fumadores. Las diferencias en los resultados de estos dos estudios pueden deberse a la mala definición de las poblaciones de estudio, por tal motivo no podría hacerse una comparación entre estos ya que en uno estudiaron a sujetos mexicanos y en el otro hacen referencia a sujetos españoles que a pesar de ser poblaciones muy distintas fueron clasificadas en general como “hispánicas”.

Debido a que existe una inmensa diversidad genética entre las poblaciones, es necesario establecer en base a estudios específicos sobre un número adecuado y suficiente de sujetos de estudio, que sean por supuesto representativos de su población general, estrictamente seleccionados con criterios bien definidos de inclusión y exclusión para evitar comprometer los estudios con factores que alteren los resultados, y así entonces poder entender y establecer las asociaciones de los perfiles genéticos con diversas enfermedades incluyendo, en nuestro campo de estudio, las enfermedades periodontales para asegurar la creación de pruebas genéticas válidas, es decir específicas para cada población.

A. CONCLUSIONES

En base a los resultados del presente estudio, se puede concluir que:

- Los genotipos homocigotos A1/A1 de los dos polimorfismos evaluados fueron los más frecuentemente detectados en las tres poblaciones de estudio.
- No existieron diferencias ni asociaciones estadísticamente significativas entre grupos de estudio en las frecuencias alélicas y genómicas del polimorfismo IL-1B+3954 cuando éste fue analizado de manera individual.
- Ninguno de los dos polimorfismos genéticos evaluados se asociaron a la PAG tanto en los análisis de las frecuencias alélicas como genómicas de manera individual o en combinación.
- En relación a la PCG se determinaron varias asociaciones significativas: el alelo 2 del polimorfismo IL-1A-889 ($p=0.045$, $RM=2.75$), el genotipo combinado A1/A1-IL-1B+3954 + A1/A2-IL-1A-889 ($p=0.029$, $RM=5.25$) y los alelos combinados A1-IL-1B+3954 + A2-IL-1A-889 ($p=0.013$, $RM=3.54$).
- No existieron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de frecuencias alélicas o genómicas individuales o combinadas de ninguno de los polimorfismos evaluados entre fumadores y no-fumadores, ni entre hombres y mujeres.
- El “genotipo compuesto” no se asoció significativamente con la PCG ni con la PAG en la población mexicana.

La disparidad entre los resultados de los estudios de distintas poblaciones, acerca de la prevalencia de individuos portadores del “genotipo compuesto” y su asociación con la enfermedad periodontal, hace irrefutable el hecho de que la exportación de este tipo de pruebas de diagnóstico genético a nivel mundial es inapropiada, debido a que la relación entre el

“genotipo compuesto” y la secreción de IL-1 no ha sido esclarecida por lo tanto es imposible predecir niveles elevados de IL-1 basados en la presencia de el “genotipo compuesto”.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albandar, J. (2002) Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 29, 177-206.
2. Amano, A., Sojar, H. T., Lee, J. Y., Sharma, A., Levine, M. J. & Genco, R. J. (1994) Salivary receptors for recombinant fimbrillin of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 62, 3372-3380.
3. Araya, A., Pavez, V., Perez, C., Gonzalez, F., Columbo, A., Aguirre, A., Schiattino, I. & Aguillon, J. (2003) Ex vivo lipopolysaccharide (LPS)-induced TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and PGE2 secretion in whole blood from Type 1 diabetes mellitus patients with or without aggressive periodontitis. *Eur Cytokine Netw* 14, 128-133.
4. Armitage, G. (1999) Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 4, 1-6.
5. Armitage, G. C., Wu, Y., Wang, H. Y., Sorrell, J., di Giovine, F. S. & Duff, G. W. (2000) Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol* 71, 164-171.
6. Arregui, I., Guisasola, C., Menendez, M., Martin-Villa, L., Blanco-Moreno, J., Tejerina, J. M. & Sicilia, A. (2000) IL-1 genotype distribution in a periodontally diseased population in Spain. *J Clin Periodontol* 27, 86.
7. Bailly, S., di Giovine, F. S. & Duff, G. W. (1993) Polymorphic tandem repeat region in interleukin-1 alpha intron 6. *Hum Genet* 91, 85-86.
8. Bioque, G., Bouma, G., Crusius, J. B., Koutroubakis, I., Kostense, P. J., Meuwissen, S. G. & Pena, A. S. (1996) Evidence of genetic heterogeneity in IBD: 1. The interleukin-1 receptor antagonist in the predisposition to suffer from ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 8, 105-110.

9. Bioque, G., Crusius, J. B., Koutroubakis, I., Bouma, G., Kostense, P. J., Meuwissen, S. G. & Pena, A. S. (1995) Allelic polymorphism in IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 102, 379-383.
10. Blakemore, A. I., Tarlow, J. K., Cork, M. J., Gordon, C., Emery, P. & Duff, G. W. (1994) Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 37, 1380-1385.
11. Blakemore, A. I., Watson, P. F., Weetman, A. P. & Duff, G. W. (1995) Association of Graves' disease with an allele of the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Clin Endocrinol Metab* 80, 111-115.
12. Buchs, N., di Giovine, F. S., Silvestri, T., Vannier, E., Duff, G. W. & Miossec, P. (2001) IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes Immun* 2, 222-228.
13. Caffesse, R. G., De LaRosa, M. R., De LaRosa, M. G. & Mota, L. F. (2002) Prevalence of interleukin 1 periodontal genotype in a Hispanic dental population. *Quintessence Int* 33, 190-194.
14. Cantagrel, A., Navaux, F., Loubet-Lescoulie, P., Nourhashemi, F., Enault, G., Abbal, M., Constantin, A., Laroche, M. & Mazieres, B. (1999) Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 42, 1093-1100.
15. Cork, M. J., Tarlow, J. K., Blakemore, A. I., Mee, J. B., Crane, A. M., Stierle, C., Bleehen, S. S. & Duff, G. W. (1993) Psoriasis and interleukin-1. A translation. *J R Coll Physicians Lond* 27, 366.
16. Cullinan, M. P., Westerman, B., Hamlet, S. M., Palmer, J. E., Faddy, M. J., Lang, N. P. & Seymour, G. J. (2001) A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. *J Clin Periodontol* 28, 1137-1144.

17. Deinzer, R., Kottmann, W., Forster, P., Herforth, A., Stiller-Winkler, R. & Idel, H. (2000) After-effects of stress on crevicular interleukin-1beta. *J Clin Periodontol* 27, 74-77.
18. Furutani, Y., Notake, M., Fukui, T., Ohue, M., Nomura, H., Yamada, M. & Nakamura, S. (1986) Complete nucleotide sequence of the gene for human interleukin 1 alpha. *Nucleic Acids Res* 14, 3167-3179.
19. Galbraith, G. M., Hagan, C., Steed, R. B., Sanders, J. J. & Javed, T. (1997) Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J Periodontol* 68, 832-838.
20. Galbraith, G. M., Steed, R. B., Sanders, J. J. & Pandey, J. P. (1998) Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *J Periodontol* 69, 428-433.
21. Genco, R. J. (1996) Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 67, 1041-1049.
22. Genco, R. J., Ho, A. W., Kopman, J., Grossi, S. G., Dunford, R. G. & Tedesco, L. A. (1998) Models to evaluate the role of stress in periodontal disease. *Ann Periodontol* 3, 288-302.
23. Gonzales, J. R., Herrmann, J. M., Boedeker, R. H., Francz, P. I., Biesalski, H. & Meyle, J. (2001) Concentration of interleukin-1beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 28, 544-549.
24. Gore, E. A., Sanders, J. J., Pandey, J. P., Palesch, Y. & Galbraith, G. M. (1998) Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 25, 781-785.
25. Guasch, J. F., Bertina, R. M. & Reitsma, P. H. (1996) Five novel intragenic dimorphisms in the human interleukin-1 genes combine to high informativity. *Cytokine* 8, 598-602.
26. Haber, J. (1994a) Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis. *Compendium* 15, 1002, 1004-1008 passim; quiz 1014.

27. Haber, J. (1994b) Smoking is a major risk factor for periodontitis. *Curr Opin Periodontol*, 12-18.
28. Hacker, U. T., Bidlingmaier, C., Gomolka, M., Keller, E., Eigler, A., Hartmann, G., Folwaczny, C., Fricke, H., Albert, E., Loeschke, K. & Endres, S. (1998) Inflammatory bowel disease: no association between allele combinations of the interleukin (IL) 1 beta and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms. *Eur J Clin Invest* 28, 214-219.
29. Haffajee, A., Socransky, S., Feres, M. & Ximenez-Fyvie, L. (1999) Plaque microbiology in health and disease. In: Newman HN & Wilson M, ed *Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease* Eastman Dental Institute, University College London, 255-282.
30. Haffajee, A. D., Socransky, S. S. & Goodson, J. M. (1983) Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. *J Clin Periodontol* 10, 298-310.
31. Hart, T. (1996) Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J Periodontol* 67, 355-366.
32. Hart, T. C. & Kornman, K. S. (1997) Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* 14, 202-215.
33. Hassell, T. M. & Harris, E. L. (1995) Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 6, 319-342.
34. Heresbach, D., Alizadeh, M., Dabadie, A., Le Berre, N., Colombel, J. F., Yaouanq, J., Bretagne, J. F. & Semana, G. (1997) Significance of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genetic polymorphism in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 92, 1164-1169.
35. Hoag, P. (1990). *Fundamentos de periodoncia*. cuarta edition. St. Louis: Mosby Company.
36. Honig, J., Rordorf-Adam, C., Siegmund, C., Wiedemann, W. & Erard, F. (1989) Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res* 24, 362-367.

37. Hulkkonen, J., Vilpo, J., Vilpo, L., Koski, T. & Hurme, M. (2000) Interleukin-1 beta, interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 plasma levels and cytokine gene polymorphisms in chronic lymphocytic leukemia: correlation with prognostic parameters. *Haematologica* 85, 600-606.
38. Irfan, U., Dawson, D. & Bissada, N. (2001) Epidemiology of periodontal disease: a review and clinical perspectives. *J Int Acad Periodontol* 3, 14-21.
39. Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M. & Capra, J. D. (1999). *Immunobiology - the immune system in health and disease*. Fourth edition edition. U S A: Garland.
40. Jouvenne, P., Chaudhary, A., Buchs, N., Giovine, F. S., Duff, G. W. & Miossec, P. (1999) Possible genetic association between interleukin-1alpha gene polymorphism and the severity of chronic polyarthritis. *Eur Cytokine Netw* 10, 33-36.
41. Kamma, J., Giannopoulou, C., Vasdekis, V. & Mombelli, A. (2004) Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. *J Clin Periodontol* 31, 894-902.
42. Katila, H., Hanninen, K. & Hurme, M. (1999) Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* 4, 179-181.
43. Kjeldsen, M., Holmstrup, P., Lindemann, R. A. & Bendtzen, K. (1995) Bacterial-stimulated cytokine production of peripheral mononuclear cells from patients of various periodontitis categories. *J Periodontol* 66, 139-144.
44. Kornman, K. S., Crane, A., Wang, H. Y., di Giovine, F. S., Newman, M. G., Pirk, F. W., Wilson, T. G., Jr., Higginbottom, F. L. & Duff, G. W. (1997) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24, 72-77.
45. Kornman, K. S. & di Giovine, F. S. (1998) Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 3, 327-338.
46. Kornman, K. S. & Duff, G. W. (1997). Detecting genetic predisposition to periodontal disease In *United States Patent Office*. United States: 5,686,246.

47. Lafage, M., Maroc, N., Dubreuil, P., de Waal Malefijt, R., Pebusque, M. J., Carcassonne, Y. & Mannoni, P. (1989) The human interleukin-1 alpha gene is located on the long arm of chromosome 2 at band q13. *Blood* 73, 104-107.
48. Laine, M. L., Farre, M. A., Gonzalez, G., van Dijk, L. J., Ham, A. J., Winkel, E. G., Crusius, J. B., Vandenbroucke, J. P., van Winkelhoff, A. J. & Pena, A. S. (2001) Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res* 80, 1695-1699.
49. Lang, N. P., Tonetti, M. S., Suter, J., Sorrell, J., Duff, G. W. & Kornman, K. S. (2000) Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population. *J Periodontal Res* 35, 102-107.
50. Lennard, A. C. (1995) Interleukin-1 receptor antagonist. *Crit Rev Immunol* 15, 77-105.
51. Lindhe, J. (1992). *Periodontología clínica*. segunda edition. Buenos Aires, Argentina: Médica-Panamericana.
52. Lindhe, J., Karring, T. & Lang, P. (1998). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 3rd edition edition. Copenhagen: Munksgaard.
53. Mark, L. L., Haffajee, A. D., Socransky, S. S., Kent, R. L., Jr., Guerrero, D., Kornman, K., Newman, M. & Stashenko, P. (2000) Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1beta expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontal Res* 35, 172-177.
54. Masada, M. P., Persson, R., Kenney, J. S., Lee, S. W., Page, R. C. & Allison, A. C. (1990) Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 25, 156-163.
55. Mayrand, D. & Grenier, D. (1985) Detection of collagenase activity in oral bacteria. *Can J Microbiol* 31, 134-138.
56. McDowell, T. L., Symons, J. A., Ploski, R., Forre, O. & Duff, G. W. (1995) A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum* 38, 221-228.

57. McFarlane, C. G., Reynolds, J. J. & Meikle, M. C. (1990) The release of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by cultured peripheral blood mononuclear cells from patients with periodontitis. *J Periodontal Res* 25, 207-214.
58. Meisel, P., Siegemund, A., Dombrowa, S., Sawaf, H., Fanghaenel, J. & Kocher, T. (2002) Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 73, 27-32.
59. Meisel, P., Siegemund, A., Grimm, R., Herrmann, F. H., John, U., Schwahn, C. & Kocher, T. (2003) The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study. *J Dent Res* 82, 189-193.
60. Michalowicz, B. S. (1993) Genetic and inheritance considerations in periodontal disease. *Curr Opin Periodontol*, 11-17.
61. Michalowicz, B. S. (1994) Genetic risk factors for the periodontal diseases. *Compendium* 15, 1036, 1038, 1040 passim.
62. Nemetz, A., Nosti-Escanilla, M. P., Molnar, T., Kope, A., Kovacs, A., Feher, J., Tulassay, Z., Nagy, F., Garcia-Gonzalez, M. A. & Pena, A. S. (1999) IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. *Immunogenetics* 49, 527-531.
63. Offenbacher, S., Farr, D. H. & Goodson, J. M. (1981) Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 8, 359-367.
64. Page, R. C. (1991) The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 26, 230-242.
65. Page, R. C., Engel, L. D., Narayanan, A. S. & Clagett, J. A. (1978) Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. *Jama* 240, 545-550.
66. Page, R. C. & Schroeder, H. E. (1976) Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 34, 235-249.

67. Page, R. C., Simpson, D. M. & Ammons, W. F. (1975) Host tissue response in chronic inflammatory periodontal disease IV. The periodontal and dental status of a group of aged great apes. *J Periodontol* 46, 144-155.
68. Page, R. C., Simpson, D. M., Ammons, W. F. & Schectman, L. R. (1972) Host response in chronic periodontal disease. *J Periodontal Res* 7, 283-296.
69. Papo, M., Quer, J. C., Gutierrez, C., Broch, M., Casellas, F., Pastor, R. M., Olona, M. & Richart, C. (1999) Genetic heterogeneity within ulcerative colitis determined by an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11, 413-420.
70. Pociot, F., Molvig, J., Wogensen, L., Worsaae, H. & Nerup, J. (1992) A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 22, 396-402.
71. Preshaw, P. (2004) Antibiotics in the treatment of periodontitis. *Dent Update* 31, 448-450, 453-444, 456.
72. Ramfjord, S. P. (1982). *Periodontología y Periodoncia*. primera edition. Buenos Aires, Argentina: Médica-Panamericana.
73. Richards, D. & Rutherford, R. B. (1988) The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol* 33, 237-243.
74. Rosenwasser, L. J. (1998) Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J Allergy Clin Immunol* 102, 344-350.
75. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (1990). Microbial risk factors for destructive periodontal diseases In *Risk assessment in dentistry*. ed. J. D. Bader, pp. 79-90. Chapel hill: University of North Carolina.
76. Socransky, S. S. & Haffajee, A. D. (1994) Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000* 5, 7-25.

77. Stashenko, P., Fujiyoshi, P., Obernesser, M. S., Prostack, L., Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1991a) Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* 18, 548-554.
78. Stashenko, P., Jandinski, J. J., Fujiyoshi, P., Rynar, J. & Socransky, S. S. (1991b) Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol* 62, 504-509.
79. Stokkers, P. C., van Aken, B. E., Basoski, N., Reitsma, P. H., Tytgat, G. N. & van Deventer, S. J. (1998) Five genetic markers in the interleukin 1 family in relation to inflammatory bowel disease. *Gut* 43, 33-39.
80. Tazi-Ahnini, R., Cox, A., McDonagh, A. J., Nicklin, M. J., di Giovine, F. S., Timms, J. M., Messenger, A. G., Dimitropoulou, P., Duff, G. W. & Cork, M. J. (2002) Genetic analysis of the interleukin-1 receptor antagonist and its homologue IL-1L1 in alopecia areata: strong severity association and possible gene interaction. *Eur J Immunogenet* 29, 25-30.
81. Tsai, C. C., Ho, Y. P. & Chen, C. C. (1995) Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol* 66, 852-859.
82. van Winkelhoff, A. J., Bosch-Tijhof, C. J., Winkel, E. G. & van der Reijden, W. A. (2001) Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. *J Periodontol* 72, 666-671.
83. Walker, S. J., Van Dyke, T. E., Rich, S., Kornman, K. S., di Giovine, F. S. & Hart, T. C. (2000) Genetic polymorphisms of the IL-1alpha and IL-1beta genes in African- American LJP patients and an African-American control population. *J Periodontol* 71, 723-728.
84. Wilson, A. G., di Giovine, F. S. & Duff, G. W. (1995) Genetics of tumour necrosis factor-alpha in autoimmune, infectious, and neoplastic diseases. *J Inflamm* 45, 1-12.
85. Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (2000) Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 27, 648-657.

VI. TABLAS

Tabla 1. Características clínicas de los sujetos de estudio incluidos en cada grupo ($n=118$).

Característica clínica	PCG ($n=66$)		PAG ($n=22$)		SP ($n=30$)	
	Media \pm EEM	Rango	Media \pm EEM	Rango	Media \pm EEM	Rango
Edad (años) ^{†£§¶}	44.5 \pm 1.3	30-75	22.3 \pm 1.1	12-29	26.5 \pm 0.9	19-49
Número de dientes faltantes ^{†£§}	3.5 \pm 0.3	0-8	1.4 \pm 0.5	0-7	1.4 \pm 0.3	0-5
Género (% de mujeres) ^{*‡¥}	54.5		90.9		53.3	
% fumadores	24.2		22.7		23.3	
Profundidad de bolsa promedio (mm) ^{†§#}	4.1 \pm 0.1	2.3-7.4	3.9 \pm 0.2	2.6-6.4	2.0 \pm 0.02	1.7-2.3
Nivel de inserción promedio (mm, NI) ^{†§#}	4.5 \pm 0.2	2.6-9.0	4.0 \pm 0.2	2.6-6.7	1.9 \pm 0.02	1.6-2.3
Número de sitios con NI \geq 5 mm ^{†§#}	56.0 \pm 3.7	9-121	43.5 \pm 5.9	9-133	0 \pm 0	0
<i>% de sitios con:</i>						
Acumulación de placa ^{†§}	37.2 \pm 4.1	0-100	28.6 \pm 6.7	0-96.4	14.7 \pm 3.6	0-72
Enrojecimiento gingival ^{†§#}	17.5 \pm 3.3	0-100	21.2 \pm 6.1	0-100	3.3 \pm 1.6	0-38
Sangrado al sondeo ^{†§#}	45.2 \pm 2.6	4.4-100	42.1 \pm 4.3	13.1-95.5	2.8 \pm 0.8	0-22.6
Supuración ^{†§#}	5.6 \pm 0.9	0-36.9	5.8 \pm 1.4	0-22	0 \pm 0	0

* $p < 0.01$ y † $p < 0.001$ prueba de Kruskal-Wallis entre los 3 grupos de estudio.

‡ $p < 0.01$ y £ $p < 0.001$ prueba de Mann-Whitney entre sujetos con periodontitis crónica generalizada (PCG) y periodontitis agresiva generalizada (PAG).

§ $p < 0.001$ prueba de Mann-Whitney entre sujetos con PCG y salud periodontal (SP).

¶ $p < 0.05$, ¥ $p < 0.01$ y # $p < 0.001$ prueba de Mann-Whitney entre sujetos con PAG y SP.

Tabla 2. Polimorfismos que fueron determinados en el presente estudio.

Gen	Producto	Tipo de Polimorfismo	Ubicación del Polimorfismo
IL-1A	IL-1 α	SNP*	Cambio de C a T en la posición -889
IL-1B	IL-1 β	SNP*	Cambio de T a C en la posición +3954

* Polimorfismo en un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism).

Tabla 3. Secuencias de primers utilizados para la amplificación de genes (Kornman, et al., 1997; Hulkkonen, et al., 2000).

Gen	Polimorfismo	Primers	Longitud
IL-1A	-889	5'-AAG CTT GTT CTA CCA CCT GAA CTA GGC-3' (F) 5'-TTA CAT ATG AGC CTT CCA TG-3' (R)	99 pb
IL-1B	+3954	5'-GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC-3' (F) 5'-TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA-3' (R)	249 pb

Tabla 4. Condiciones de amplificación empleadas para cada polimorfismo.

Gen	Polimorfismo	Condiciones de amplificación
IL-1A	-889	(94°C, 4m) x1; (94°C, 1m; 62°C, 1m; 72°C, 1m) x35; (72°C, 10m) x1
IL-1B	+3954	(94°C, 4m) x1; (94°C, 30s; 55°C, 30s; 72°C, 40s) x35; (72°C, 10m) x1

Tabla 5. Procedimientos utilizados para determinar la presencia de polimorfismos genéticos a partir de los productos de las reacciones de PCR.

Gen	Polimorfismo	Procedimiento
IL-1A	-889	Digestión con 3 U de <i>Nco</i> I, a 37°C por 3 h. Inactivación a 65°C por 20 min
IL-1B	+3954	Digestión con 3 U de <i>Taq</i> I, a 65°C por 3 h. Inactivación a 80°C por 20 min

Tabla 6. Distribución de frecuencias genómicas y alélicas.

	PCG (n=66)		PAG (n=22)		SP (n=30)	
	%	n=	%	n=	%	n=
<i>IL-1B+3954</i>						
(A1/A1)	75.8	50	86.4	19	66.7	20
(A1/A2)	18.2	12	9.1	2	26.7	8
(A2/A2)	6.1	4	4.5	1	6.7	2
A1	93.9	62	95.5	21	93.3	28
A2	24.2	16	13.6	3	33.3	10
<i>IL-1A-889</i>						
(A1/A1)	50	33	86.4	19	73.3	22
(A1/A2)	40.9	27	9.1	2	26.7	8
(A2/A2)	9.1	6	4.5	1	0	0
A1	90.9	60	95.5	21	100	30
A2	50	33	13.6	3	26.7	8
<i>IL-1B-3954 + IL-1A-889</i>						
(A1/A1) + (A1/A1)	43.9	29	81.8	18	60	18
(A1/A1) + (A1/A2)	27.3	18	4.5	1	6.7	2
(A1/A1) + (A2/A2)	4.5	3	0	0	0	0
(A1/A2) + (A1/A1)	3	2	0	0	13.3	4
(A1/A2) + (A1/A2)	12.1	8	4.5	1	13.3	4
(A1/A2) + (A2/A2)	3	2	4.5	1	0	0
(A2/A2) + (A1/A1)	3	2	4.5	1	0	0
(A2/A2) + (A1/A2)	1.5	1	0	0	6.7	2
(A2/A2) + (A2/A2)	1.5	1	0	0	0	0
A1 + A1	86.4	57	90.9	20	93.3	28
A1 + A2	47	31	13.6	3	20	6
A2 + A1	19.7	13	9.1	2	33.3	10
A2 + A2	18.2	12	9.1	2	20	6

Tabla 7. Chi-cuadrada y estimación de riesgo de frecuencias genómicas y alélicas entre los diferentes grupos de estudio

	PCG vs. SP				PAG vs. SP				PCG vs. PAG			
	(F) $p=^*$	RM [†]	IC [‡]	(MH) $p=^{\text{£}}$	(F) $p=$	RM	IC	(MH) $p=$	(F) $p=$	RM	IC	(MH) $p=$
IL-1B+3954												
(A1/A1)	ns [§]	1.56	0.61-4.02	ns	ns	3.16	0.75-13.29	ns	ns	2.02	0.53-7.75	ns
(A1/A2)	ns	0.61	0.22-1.69	ns	ns	0.27	0.05-1.45	ns	ns	0.45	0.09-2.19	ns
(A2/A2)	ns	0.90	0.15-5.22	ns	ns	0.66	0.05-7.85	ns	ns	0.73	0.07-6.97	ns
A1	ns	1.10	0.19-6.40	ns	ns	1.50	0.12-17.66	ns	ns	1.35	0.14-12.80	ns
A2	ns	0.64	0.24-1.64	ns	ns	0.31	0.07-1.32	ns	ns	0.49	0.12-1.88	ns
IL-1A-889												
(A1/A1)	0.045	0.36	0.14-0.93	0.035	ns	2.30	0.53-9.93	ns	0.003	6.33	1.70-23.46	0.006
(A1/A2)	ns	1.90	0.73-4.90	ns	ns	0.27	0.05-1.45	ns	0.008	0.14	0.03-0.67	0.013
(A2/A2)	ns	na [¶]	na	na	ns	na	Na	na	ns	0.47	0.05-4.19	ns
A1	ns	0	na	na	ns	0	Na	na	ns	2.10	0.23-18.47	ns
A2	0.045	2.75	1.07-7.05	0.035	ns	0.43	0.10-1.87	ns	0.003	0.15	0.04-0.58	0.006
IL-1B-3954 + IL-1A-889												
(A1/A1) + (A1/A1)	ns	0.52	0.21-1.25	ns	ns	3.00	0.81-11.08	ns	0.003	5.74	1.75-18.82	0.004
(A1/A1) + (A1/A2)	0.029	5.25	1.13-24.32	0.034	ns	0.66	0.05-7.85	ns	0.034	0.12	0.01-1.01	ns
(A1/A1) + (A2/A2)	ns	na	na	na	na	na	Na	na	ns	0	na	na
(A1/A2) + (A1/A1)	ns	0.20	0.03-1.17	ns	ns	0	Na	na	ns	0	na	na
(A1/A2) + (A1/A2)	ns	0.89	0.24-3.24	ns	ns	0.31	0.03-2.98	ns	ns	0.34	0.04-2.92	ns
(A1/A2) + (A2/A2)	ns	na	na	na	ns	na	Na	na	ns	1.52	0.13-17.66	ns
(A2/A2) + (A1/A1)	ns	na	na	na	ns	na	Na	na	ns	1.52	0.13-17.66	ns
(A2/A2) + (A1/A2)	ns	0.21	0.01-2.47	ns	ns	0	Na	na	ns	0	na	na
(A2/A2) + (A2/A2)	ns	na	na	na	na	na	Na	na	ns	0	na	na
A1 + A1	ns	0.45	0.09-2.23	ns	ns	0.71	0.93-5.50	ns	ns	1.57	0.31-7.93	ns
A1 + A2	0.013	3.54	1.28-9.79	0.015	ns	0.63	0.13-2.86	ns	0.006	0.17	0.04-0.66	0.010
A2 + A1	ns	0.49	0.18-1.29	ns	ns	0.20	0.03-1.03	ns	ns	0.40	0.08-1.97	ns
A2 + A2	ns	0.88	0.29-2.64	ns	ns	0.40	0.07-2.20	ns	ns	0.45	0.09-2.19	ns

* Prueba exacta de Fisher (2 colas). † Estimación de la razón de momios común de Mantel-Haenszel. ‡ Intervalos de confianza al 95% para prueba de Mantel-Haenszel. £ Significancia de 2 colas para prueba de Mantel-Haenszel. § No significativo ($p>0.05$). ¶ No aplica.

VII. FIGURAS

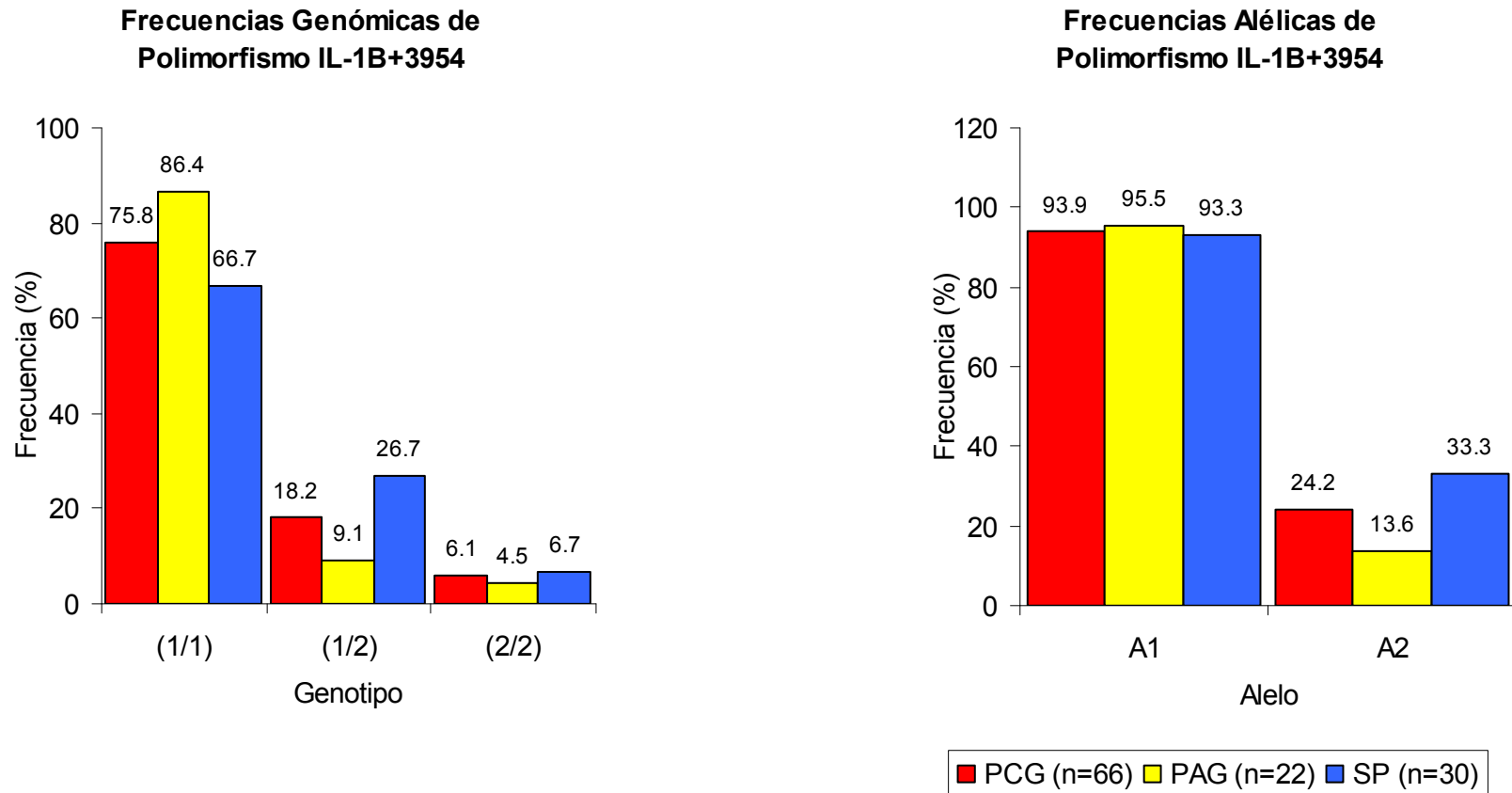


Figura 1. Distribución de frecuencias genómicas y alélicas del polimorfismo IL-1B+3954 en sujetos mexicanos con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP) (n=118). Las asociaciones entre grupos de estudio y los genotipos o alelos evaluados no fueron estadísticamente significativas (Prueba exacta de Fisher).

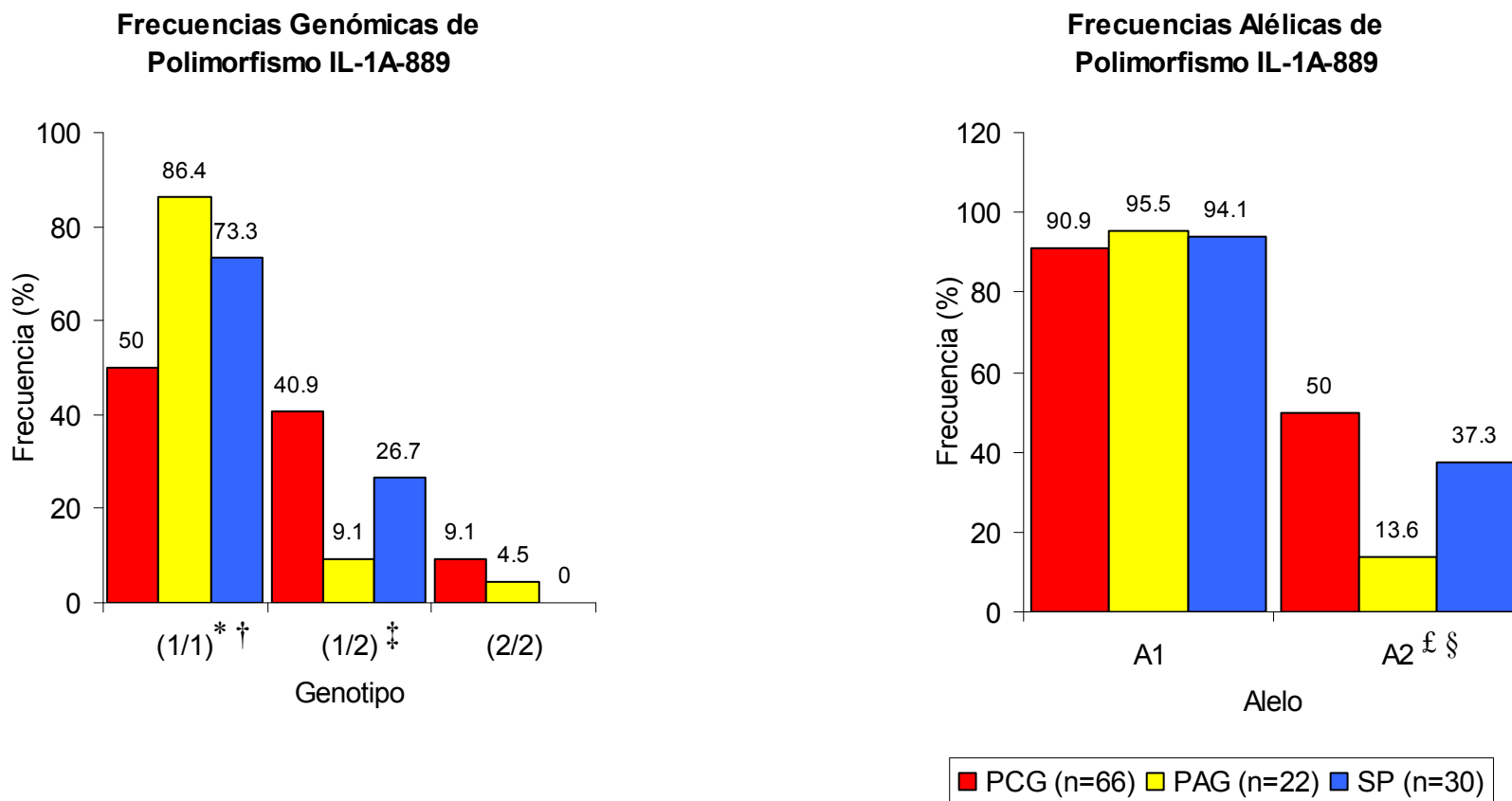


Figura 2. Distribución de frecuencias genómicas y alélicas del polimorfismo IL-1A-889 en sujetos mexicanos con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP) (n=118).

* $p < 0.05$ y † $p < 0.01$ prueba exacta de Fisher de sujetos con periodontitis crónica generalizada (PCG) vs. salud periodontal (SP) (RM=0.36, IC=0.14-0.93, (MH) $p=0.035$) y de sujetos con PCG vs. periodontitis agresiva generalizada (PAG) respectivamente (RM=6.33, IC=1.70-23.46, (MH) $p=0.006$).

‡ $p < 0.01$ prueba exacta de Fisher de sujetos con PCG vs. PAG (RM=0.14, IC=0.03-0.67, (MH) $p=0.013$).

£ $p < 0.05$ y § $p < 0.01$ prueba exacta de Fisher de sujetos con PCG vs. SP (RM=2.75, IC=1.07-7.05, (MH) $p=0.035$) y de sujetos con PCG vs. PAG respectivamente (RM=0.15, IC=0.04-0.58, (MH) $p=0.006$).

RM=estimación de la razón de momios común de Mantel-Haenszel. IC=intervalos de confianza al 95% para prueba de Mantel-Haenszel. (MH) p =significancia de 2 colas para prueba de Mantel-Haenszel.

Frecuencias Genómicas Combinadas de Polimorfismos IL-1B+3954 e IL-1A-889

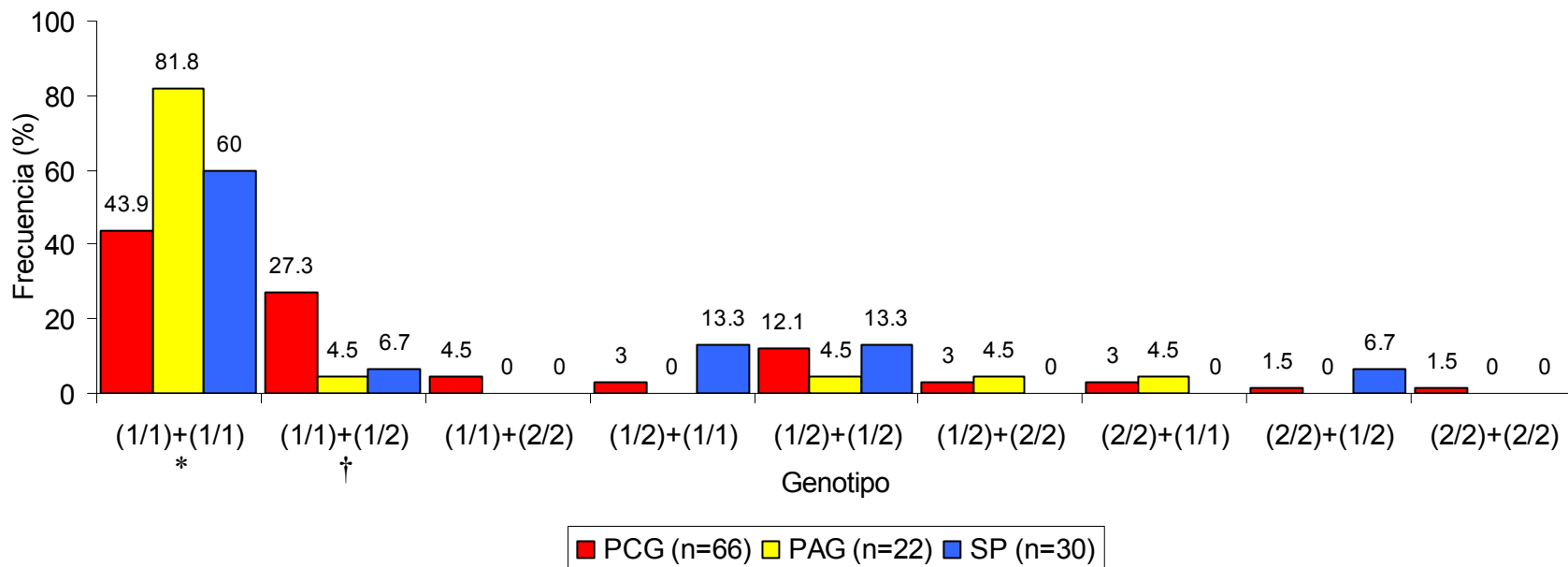


Figura 3. Distribución de frecuencias genómicas combinadas de los polimorfismo IL-1B+3954 e IL-1A-889 en sujetos mexicanos con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP) (n=118).

* $p < 0.01$ prueba exacta de Fisher de sujetos con periodontitis crónica generalizada (PCG) vs. periodontitis agresiva generalizada (PAG) (RM=5.74, IC=1.75-18.82, (MH) $p = 0.004$).

† $p < 0.05$ prueba exacta de Fisher de sujetos con PCG vs. SP (RM=5.25, IC=1.13-24.32, (MH) $p = 0.034$) y de sujetos con PCG vs. PAG respectivamente (RM=0.12, IC=0.01-1.01, (MH) $p = ns$).

RM=estimación de la razón de momios común de Mantel-Haenszel. IC=intervalos de confianza al 95% para prueba de Mantel-Haenszel. (MH) p =significancia de 2 colas para prueba de Mantel-Haenszel. ns=no significativo.

Frecuencias Alélicas Combinadas de Polimorfismos IL-1B+3954 e IL-1A-889

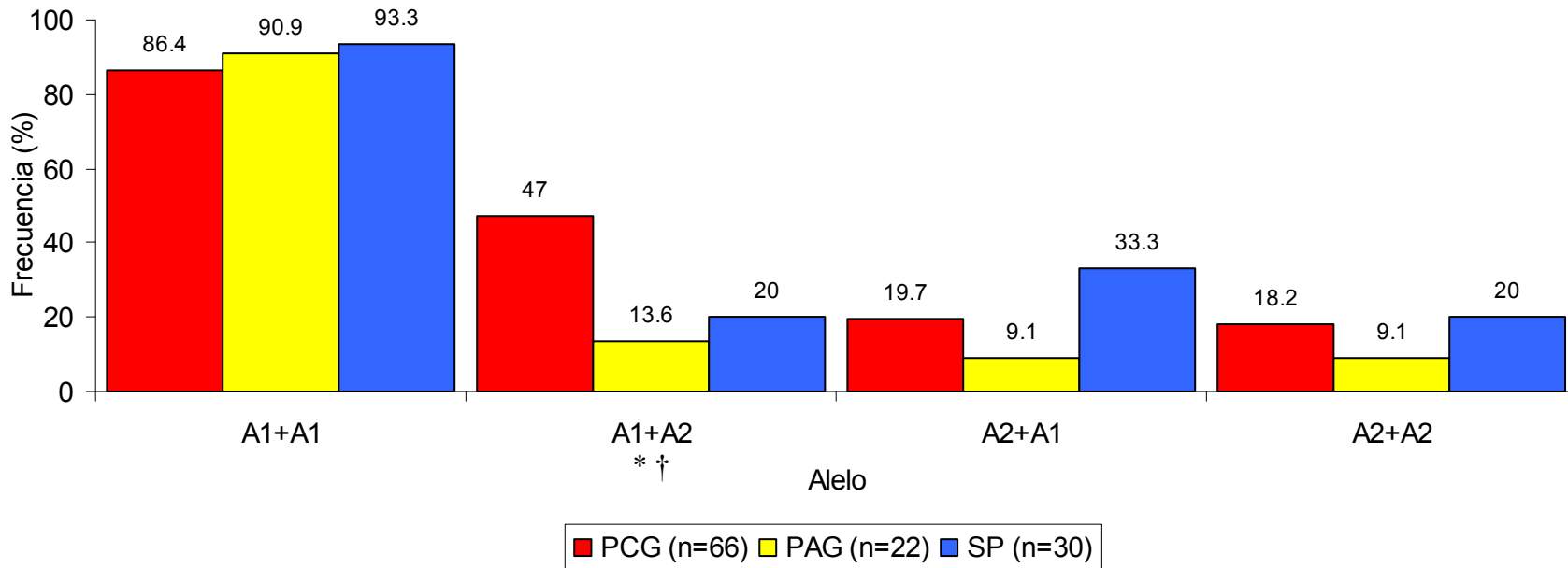


Figura 4. Distribución de frecuencias alélicas combinadas de los polimorfismo IL-1B+3954 e IL-1A-889 en sujetos mexicanos con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP) (n=118).

* $p < 0.05$ y † $p < 0.01$ prueba exacta de Fisher de sujetos con periodontitis crónica generalizada (PCG) vs. salud periodontal (SP) (RM=3.54, IC=1.28-9.79, (MH) $p=0.015$) y de sujetos con PCG vs. periodontitis agresiva generalizada (PAG) respectivamente (RM=0.17, IC=0.04-0.66, (MH) $p=0.010$).

RM=estimación de la razón de momios común de Mantel-Haenszel. IC=intervalos de confianza al 95% para prueba de Mantel-Haenszel. (MH) p =significancia de 2 colas para prueba de Mantel-Haenszel.

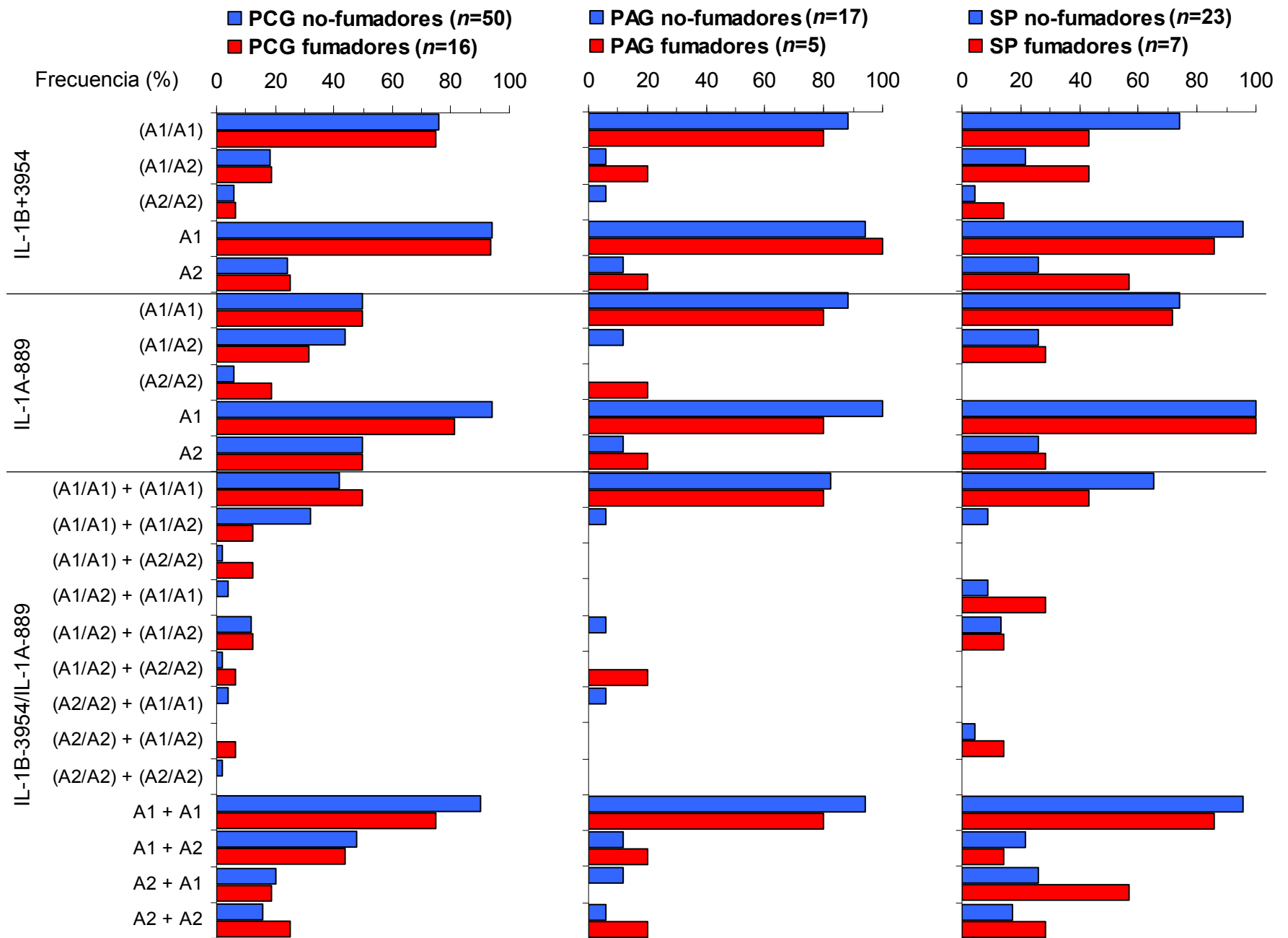


Figura 5. Distribución de frecuencias genómicas y alélicas en sujetos no-fumadores y fumadores (n=118) con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP). Las diferencias entre no-fumadores y fumadores no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los grupos de estudio para los genotipos y alelos evaluados (Mann-Whitney).

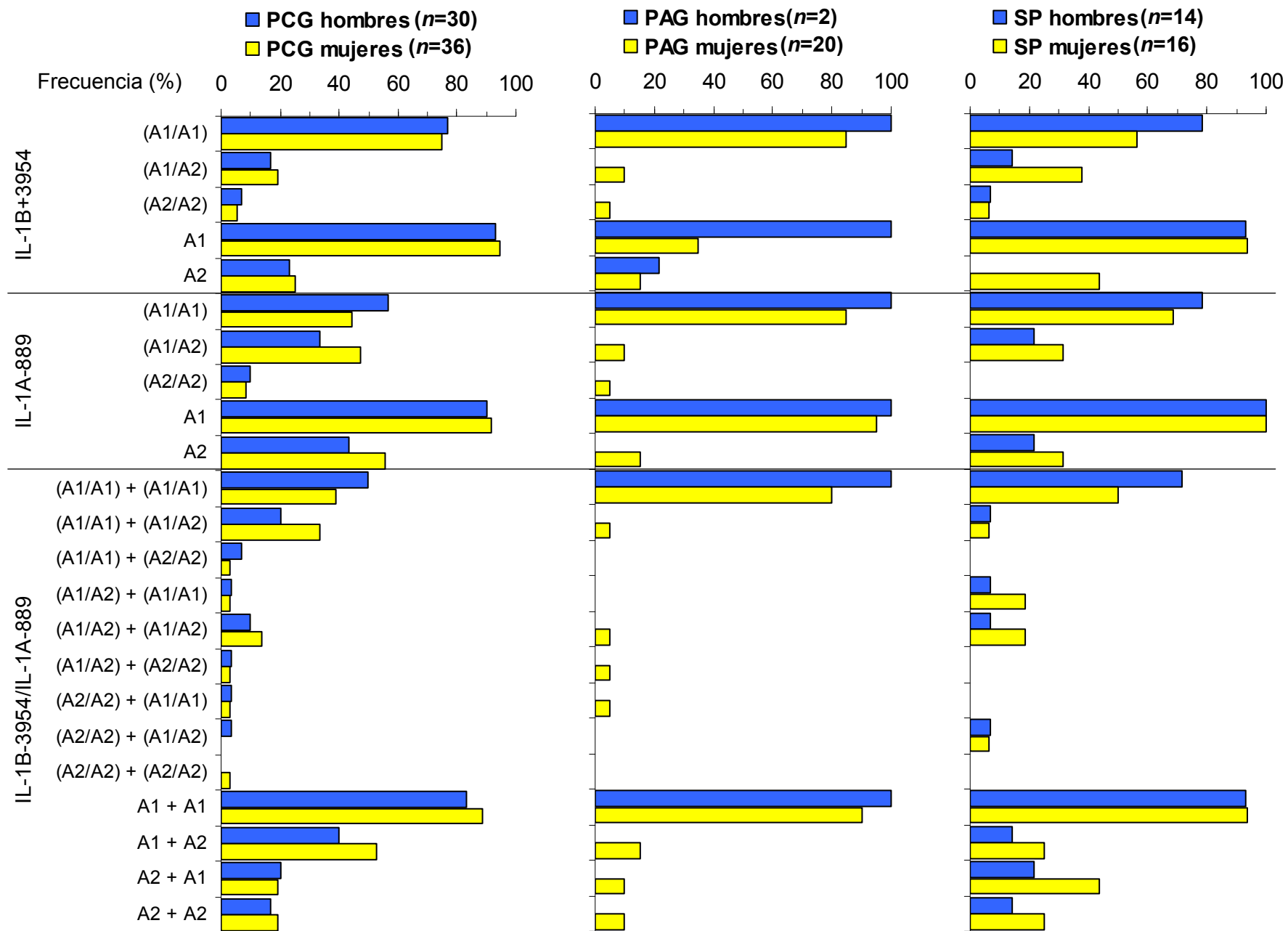


Figura 6. Distribución de frecuencias genómicas y alélicas en hombres y mujeres (n=118) con periodontitis crónica generalizada (PCG), periodontitis agresiva generalizada (PAG) y salud periodontal (SP). Las diferencias entre hombres y mujeres no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los grupos de estudio para los genotipos y alelos evaluados (Mann-Whitney).

VII. ANEXOS

Anexo 1. Forma de Consentimiento Informado.

INVESTIGADOR RESPONSABLE: Dra. Laurie Ann Ximénez-Fyvie.

CLÍNICOS RESPONSABLES: Dra. Velia Jacobo-Soto.
Dra. Argelia Almaguer-Flores.
Dra. Ma. de Lourdes Márquez C.
Dra. Jazmín Yunuen Moreno Borjas.
Dra. Dolores Carrasco Ortiz.

INSTITUCIÓN: Laboratorio de Genética Molecular
Div. de Estudios de Posgrado e Investigación
Facultad de Odontología, UNAM

TELÉFONO: 5622-5565 (horas y días hábiles)

TÍTULO DEL PROYECTO: Efectos inmunológicos y clínicos de polimorfismos genéticos relacionados con las enfermedades periodontales en México.
(DGAPA # IN213006-3)

INVITACIÓN A PARTICIPAR: Usted está invitado a participar en un estudio de investigación que analiza las bacterias de la boca así como las características genéticas y del sistema de defensa de las personas que padecen enfermedades de las encías.

PROPÓSITO: Usted debe entender que los objetivos del estudio son determinar la presencia y cantidad de bacterias que se encuentran en la boca de personas con diferentes tipos de enfermedades de las encías y comparar las características genéticas y la magnitud de la respuesta del sistema de defensa entre personas con y sin enfermedades de las encías.

PROCEDIMIENTOS: Usted debe entender que para participar en el estudio debe haber nacido en la República Mexicana, no debe padecer ninguna enfermedad sistémica a excepción de diabetes, debe tener por lo menos 20 dientes naturales en la boca, no puede haber recibido ningún tipo de tratamiento periodontal en el pasado, no puede haber recibido una limpieza dental profesional en el último mes y no puede haber tomado ningún tipo de antibiótico en los últimos 3 meses. Asimismo, en el caso de ser mujer, no puede estar embarazada ni lactando.

Usted debe entender que su participación en este estudio de investigación requiere uno o más de los siguientes procedimientos:

- **La realización de una evaluación periodontal completa**, la cual consistirá en medir la profundidad de las pequeñas “bolsas” que se encuentran entre sus dientes y sus encías. Estas medidas serán tomadas con un instrumento especial llamado sonda que será introducido en dichas “bolsas” en 6 lugares diferentes alrededor de cada diente de su boca. Este es un procedimiento de rutina ampliamente utilizado en la práctica dental. Además de lo anterior, se le realizará una evaluación general de la salud de sus encías para saber si sangran, si están inflamadas, si están enrojecidas, etc.
- **La obtención de algunos de sus datos generales y médicos**, lo cual consistirá en el llenado de una historia clínica con preguntas que le serán leídas por el clínico que lo atiende y la medición de su peso, estatura, presión sanguínea, pulso y porcentaje de grasa corporal.
- **La toma de un máximo de 28 muestras de placa dentobacteriana**, lo cual se realizará tomando con un instrumento dental, una muestra de la película blanquecina que se forma

naturalmente sobre la superficie de sus dientes (placa dentobacteriana) de todos los dientes de su boca. Este procedimiento no es doloroso aunque en algunas ocasiones puede ser un poco molesto. Cada muestra de placa dentobacteriana será colocada dentro de un tubo.

- **La toma de 1 muestra de máximo 11 ml de sangre**, lo cual se realizará siguiendo los mismos procedimientos que se llevan a cabo en laboratorios de diagnóstico clínico acreditados. Dicho procedimiento consiste en colocar una liga gruesa ligeramente apretada alrededor de su brazo para facilitar la visualización de sus venas. Posteriormente, se introduce una aguja a una vena de alguno de sus brazos y se deposita la sangre en uno o dos tubos de vidrio conforme sale de la vena. La liga y aguja serán retiradas y el sitio de punción será cubierto con un curita una vez que el clínico determine que ha dejado de sangrar. Este procedimiento puede causarle dolor o molestias principalmente en el sitio de la punción.
- **La toma de 1 muestra de células epiteliales de la mucosa bucal**, lo cual se realizará frotando un algodón sobre la superficie interna de sus mejillas, paladar, labios, encías y por debajo de la lengua durante aproximadamente 1 minuto. Este procedimiento no conlleva ninguna molestia. La muestra será colocada sobre una tarjeta de papel especial.

Usted debe entender que todos los procedimientos serán realizados en una sola visita que tendrá una duración máxima de 2 horas y que en este estudio participarán aproximadamente 500 (quinientas) personas.

Usted debe entender que su participación en el estudio no implica que será sometido a ningún tratamiento diferente o adicional a aquellos tratamientos que su clínico tratante considere necesarios para su caso.

RIESGOS: Usted debe entender que los riesgos que usted corre con su participación en este estudio son mínimos. La evaluación periodontal que se le realizará es la misma que realiza cualquier dentista para determinar la salud de sus encías. Las muestras de placa se tomarán siguiendo procedimientos similares a los que se realizan durante una limpieza dental. La muestra de células epiteliales de la mucosa bucal no conllevan ninguna molestia y la muestra de sangre puede causarle algunas molestias menores pero no duraderas en el sitio de la punción.

Debe entender que todos los procedimientos serán realizados por profesionales calificados y con experiencia, utilizando procedimientos de seguridad aceptados para la práctica clínica. Todo el personal que le atenderá utilizará guantes desechables, bata y cubrebocas para su propia protección y la de usted. Todos los materiales e instrumental que serán utilizados serán desechables y/o estarán esterilizados para su protección.

BENEFICIOS: Usted debe entender que su participación no le proporcionará ningún beneficio inmediato ni directo. Sin embargo, gracias a su participación, se obtendrá información nueva y más extensa sobre las causas y los factores que intervienen en las enfermedades de las encías en la población de México, lo cual podría ayudar en un futuro no sólo al mejor entendimiento de dichas enfermedades, sino también a la búsqueda y empleo de nuevos tratamientos para nuestra población.

COMPENSACIONES: Usted debe entender que no existe ninguna compensación monetaria por su participación pero que tampoco incurrirá en ningún gasto adicional.

CONFIDENCIALIDAD: Usted debe entender que toda la información que sea obtenida tanto en sus historiales clínicos como en el análisis de sus muestras será mantenida en estricta confidencialidad. Así mismo, si cualquier publicación resultara de esta investigación, no se le identificará jamás por nombre.

RENUNCIA/RETIRO: Usted debe saber que su participación en el estudio es totalmente voluntaria y que puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin que esto represente algún perjuicio para su atención dental presente ni futura en las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM. También debe entender que si cualquiera de los responsables de este estudio decidieran no incluirle en la investigación, pueden hacerlo si así lo creyeran conveniente.

DERECHOS: Usted tiene el derecho de hacer preguntas y de que éstas le sean contestadas a su plena satisfacción. Puede hacer sus preguntas en este momento, antes de firmar la presente forma o en cualquier momento en el futuro. Si desea mayores informes acerca de su participación en este estudio de investigación o sobre sus derechos como sujeto de estudio, puede contactar a cualquiera de los responsables llamando al número de teléfono que se encuentra en la parte superior de la primera página de esta forma.

ACUERDO: Al firmar en los espacios provistos a continuación usted constata que ha leído y entendido esta forma de consentimiento y que está de acuerdo con su participación en este estudio. Al terminar la visita recibirá una copia de esta forma.

Nombre del Paciente

Firma del Paciente

Fecha
(Dia/mes/año)

Nombre del Clínico Responsable

Firma del Clínico Responsable

Fecha
(Dia/mes/año)