



**Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Odontología  
División de Estudios de Posgrado e Investigación**

**Laboratorio de Genética Molecular**

**Distribución de variaciones genéticas en los  
genes IL6, IL8, IL10, IL12B, TNF y LTA en  
sujetos mexicanos con periodontitis crónica y  
agresiva generalizadas**

**TESIS**

Que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Odontológicas

**PRESENTA**

**Valentina García Lee**

**TUTORA**

**Dra. Laurie Ann Ximénez Fyvie**



México D.F.

2009

## AGRADECIMIENTOS

*“La reconnaissance est la mémoire du coeur”*

-Jean-Baptiste Henri Lacordaire

Es mentira que la palabra “gracias” no es suficiente para expresar agradecimiento, en realidad abarca todos los sentimientos y pensamientos que quisiera expresar en extenso, pero me tomaría un par de volúmenes como éste describirlos. Es un hecho que jamás hubiera tenido la fuerza de concluir este ciclo sin ustedes; los que están apunto de leer el siguiente texto.

Gracias a mi familia por ser todo menos “normal”.

A mi hermana Tere, sin tu ayuda jamás hubiera terminado nada... Gracias totales.

Por que Dios nos crea y nosotros nos juntamos. A mis amigos; Paula, porque sin tu ayuda ni tu compañía ya no hablaría ni escribiría correctamente en español. A Mónica, Emilio, Isra, Mariana, JP, Rafo, son elementales para mi salud mental. A Bruno y a José Luis, porque además de ser amigos entrañables, son mi familia científica. Por ayudarme a encontrar mis raíces, a la invasiva delegación jarocho: Eunice, Mariel y Lia (gracias por ser la primera en leer mi borrador). A Yorch, Aser, Toño y Tocayo por descomponer mi compu. A Yayi y a Mari, por ser tan hermosas. Gracias a todos por acompañarme en los momentos más difíciles, y hacerlos agradables.

A mis compañeras de laboratorio, Adri, Paty, Arge, gracias por compartir su conocimiento y por hacer agradable el ambiente de trabajo.

Al Dr. Higinio Arzate quien se esforzó en que el Programa valiera la pena.

Al Ing. Adrián Álvarez del Castillo Sánchez, sin cuya invaluable aportación hubiera sido imposible analizar los resultados.

A mi tutora, Laurie Ann, gracias por todo lo que aprendí en el camino, por el trabajo en vacaciones y fines de semana, incluso de larga distancia; por las desveladas, con salud y enfermedad. Sobre todo gracias por la oportunidad de subirme a este barco, lo logramos...



## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
Antecedentes.....	2
Periodonto .....	2
Encía .....	2
Ligamento periodontal.....	3
Cemento radicular.....	4
Hueso alveolar .....	4
Enfermedad periodontal .....	5
Clasificación de las enfermedades periodontales .....	7
Patogenia de las enfermedades periodontales.....	10
Mediadores de la inflamación.....	14
Factores de riesgo .....	18
Marcadores genéticos.....	19
Diagnóstico genético de las enfermedades periodontales.....	26
Planteamiento del problema y justificación.....	28
Objetivos .....	29
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>30</b>
Diseño experimental .....	30
Población de estudio .....	30
Criterios de selección .....	31
Evaluación clínica .....	31
Evaluación genética .....	32
Recolección y procesamiento de muestras .....	32
Muestras de sangre.....	32
Muestras de células epiteliales de mejilla.....	33
Detección de variaciones genéticas .....	33
Análisis estadístico de datos .....	34
Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales.....	35

---

Comparación de alelos y genotipos individuales .....	37
Selección de alelos y genotipos individuales.....	39
Generación de variables con alelos y genotipos combinados (haplotipos) .....	39
Comparación de haplotipos entre grupos de estudio .....	40
Selección de alelos y genotipos combinados (haplotipos) .....	40
Fase 1. En base a los análisis estadísticos .....	40
Fase 2. En base a redundancias.....	41
Aplicación y análisis del modelo aditivo propuesto .....	41
Identificación de marcadores genéticos .....	42
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales .....	43
Comparación de alelos y genotipos individuales .....	47
Selección de alelos y genotipos individuales .....	48
Generación de variables con alelos y genotipos combinados (haplotipos) .....	49
Comparación de haplotipos entre grupos de estudio.....	50
Selección de alelos y genotipos combinados (haplotipos) .....	52
Fase 1. En base a los análisis estadísticos.....	52
Fase 2. En base a redundancias .....	53
Aplicación y análisis del modelo aditivo propuesto.....	54
Identificación de marcadores genéticos .....	54
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>57</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>81</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>83</b>
<b>TABLAS.....</b>	<b>104</b>
<b>FIGURAS .....</b>	<b>119</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>149</b>
Anexo 1. Formato de consentimiento informado .....	149



## RESUMEN

La destrucción periodontal se da como consecuencia de la respuesta inflamatoria, mediada por las citocinas IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF y LTA, entre otras. Las variaciones genéticas pueden influir sobre los mecanismos que regulan la producción de proteínas, y por lo tanto sobre la susceptibilidad y riesgo de individuos a padecer diversas enfermedades. **Objetivos:** Describir las frecuencias alélicas y genotípicas de las variaciones IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A, LTA:c.131+90A>G, desarrollar un modelo estadístico de análisis y aplicarlo para identificar las asociaciones entre las variaciones y dos tipos de enfermedad periodontal. **Materiales y métodos:** Se analizó el ADN de 58 sujetos con periodontitis crónica generalizada (PCG), 27 con agresiva generalizada (PAG) y 42 con salud periodontal (SP) para identificar los alelos y genotipos de las variaciones anteriores. Se calculó la distribución de frecuencias de cada variación en los grupos de estudio, y se aplicó un modelo aditivo de análisis de datos. **Resultados:** La distribución de frecuencias alélicas y genotípicas, fue similar a la descrita para otras poblaciones de mestizos mexicanos, así como para turcos, individuos de raza negra y asiáticos, principalmente de Japón y Corea. Utilizando el modelo de análisis propuesto, se identificaron dos haplotipos aditivos con habilidad para marcar la susceptibilidad y riesgo a la PAG. **Conclusión:** Los marcadores genéticos identificados, podrían emplearse como una herramienta no sólo para determinar la predisposición y riesgo de individuos periodontalmente sanos a desarrollar PAG, sino que también para diagnosticar correctamente el tipo de enfermedad en sujetos con periodontitis.

# INTRODUCCIÓN

## ANTECEDENTES

### **Periodonto**

Las funciones del periodonto son unir el diente al tejido óseo de los maxilares, resistir y resolver las fuerzas de la masticación, deglución y fonación, y defender contra las influencias nocivas del medio externo (**Hoag 1990, Lindhe 1992, Ramfjord 1982**). El periodonto está formado por la encía, el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar.

### *Encía*

La encía rodea a todas las superficies de los dientes. En las caras vestibulares y linguales, la encía libre se extiende desde el margen gingival en dirección apical hacia el surco gingival, que se encuentra al nivel de la unión cemento esmalte de los dientes. El margen gingival es redondeado, de tal manera que entre el diente y la encía se forma un surco, llamado surco gingival (**Lindhe 1992**).

El epitelio oral que recubre la encía libre es un epitelio escamoso, queratinizado, estratificado en el que las células producen queratina, dependiendo de su grado de diferenciación. Los queratinocitos, conforman aproximadamente el 90% de la población celular total del epitelio oral; sin embargo, existen también otras células como melanocitos, células de Langerhans, células de Merkel y células inflamatorias. El epitelio dentogingival se encuentra en contacto con la superficie dental, y se continúa con el epitelio oral. El epitelio del surco gingival es la porción de encía que cubre una parte del esmalte dental en la cresta de la encía libre. El epitelio de unión tiene una superficie libre que se considera como el fondo del surco gingival, teniendo porciones tanto del epitelio del surco como del epitelio oral. La lámina propia (tejido conjuntivo) está principalmente

compuesta por fibras de colágena ( $\approx 60\%$ ), fibroblastos ( $\approx 5\%$ ), vasos y nervios ( $\approx 35\%$ ), éstos se encuentran embebidos en una sustancia amorfa compuesta por glicoproteínas y proteoglicanos llamada matriz. Además, en el tejido conectivo se encuentran células inflamatorias de diversos tipos, como mastocitos, macrófagos, neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas (**Ammons et al. 1972**).

En un diente totalmente erupcionado, el margen gingival se encuentra entre 1.5 y 2 mm en sentido coronal a la unión cemento esmalte. Al insertar una sonda periodontal dentro del surco gingival, hacia la unión cemento esmalte, la encía se separa del diente formando una “bolsa” artificial; esto es, que en una encía clínicamente sana no existe una verdadera bolsa, ya que la encía se encuentra firmemente adherida a la superficie dental, cuando existe enfermedad esta adherencia se pierde formando una verdadera bolsa haciendo más profundo el alcance de la sonda (**Lindhe 1992**).

### ***Ligamento periodontal***

El ligamento periodontal es un tejido conectivo suave, ricamente vascularizado y celular que rodea las raíces de los dientes uniéndolas a la pared del alveolo dental. El espacio del ligamento periodontal mide entre 0.2 y 0.4 mm de ancho, siendo más angosto en la región media de la raíz. El ligamento periodontal permite que las fuerzas masticatorias y otros contactos sean distribuidos y absorbidos por el hueso alveolar. Así mismo, permite el movimiento del diente dentro del alveolo, la amplitud de movimiento está determinada por el ancho, el largo y la calidad del ligamento periodontal.

En el ligamento periodontal existen cuatro grupos de fibras de colágena, que se agrupan de acuerdo a su ubicación y trayectoria en: fibras de la cresta alveolar, fibras horizontales, fibras

oblicuas y fibras apicales. Estas estructuras están en constante remodelación, mediante resorción de las fibras antiguas y formación de fibras nuevas.

### ***Cemento radicular***

El cemento radicular es un tejido mineralizado especializado que cubre la superficie de las raíces y, en algunos casos parte de la corona del diente. Su función es unir las fibras del ligamento periodontal a la raíz y contribuir al proceso de reparación cuando ha habido un daño en la superficie de la raíz.

El cemento tiene características similares al hueso alveolar; sin embargo, el cemento no contiene vasos sanguíneos ni drenaje linfático o nervios y tampoco experimenta remodelación, aunque se caracteriza por aposición continua durante toda la vida. Al igual que en otros tejidos mineralizados, el cemento contiene fibras de colágena embebidas en una matriz orgánica.

### ***Hueso alveolar***

El hueso alveolar está comprendido por los huesos del maxilar y de la mandíbula, que forman y dan soporte a los alvéolos dentales. En conjunto con el cemento y el ligamento periodontal, soporta y distribuye las fuerzas de la masticación. El hueso alveolar se renueva constantemente en respuesta a las demandas funcionales. En el proceso de remodelación, las trabéculas óseas se reabsorben y se vuelven a formar continuamente. La resorción se lleva a cabo por actividad de los osteoclastos que liberan sustancias ácidas que proveen un ambiente en el que las sales minerales se disuelven.

Una vez que los osteoclastos han ejercido su función, los osteoblastos rápidamente empiezan a depositar hueso nuevo, formando una unidad multicelular de hueso. Las fibras de colágeno del ligamento periodontal se insertan en el hueso mineralizado que delimita la pared del alveolo dental.

## **Enfermedad periodontal**

Las enfermedades periodontales son infecciones endógenas mixtas, es decir, más de una especie bacteriana contribuye a su desarrollo, y dichas especies forman parte de la flora comensal **(Grenier & Mayrand 1985, Ximenez-Fyvie *et al.* 2006a, Ximenez-Fyvie *et al.* 2000)**.

La respuesta inflamatoria ante el estímulo bacteriano es evidente tanto microscópica como clínicamente en el periodonto dañado, y representa la respuesta del hospedero a la microbiota de la placa dentobacteriana y a sus productos. A pesar de que la respuesta inmune y la inflamación en el periodonto parecen ser similares que en cualquier otra parte del cuerpo, existen diferencias. Estas diferencias se deben en parte a la anatomía periodontal y a que el epitelio de unión es sumamente poroso, lo cual le confiere una dinámica celular y de fluidos muy característica permitiendo conservar la continuidad del epitelio a lo largo de la interface entre los tejidos duros y blandos **(Lindhe 1992, Page *et al.* 1978)**.

Los dos cuadros patológicos que caracterizan a la enfermedad periodontal son la gingivitis y la periodontitis **(Armitage 1999b)**. La gingivitis es una entidad patológica reversible de tipo inflamatorio de los tejidos blandos que rodean al diente, que se presenta como una consecuencia de la acumulación local de microorganismos en la placa dentobacteriana **(Page *et al.* 1975)**. Este cuadro puede persistir durante años sin destrucción del ligamento periodontal ni pérdida ósea **(Genco 1993)**.

A diferencia de la gingivitis, la periodontitis se caracteriza por destrucción tisular irreversible en grados variables. El progreso de la enfermedad depende de la respuesta inmune debido a la presencia persistente de microorganismos específicos en la placa dentobacteriana **(Lindhe *et al.* 1998, Preshaw *et al.* 2004, Williams 1990, Ximenez-Fyvie *et al.* 2006b)**. De esta forma, la respuesta del hospedero se extiende hacia el hueso alveolar como parte del proceso destructivo

**(Irfan et al. 2001)**. Existen algunas evidencias de que la gingivitis puede preceder a la periodontitis; sin embargo, esto suele ocurrir sólo en un número limitado de casos. Es poco probable que los sujetos que mantienen un nivel de higiene adecuado desarrollen enfermedad gingival, ya que las alteraciones inflamatorias se resuelven cuando se llevan a cabo las medidas de higiene adecuadas, a pesar de que los microorganismos y sus productos hayan inducido la gingivitis **(Hellden & Lindhe 1973, Loe & Wright 1965)**.

Se cree que la acumulación de placa es un factor esencial para el desarrollo de la periodontitis; sin embargo, se requiere de otros factores para que esta enfermedad se establezca **(Lindhe et al. 1973, Loe et al. 1986, Page 1999, Page et al. 1978, Page & Schroeder 1976)**. Es probable que factores de virulencia específicos de los microorganismos estén relacionados con la respuesta inmune particular de cada individuo.

Por otro lado, existen estudios epidemiológicos que demuestran la existencia de grupos étnicos con mayor riesgo de padecer enfermedades periodontales **(Armitage et al. 2000b)**. Además, los cambios estructurales que se presentan con la edad confieren menor resistencia a la invasión microbiana. Aunado a esto, se ha observado que la severidad del daño en los tejidos periodontales puede variar de un diente a otro en el mismo individuo, es decir, un paciente que es susceptible a padecer enfermedad periodontal no muestra una condición homogénea de predisposición. Cada órgano dental representa un microambiente individual y específico, pudiendo encontrarse en el mismo individuo dientes con un periodonto sano y dientes afectados en distinto grado; en algunos sitios la lesión inflamatoria está delimitada sólo a la encía, mientras que en otros la destrucción periodontal está activa **(Lindhe 1992)**.

Por lo tanto, se puede decir que la mayoría de las formas de enfermedad periodontal están asociadas con la acumulación local de microorganismos específicos en la placa dentobacteriana,

los cuales son responsables de iniciar un proceso inflamatorio gingival. Si esta condición persiste sin tratamiento, la inflamación en individuos susceptibles puede extenderse hacia zonas más profundas del periodonto. Actualmente, no está totalmente esclarecido cuáles son los factores que determinan que en algunos sujetos la lesión sea limitada a la porción gingival, mientras que en otros la lesión progrese hasta destruir el tejido conectivo de inserción y el hueso alveolar subyacente. El mismo cuestionamiento se aplica a la diferencia en la susceptibilidad de diferentes sitios periodontales en un mismo sujeto (**Haffajee et al. 1983, Lindhe et al. 1983, Loe et al. 1986**).

### **Clasificación de las enfermedades periodontales**

Las enfermedades de los tejidos periodontales se han clasificado con el fin de crear un marco en el que se pueda estudiar científicamente la etiología, la patogenia y el tratamiento de las mismas de manera ordenada. Una de las clasificaciones más ampliamente aceptadas fue la de 1989; sin embargo, en 1993 fue modificada debido a que carencia de los detalles necesarios para una caracterización adecuada de la amplia gama de enfermedades periodontales encontradas en la práctica clínica. En 1999, se desarrolló una nueva clasificación de las enfermedades periodontales (**Armitage 1999b**), que continua vigente hasta la fecha. En dicha clasificación, se incluyó una sección sobre enfermedades gingivales y lesiones no contempladas en la clasificación de 1993. De acuerdo con la clasificación vigente de 1999, las enfermedades gingivales pueden ser:

- **Inducidas por la placa dentobacteriana.** En este apartado se incluyen las gingivitis asociadas únicamente a placa dentobacteriana, las asociadas a factores sistémicos, las asociadas a medicamentos y las asociadas a malnutrición.
- **No-inducidas por la placa dentobacteriana.** Dentro de este grupo se incluyen enfermedades gingivales de origen bacteriano no comensal, de origen viral, de origen fúngico, lesiones gingivales de origen genético, manifestaciones gingivales de

condiciones sistémicas, lesiones traumáticas, reacciones a cuerpos extraños y otras no especificadas.

Por otra parte, las enfermedades periodontales se agruparon de la siguiente manera (**Armitage 1999b**):

***Periodontitis crónica*** (localizada o generalizada).

**Periodontitis agresiva** (localizada o generalizada).

**Periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas.**

- Asociada a desórdenes hematológicos.
- Asociada a desórdenes genéticos.
- Otras no especificadas.
- Enfermedades periodontales necrotizantes.
- Abscesos periodontales.
- Periodontitis asociada a lesiones endodóncicas.
- Deformidades y condiciones desarrolladas o adquiridas.

Dado que en la experiencia clínica la periodontitis que comúnmente se observa en adultos también puede presentarse en adolescentes, en este esquema de clasificación se trató de excluir 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” por “periodontitis crónica”, y “periodontitis de inicio temprano” por “periodontitis agresiva”.

La periodontitis crónica 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, ya que la destrucción que comienza en la adolescencia puede pasar desapercibida hasta la adultez.

Finalmente, en 1999 se llegó al acuerdo de que las características clínicas principales de la periodontitis crónica, ya sea localizada o generalizada eran:

- Mayor prevalencia en adultos, pero puede presentarse en niños y adolescentes.
- La destrucción es constante en presencia de factores locales.
- Cálculo subgingival es encontrado frecuentemente.
- Periodos de progresión lentos a moderados, pero pueden presentarse periodos de rápida progresión.
- Puede estar asociada a factores locales de predisposición.

Así mismo, se concluyó que las características de la periodontitis agresiva localizada o agresiva generalizada (**Armitage 1999b**) eran:

- 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 frecuentemente son las siguientes:

- Cantidades de depósitos microbianos inconsistentes con la severidad de la destrucción de tejido periodontal.
- Proporciones elevadas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y en algunas poblaciones también de *Porphyromonas gingivalis*.
- La progresión de la pérdida de inserción y de hueso puede ser auto limitada.

A pesar de que se trató de hacer una clasificación que separara a los dos tipos principales de enfermedad periodontal (periodontitis crónica y agresiva), el traslape de estos dos grupos en la práctica clínica, sigue siendo un problema importante. Esto es debido a que al evaluar a un adulto, es imposible determinar si la destrucción observada es el resultado de un cuadro agresivo o de un cuadro crónico. Es necesario enfatizar que este tipo de clasificación sólo funcionaría si se pudiera evaluar a un individuo en edades tempranas y darle seguimiento minucioso durante un periodo relativamente prolongado de tiempo; sin embargo, en la mayoría de los casos esto no sucede, por ello, no se puede tener la certeza de que la destrucción periodontal que se evalúa en un adulto sea resultado de una destrucción rápida o de lenta progresión, ni tampoco si la misma sucedió en la juventud o en la adultez del individuo.

Tomando en cuenta lo anterior, es evidente que se requieren más elementos objetivos de evaluación de las condiciones periodontales, para poder separar con mayor eficacia y certidumbre a cada cuadro patológico, ya sea crónico o agresivo.

### **Patogenia de las enfermedades periodontales**

Las respuestas inmunológicas que se disparan ante un estímulo se pueden dividir en dos tipos: innatas o no-específicas, que involucran al mecanismo de la inflamación; y adquiridas o específicas, que involucran entre otros, la elaboración de anticuerpos específicos.

En las etapas tempranas del desarrollo de las enfermedades periodontales, los neutrófilos (PMN) son las células más abundantes, debido a que los vasos expresan grandes cantidades de moléculas de adhesión y a que se forma un gradiente quimiotáctico que va del surco gingival hacia el tejido conectivo, lo cual encausa la migración de los PMN hacia el surco gingival.

Se ha visto que, en pacientes con enfermedad periodontal agresiva localizada, los PMN presentan deficiencias en la quimiotaxis o en la fagocitosis (**Van Dyke et al. 1985**). Así mismo, las

enfermedades con base genética, como la neutropenia cíclica y el síndrome de deficiencia de adhesión leucocitaria, cursan con periodontitis como parte de sus manifestaciones clínicas, esto provee la evidencia de que existe una asociación entre las enfermedades periodontales y los defectos genéticos que se manifiestan como deficiencia cuantitativa y cualitativa de los PMN **(Lindhe et al. 1998, Tatakis & Kumar 2005)**.

Los macrófagos también son atraídos por los factores quimiotácticos hacia el sitio de colonización bacteriana, donde desempeñan un papel importante fagocitando los PMN muertos y en vías de descomposición, ya que la liberación de los lisosomas de los PMN de forma incontrolada puede dañar y desencadenar la exacerbación de la respuesta inflamatoria. Otra función de los macrófagos es la capacidad de presentar antígenos **(Lindhe et al. 1998)**. A diferencia de los PMN, aparentemente la cantidad de macrófagos no aumenta en el tejido enfermo comparado con el tejido periodontal sano **(Chapple et al. 1998, Lappin et al. 1999)**. Aunado a esto, es poca la evidencia de la activación de macrófagos dentro de las lesiones periodontales **(Lindhe et al. 1998, Tatakis & Kumar 2005)**.

La cantidad de células natural killer (NK) aumenta significativamente durante la enfermedad periodontal **(Cobb et al. 1989, Wynne et al. 1986)**. Estas células participan en la respuesta inmune innata reconociendo y eliminando los agentes agresores, además secretan citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón gamma (IFN $\gamma$ ). En respuesta, la presencia de estas proteínas, propicia que otras células acudan al sitio donde ocurre la lesión **(Araya et al. 2003)**.

Las moléculas de adhesión son reguladas positivamente por diversas citocinas proinflamatorias. En el epitelio de unión del ligamento periodontal, los productos bacterianos y las citocinas inducen la expresión de diversas moléculas de adhesión como ICAM-1, ayudando a dirigir la migración de los leucocitos hacia este sitio **(Schlegel Gomez et al. 1995)**.

En estudios donde se han cuantificado PMN, se observó que la escasez de estas células tiene un efecto nocivo. Esta situación puede ser resultado de la disminución en la expresión de moléculas de adhesión endoteliales y/o leucocitarias **(Hart & Shapira 1994, Hart 1994)**. Se ha sugerido que las variantes en los receptores Fc pueden ser factores de predisposición para padecer enfermedad periodontal **(Schenkein 2002, Schlegel Gomez et al. 1995)**.

En las fases subsecuentes de la respuesta inmune, las células de Langerhans obtienen material antigénico que transportan hasta los tejidos linfoides donde ocurre la presentación de antígenos. Como resultado de esta interacción celular, se producen linfocitos comprometidos que migran hacia el sitio donde se produjo el estímulo **(Lindhe 1992)**.

Actualmente se cree que los linfocitos T contribuyen a la destrucción periodontal dado que al ser activados, expresan el receptor para osteoprotegerina, proteína que estimula directamente a la osteoclastogénesis **(Kanzaki et al. 2002, Mogi et al. 2004, Taubman & Kawai 2001)**. Las células periodontales normalmente producen osteoprotegerina y su receptor, pero en tejido periodontal enfermo la proporción se altera favoreciendo la expresión del receptor **(Kostenuik & Shalhoub 2001, Wada et al. 2001)**.

Los linfocitos B son el segundo tipo más importante de linfocitos involucrados en el proceso de la respuesta inmune ante la enfermedad periodontal. Dichas células, están programadas para reconocer antígenos específicos y dan origen a células plasmáticas productoras de anticuerpos. La cantidad de linfocitos B aumenta en tejidos con enfermedad periodontal **(Altman et al. 1992, Lavine et al. 1976)** y también aumenta respecto a las linfocitos T **(Lappin et al. 1999)**. La presencia de cantidades mayores de células B en lesiones activas sugiere que la activación de estas células contribuye a la enfermedad periodontal.

Existen grupos específicos de microorganismos que colonizan la placa dentobacteriana subgingival como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* (**Socransky & Haffajee 1990, Socransky & Haffajee 1994**) a los que se les atribuyen cualidades inmunogénicas específicas debido a que poseen enzimas que tienen la capacidad de degradar la matriz extracelular. A pesar de que las bacterias pueden producir una gran cantidad de proteasas, está ampliamente demostrado que la mayor parte de la destrucción periodontal se debe a las metaloproteasas de la matriz (MMPs) que sintetizan los neutrófilos y los fibroblastos estimulados por la infección, y no a las sustancias de origen bacteriano (**Sorsa et al. 1990**).

El proceso de destrucción tisular requiere de un espacio dentro del periodonto; conforme las capas epiteliales se degradan, el epitelio se regenera en una posición más apical, formando una bolsa cada vez más profunda. El infiltrado continúa extendiéndose hasta que se requiere la destrucción del hueso para dar el espacio necesario, en este espacio se forma tejido de granulación en el que se acumulan mediadores de la inflamación que, directa o indirectamente influyen en la degradación del hueso y del tejido conectivo. Cuando esta situación persiste sin tratamiento, el hospedero sigue presentando una respuesta inflamatoria que resulta en mayor destrucción de tejidos, hasta perder por completo la inserción del diente.

La presentación clínica de estas enfermedades es variable; la extensión y la severidad de la enfermedad periodontal son variables entre cada individuo. A pesar de que existen evidencias de que estas diferencias son multifactoriales, es ampliamente reconocido que existen factores genéticos de predisposición a padecer enfermedad periodontal, sin embargo es necesario esclarecer cuáles son los determinantes específicos.

### ***Mediadores de la inflamación***

En lo concerniente a la enfermedad periodontal, se han estudiado la actividad y la cantidad de diversas metaloproteasas como colagenasa, elastasa, tripsinasa, serinproteasa y cisteinproteasa en el fluido cervicalar (**Gonzales *et al.* 2001, Mayrand & Grenier 1985**). Estas proteínas participan en la degradación de la matriz extracelular. La liberación de radicales libres de oxígeno también contribuye a la degradación de la matriz extracelular ya sea directamente, o indirectamente activando enzimas en estado latente o suprimiendo a los inhibidores enzimáticos (**Altman *et al.* 1992, Robertson *et al.* 1973, Waddington *et al.* 2000**).

Estudios de pacientes con periodontitis agresiva localizada muestran que el daño causado a los tejidos periodontales por la respuesta excesiva de los PMN está determinado genéticamente en estos pacientes, en quienes se observó una sobreproducción de moléculas de señalización intracelular y de radicales libres de oxígeno con respecto a los pacientes sanos (**Shapira *et al.* 1991, Tyagi *et al.* 1992**).

Las citocinas son proteínas solubles que intervienen en la comunicación intercelular, tienen un amplio espectro de propiedades inflamatorias, hematopoyéticas, metabólicas e inmunomoduladoras. Actúan regulando a las células endoteliales y a las moléculas de adhesión leucocitarias, eventos imprescindibles para que los leucocitos abandonen los vasos sanguíneos y se infiltren en los tejidos circundantes. Las funciones de las citocinas son el inicio y mantenimiento de las respuestas inmune e inflamatoria. En tejidos clínicamente sanos, se ha observado la presencia en baja cantidad de citocinas proinflamatorias como la interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF), ya que la concentración de citocinas debe ser adecuada para mantener la homeostasis de los tejidos (**Okada & Murakami 1998**). Sin embargo, las citocinas tales como la interleucina 1 (IL-1), IL-6, TNF y la linfotoxina alfa (LTA)

estimulan la resorción ósea e inhiben la formación de hueso tanto *in vivo* como *in vitro*. Los estudios del mecanismos de acción de IL-1 en fibroblastos *in vitro* sugieren que la activación por IL-1 es mediadora de la reparación y la destrucción de la matriz celular **(Galbraith et al. 1997, Gonzales et al. 2001, Honig et al. 1989, Kjeldsen et al. 1995, McFarlane et al. 1990, Page 1991, Stashenko et al. 1991a, Stashenko et al. 1991b, Wilson et al. 1995b)**, además, los fibroblastos tienen la capacidad de amplificar la actividad de las metaloproteasas y de reclutar leucocitos al área afectada. Diversos estudios han reportado niveles elevados de IL-1 $\beta$  **(Masada et al. 1990)**, interleucina 1 alfa (IL-1 $\alpha$ ) **(Masada et al. 1990, Stashenko et al. 1991a)** y TNF **(Galbraith et al. 1998, Kjeldsen et al. 1995)** tanto en el fluido crevicular como en el tejido gingival de sujetos con periodontitis crónica severa. Así mismo, se ha reportado que los PMN orales de estos individuos, producen IL-1 $\beta$  en grandes cantidades y que las bacterias periodontopatógenas intensifican la secreción de IL-6 e interleucina 8 (IL-8) en fibroblastos gingivales, tanto en sitios sanos como en enfermos, sugiriendo que los fibroblastos pueden estar involucrados tanto en el inicio como en la amplificación de la respuesta inflamatoria **(Galbraith et al. 1997)**.

El TNF es una citocina proinflamatoria e inmunomoduladora producida principalmente por monocitos, pero puede ser secretada por una amplia variedad de células como linfocitos, mastocitos, células endoteliales, miocitos, adipocitos, fibroblastos y neuronas. El TNF induce la apoptosis y la inflamación, e inhibe la tumorigénesis y la replicación viral. En la enfermedad periodontal, induce el reclutamiento de los leucocitos circulantes y estimula la secreción de IL-1, IL-6, MMPs y factor activador de plaquetas, amplificando y manteniendo la respuesta inflamatoria, así como reduciendo la capacidad de reparación del periodonto y favoreciendo la destrucción tisular **(Graves et al. 2001)**.

La LTA es una citocina de la superfamilia de TNF que es producida por linfocitos, principalmente linfocitos T citotóxicos. La LTA juega un papel primordial en el control de patógenos intracelulares, y es una proteína altamente inducible que se secreta en grandes cantidades. Sus funciones principales son regular procesos inflamatorios, inmunológicos y antivirales. También está involucrada en la formación de órganos linfoides secundarios durante el desarrollo embrionario y juega un papel importante en la apoptosis **(Roitt & Delves 2001)**. Aunque todavía no se ha esclarecido su función específica en el periodonto, se ha detectado en el fluido crevicular al igual que muchas otras proteínas **(Taba et al. 2005)**.

La IL-6 es una citocina pleiotrópica que puede ser secretada por distintas células, como monocitos y macrófagos, células T, fibroblastos, hepatocitos, células endoteliales y neuronas. Induce la diferenciación de células B a células plasmáticas, la activación de células T, la liberación de proteínas de fase aguda, la activación del complemento **(Van Snick 1990)** y la diferenciación de osteoblastos en el ligamento periodontal **(Iwasaki et al. 2008)**.

Las citocinas quimiotácticas son un grupo de aproximadamente 20 moléculas; entre ellas, la IL-8 ha sido la mejor caracterizada debido a sus funciones quimiotácticas para leucocitos, particularmente neutrófilos. Estas moléculas reclutan células de la inmunidad hacia las áreas donde son requeridas y son importantes en las respuestas celulares, es por ello que comúnmente se les llama quimiocinas (citocinas quimiotácticas) **(Lindhe 1992, Roitt & Delves 2001)**.

La IL-10 es una citocina con propiedades antiinflamatorias potentes, que regula tanto la respuesta inmune humoral como la celular, así como la síntesis de citocinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF. Los estudios recientes muestran que la falta de IL-10 lleva a una mayor pérdida de hueso alveolar **(Al-Rasheed et al. 2003)**. En contraste, los sitios con mayor concentración de IL-10 se

observaron más sanos que los que tenían menor concentración de esta citocina (**Goutoudi et al. 2004**).

La IL-12 puede ser producida por monocitos, macrófagos, neutrófilos y células dendríticas en las etapas tempranas de la respuesta innata, induciendo el desarrollo, la maduración y la supervivencia de células Th1. Se ha visto que la ablación de IL-12 favorece la diferenciación de células Th2 (**Kalinski et al. 1999**). Estudios recientes de células dendríticas humanas y de ratón sugieren que diferentes cantidades de LPS de *P. gingivalis* y *Escherichia coli* pueden polarizar la diferenciación a Th1 o Th2 mediante diferentes proporciones de IL-10/IL-12 (**Pulendran et al. 2001**). La IL-12 proveniente de los macrófagos estimula a las células NK y a los linfocitos T a producir IFN $\gamma$ , lo cual aumenta la secreción de IL-12, generando una retroalimentación positiva (**Smeltz et al. 2002**).

Otros mediadores químicos de la inflamación son las prostaglandinas y los derivados del ácido araquidónico. La liberación de citocinas proinflamatorias induce a los macrófagos y a otros tipos celulares a producir grandes cantidades de prostaglandinas, en especial PGE $_2$ , que es un vasodilatador potente e inductor de las citocinas en diversos tipos celulares, como fibroblastos y osteoclastos, que en conjunto producen las MMPs, favoreciendo el recambio tisular que puede iniciar la destrucción periodontal (**Ammons et al. 1972, Lavine et al. 1976**).

La respuesta humoral es promovida por células Th2, donde principalmente se encuentran IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Los linfocitos Th1 secretan IL-2, IFN $\gamma$ , TNF y LTA, que amplifican la respuesta celular. Se ha propuesto que los perfiles específicos de Th1 vs. Th2 podrían estar asociados a la susceptibilidad a la enfermedad periodontal. Por consiguiente, la diferenciación a Th1 o Th2 podría tener un impacto en el desarrollo o en la progresión de la enfermedad periodontal. Estos estudios son consistentes con estudios anteriores donde se observaron mayores cantidades de células B en

lesiones periodontales establecidas, mientras que las células T, tanto Th1 como Th2 fueron más predominantes en etapas tempranas. Es probable que las citocinas provenientes de células Th1 y Th2 regulen, ya sea por separado o en combinación, la respuesta contra la enfermedad periodontal (**Araya et al. 2003, Page 1991, Teng 2003**). Además, las células Th con memoria podrían transmigrar a través del endotelio hacia los tejidos inflamados promoviendo la destrucción tisular (**Kawai et al. 2000**).

Las citocinas que producen los linfocitos proveen un mecanismo efectivo para controlar la invasión de algunos patógenos. Además pueden influir en la determinación del tipo de inmunoglobulina (Ig) que se produce, teniendo un efecto profundo en el tipo de respuesta inmune. Se ha observado que la IgG2 está presente en mayor cantidad que la IgG1 en pacientes con periodontitis severa (**Wilson et al. 1995b**), así mismo se reportó que la respuesta de Th2 es predominante en pacientes con gingivitis y periodontitis. Sabiendo que la respuesta Th2 es principalmente humoral, estos hallazgos fundamentan que las células que predominan en la periodontitis crónica sean células plasmáticas y que la respuesta inmune humoral sea más evidente (**Yamazaki et al. 1994, Yamazaki et al. 1995**).

Dado que todas las proteínas mencionadas son producto de la expresión génica de cada individuo, es lógico suponer que los defectos o variaciones genéticas que aumentan el riesgo y susceptibilidad a la destrucción periodontal, se encuentren en los genes que codifican para dichas citocinas o en las zonas reguladoras de los mismos.

### ***Factores de riesgo***

En las últimas décadas, se ha generado importante información y se han desarrollado varios conceptos referentes a la etiopatogénesis de las enfermedades periodontales, tales como la descripción de los mecanismos parásito-huésped involucrados en la destrucción periodontal y la

esquematación de la interacción entre los diversos factores de riesgo del hospedero y la placa dentobacteriana. A la fecha, se reconocen factores exógenos y endógenos de riesgo, capaces de acentuar la respuesta inmunológica y la producción de citocinas proinflamatorias. Dichos factores pueden ser predisponentes y determinantes de la extensión, tipo y severidad de enfermedad periodontal, así como de la respuesta individual a la terapia periodontal (**Albandar 2002, Cullinan et al. 2001, Galbraith et al. 1998, Haber 1994, Hart 1996, Hassell & Harris 1995, Kamma et al. 2004, Kornman & di Giovine 1998, Laine et al. 2001, Meisel & Kocher 2003, Meisel et al. 2002, van Winkelhoff et al. 2001**).

Los factores de riesgo son aquellas características que se asocian con el incremento en la incidencia de una enfermedad pero que no son la causa principal de la misma (**Armitage 1999b, Van Dyke & Sheilesh 2005**). A estos factores de riesgo, se les ha denominado “factores modificadores” de la enfermedad periodontal, y se clasifican en dos categorías. En primer lugar se encuentran los factores modificables o exógenos, los cuales incluyen factores ambientales o de comportamiento como el tabaquismo (**Genco 1996, Haber et al. 1993, Meisel & Kocher 2003**), la diabetes mellitus y los factores psicológicos. En segundo lugar, están los factores no modificables o endógenos, los cuales incluyen factores intrínsecos del individuo, por lo que no son alterables y se conocen como factores determinantes. Entre éstos se encuentran la respuesta inmune del hospedero, la osteoporosis y las variaciones (polimorfismos) en los genes que codifican para mediadores de la inflamación (**Kornman & di Giovine 1998, Lang et al. 2000, Meisel et al. 2002**).

### ***Marcadores genéticos***

Los genes están compuestos por nucleótidos y se encuentran organizados en los cromosomas dentro del núcleo celular. Dentro de una población, un mismo gen puede presentar más de una forma, a la que se le denomina polimorfismo genético o gen polimórfico. La presencia de

variaciones genéticas, se considera como un evento frecuente en el genoma humano; y de las variaciones a la fecha descritas, las de tipo SNP (single nucleotide polymorphism, variación (polimorfismo) de un solo nucleótido), parecen ser las más comunes. Las secuencias específicas de nucleótidos en los diferentes genes determinan no sólo la composición de los aminoácidos en la proteína que se producirá, sino que también su patrón de expresión; es decir, determinan el ritmo y frecuencia de producción de las proteínas que en cada gen se codifican. Las diferentes configuraciones de nucleótidos en un gen, dentro de un determinado locus cromosómico se denominan “alelos”.

Para nombrar e identificar a las variaciones genéticas de tipo SNP, en la actualidad se acepta la utilización de una nomenclatura que incluye claves y abreviaciones alfanuméricas dispuestas en el orden que se presenta a continuación:

- Primero, la abreviatura oficial del gen de acuerdo con el HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee. HUGO: Human Genome Organization), seguida por el símbolo “:” y alguna de las siguientes letras minúsculas, cualquiera de las cuales deberá ir seguida por un punto (“.”): “c.”, “g.”, “m.”, “r.” o “p.”. Las letras “c.”, “g.” o “m.” indican que la posición del nucleótido variante que se describe, en base ya sea a la secuencia codificante del gen, a la secuencia genómica o a una secuencia de DNA mitocondrial, respectivamente. Las letras “r.” y “p.” pueden también utilizarse cuando la localización de la variación, se describe en el ARN o en la proteína, respectivamente; sin embargo, se aconseja utilizar preferente localizaciones basadas en secuencias de referencia, ya sean de DNA genómico, codificante o mitocondrial.

- Después, los números que denotan la posición específica del nucleótido variante en el gen. La posición, en todos los casos deberá basarse en la secuencia de referencia del gen (RefSeq), depositada en las bases de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Cuando la posición del nucleótido se basa en la secuencia de DNA codificante, no existe el nucleótido 0. El nucleótido 1 (sin signo) se considera como la A (adenina) del codón de inicio (ATG) y la numeración asciende con cada nucleótido subsecuente hacia 3' hasta el tercer nucleótido del codón de terminación (UGA, UAG o UAA). La posición -1 se define como el primer nucleótido que se encuentra hacia 5' de la A del codón de inicio, y el nucleótido \*1 se considera como el primer nucleótido que se encuentre hacia 3' del tercer nucleótido del codón de terminación. Cuando la posición se base en una secuencia de DNA genómico, la numeración comienza con el número 1 en el primer nucleótido descrito en la base de datos de la secuencia de referencia, y no se utilizan los signos "+", "-", ni "\*". Cuando la variación ocurre en un intrón, y se describe en base a una secuencia de DNA codificante, se deben respetar las siguientes reglas para indicar la posición:

- **Variaciones localizadas en la porción inicial del intrón**- se utiliza el número del último nucleótido del exón que antecede, seguido por el símbolo "+" y el número que corresponde a la posición del nucleótido variante hacia 3' del intrón.
- **Variaciones localizadas en la porción final del intrón**- se utiliza el número del primer nucleótido del exón siguiente, seguido por el símbolo "-" y el número que corresponde a la posición del nucleótido variante hacia 5' del intrón.

- **Variaciones localizadas en la porción central del intrón**- en intrones con un número impar de nucleótidos, la numeración cambia de “+” a “-“, en el nucleótido central, considerado como el último nucleótido con el signo “+”.
- Por último, se utiliza alguna de las letras A (adenina), T (timina), G (guanina) o C (citocina), la cual indica el nucleótido que se presenta en el alelo ancestral (no-variante). Esta primera letra es seguida por el símbolo de “>” que denota una sustitución del nucleótido anteriormente especificado por el nucleótido presente en el alelo variante. Cuando se describe específicamente un alelo o genotipo determinado, se utilizan los símbolos “[ ]” y se omite el símbolo “>”.

Por ejemplo, TNF:c.-488G>A, describe una variación de tipo SNP en el gen TNF, que se localiza en el nucleótido -488 de la secuencia codificante del gen, y que consiste de una sustitución de guanina a adenina. Así mismo, TNF:c.[-488AA] describe el genotipo homocigoto en el que se presentan 2 alelos A en un individuo, y TNF:c.[-488G] se refiere al alelo G, ambos ejemplos para la misma variación anteriormente descrita.

En el genoma humano, existen 2 alelos para cada gen (genotipo), uno de los cuales es heredado de la madre y el otro del padre. Si aplicamos el ejemplo anterior, las posibilidades en un individuo determinado para la presentación de una variación de tipo SNP sólo pueden ser TNF:c.[-488GG], TNF:c.[-488GA] o TNF:c.[-488AA] dependiendo de la combinación de los alelos que aporten cada uno de los padres.

En sí, el genotipo de un organismo incluye todas las instrucciones que heredó de sus padres, las cuales se cargan en el código genético. Los organismos de una misma especie pueden presentar distintos genotipos para genes específicos (organismos iguales genotipos diferentes). Es por esto,

que los organismos fenotípicamente iguales se comportan de diferente manera. En contraste, los fenotipos son todas las características observables en un organismo, tales como la morfología, el desarrollo o el comportamiento, y las propiedades químicas o biológicas de las proteínas. Por ejemplo, el gen dimórfico para color de ojos café-azul. Ambos fenotipos son el resultado de la expresión de los diferentes alelos de un mismo gen **(Griffiths & Wessler 2000)**.

Aunque algunas variaciones de nucleótidos tienen consecuencias en la función o estructura de una proteína, no todas las variaciones pueden ser interpretadas como cambios funcionales. En realidad, la relación entre la secuencia de las bases y el fenotipo, en la mayoría de estas variaciones, es poco clara. Se ha calculado que el 1% de los 20,000 a 25,000 genes que codifican para proteínas en el genoma humano, comprende genes polimórficos, sin embargo, muy pocas variaciones se traducen en alteraciones potencialmente importantes en la secuencia de aminoácidos **(Terwilliger & Goring 2000)**.

El principio de Hardy-Weinberg (H-W), también conocido como equilibrio o ley de H-W, es un modelo matemático que describe la distribución esperada de frecuencias genotípicas en base a las frecuencias alélicas observadas. El modelo se reconoce como una expresión de la noción de una población que se encuentra en equilibrio genético y se considera como un principio básico de la genética de poblaciones. Este principio establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras que no actúe la selección natural, que el apareamiento sea al azar y que no se presenten factores ambientales capaces de producir mutaciones. En cuanto a la genética de poblaciones, la ley de Hardy-Weinberg afirma que, bajo ciertas condiciones, tras una generación de apareamiento al azar, las frecuencias de los genotipos de un locus individual se fijarán en un valor de equilibrio particular, y especifica que dichas frecuencias de equilibrio se pueden representar como una función sencilla de las frecuencias alélicas en ese locus **(Figura 1)**.

Bajo este principio se han desarrollado métodos aplicables para determinar la significancia de las diferencias entre los genotipos observados y los esperados en poblaciones relativamente pequeñas. El método más común es el de la chi cuadrada ( $\chi^2$ H-W) (**Brooker 2005, Griffiths & Wessler 2000, Yu et al. 2008**). El objetivo en los estudios de caso-control es explorar la relación entre la enfermedad y la presencia de alelos o genotipos específicos en un locus determinado. En los casos en que las frecuencias genotípicas no se ajustan al principio de Hardy-Weinberg, se considera que la distribución de genotipos no se encuentra en equilibrio en la población en cuestión, lo cual es un indicador de que algún factor externo, tal como la enfermedad en cuestión, podría ser responsable del desequilibrio (**Yu et al. 2008**).

Es importante entender que en el estudio de los desordenes genéticos, existen patrones de herencia recesivos y patrones dominantes. Los patrones autosómicos recesivos son aquellos en los que el fenotipo afectado está determinado por un alelo recesivo (a) y el fenotipo no afectado está determinado por un alelo dominante (A). Por lo tanto, los portadores de la enfermedad portarán el genotipo a/a y las personas que no poseen la enfermedad tendrán los genotipos A/A o A/a. La presencia de un sujeto afectado usualmente depende de la unión de heterocigotos (**Griffiths & Wessler 2000**).

En los patrones autosómicos dominantes, el alelo normal es recesivo y el anormal es dominante. Hay que tener en cuenta que la dominancia o la recesividad son solamente propiedades de cómo actúan los alelos y no están definidos en términos de qué tan comunes son en la población. En este tipo de patrones, los individuos normales son a/a y los afectados serán A/A. Sin embargo, en la mayoría de las afecciones se cree que dos “dosis” del alelo dominante (A) produce un genotipo con un efecto tan severo que es letal. De tal forma que los sujetos afectados sólo pueden ser heterocigotos (**Griffiths & Wessler 2000**).

Los patrones antes descritos funcionan para explicar la herencia y el comportamiento de enfermedades causadas por un solo gen. Los desórdenes poligénicos o multifactoriales son aquellos que resultan de la acción combinada de los alelos de más de un solo gen. Aunque este tipo de padecimientos son hereditarios, dependen de la presencia simultánea de alelos específicos en múltiples genes, además estos patrones usualmente son más complejos que los que están involucrados con un solo gen. Cuando la susceptibilidad a padecer una enfermedad está basada en la herencia de un gen específico, se refiere a herencia mendeliana (autosómica), dicha enfermedad se presenta en la infancia o se presenta independientemente de los factores ambientales. En contraste, las enfermedades complejas y multifactoriales, como la periodontitis o la enfermedad cardiovascular, se consideran como el resultado de la acción de una gama de genes con alteraciones sutiles en combinación con la forma en la que interactúan durante periodos prolongados con los factores ambientales **(Greenstein & Hart 2002)**.

Similar a diversas enfermedades inflamatorias, infecciosas y autoinmunes como artritis reumatoide **(Buchs et al. 2001, Jouvenne et al. 1999)**, colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn **(Bioque et al. 1996, Bioque et al. 1995, Hacker et al. 1998, Heresbach et al. 1997, Nemetz et al. 1999, Stokkers et al. 1998)**, psoriasis **(Cork et al. 1993)**, enfermedad de Graves **(Blakemore et al. 1995)** y lupus eritematoso **(Blakemore et al. 1994)**, se ha propuesto a las variaciones en el grupo de genes de la IL-1 como marcadores genéticos de la enfermedad periodontal; sin embargo, la información obtenida hasta la fecha no es suficiente para establecer cuáles son los genes que están directamente involucrados en la presentación clínica de las enfermedades periodontales **(Taba et al. 2005, Wilson et al. 1995a)**.

## Diagnóstico genético de las enfermedades periodontales

Comercialmente existe una sola prueba genética patentada, llamada PST™ (Periodontal Susceptibility Test, Interleukin Genetics Inc.), promocionada como auxiliar en el diagnóstico de las enfermedades periodontales. Dicha prueba se basa en la detección de alelos combinados de las variaciones genéticas IL1A:c.-941C>T (rs1800587) e IL1B:c.315C>T (rs1143634) (**Kornman et al. 1997**). Los diseñadores de dicha prueba sugieren que los individuos no-fumadores portadores tanto del alelo IL1A:c.[-941T] como del alelo IL1B:c.[315T], a los que se les refiere como portadores del “genotipo-compuesto de susceptibilidad a la enfermedad periodontal”, tienen más de 6 veces el riesgo de padecer formas severas de enfermedad periodontal y de rechazar implantes dentales, que los no-portadores (**Kornman & Duff 1997**). En términos generales, la prueba PST™ es considerada como un marcador genético predictivo del riesgo a padecer formas severas de periodontitis, así como de la respuesta de individuos al tratamiento periodontal. Sin embargo, la validación de dicha prueba fue realizada en una población caucásica del norte de Europa, y a la fecha, existen evidencias científicas crecientes de que la utilidad de dicha prueba es limitada o nula para diversas poblaciones y grupos étnicos en el mundo (**Armitage et al. 2000a, Arregui et al. 2000, Caffesse et al. 2002, Perez-Soria et al. 2006, Walker et al. 2000**).

En el Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Odontología de la UNAM, se realizó un estudio en el que fueron evaluados genéticamente un total de 118 sujetos mexicanos; 66 con periodontitis crónica generalizada (PCG), 22 con periodontitis agresiva generalizada (PAG) y 30 con salud periodontal (SP), para determinar la frecuencia de portadores del llamado “genotipo-compuesto de susceptibilidad a la enfermedad periodontal”, así como su asociación con diferentes estados de salud periodontal (**Perez-Soria et al. 2006**). En breve, se detectaron portadores tanto homocigóticos como heterocigóticos de los dos alelos de ambas variaciones genéticas en los 3

grupos de estudios. El 75.8%, 86.4% y 66.7% (variación IL1B:c.315C>T) y el 50%, 86.4% y 73.3% (variación IL1A:c.-941C>T) de los sujetos con PCG, PAG y SP, respectivamente, fueron portadores homocigóticos de los alelos IL1B:c.[315C] y IL1A:c.[-941C]. La frecuencia de portadores del “genotipo-compuesto de susceptibilidad a la enfermedad periodontal” fue de 18.2%, 9.1% y 20% para PCG, PAG y SP, respectivamente. Las asociaciones entre dicho genotipo y los diferentes grupos de estudio no fueron estadísticamente significativas, y el marcador careció de habilidad para separar a los grupos con enfermedad periodontal entre sí o del grupo control (SP). Por lo tanto, se concluyó que la presencia de los alelos IL1A:c.[-941T] e IL1B:c.[315T], no pudo ser considerada como un marcador genético predictivo útil de la susceptibilidad a la periodontitis en la población mexicana.

Similarmente, en otro estudio se reportó que únicamente el 8% de una población de sujetos afroamericanos con periodontitis severa eran portadores del “genotipo-compuesto de susceptibilidad a la enfermedad periodontal”, y que en dicha población no existía una asociación con la enfermedad periodontal (**Walker et al. 2000**). Hallazgos similares fueron reportados en otro estudio en el que se estudió una población de 300 sujetos chinos y se encontró que únicamente el 2.3% de los individuos con periodontitis severa eran portadores del genotipo mencionado (**Armitage et al. 2000a**). En dicho estudio, tampoco se encontraron asociaciones con la enfermedad periodontal severa. Dos estudios realizados en poblaciones “hispanicas” reportaron que el porcentaje de sujetos con periodontitis severa portadores del “genotipo-PST” fue del 23% y 43% (**Arregui et al. 2000, Caffesse et al. 2002**). Mientras que uno de los estudios no reportó asociación significativa con la enfermedad periodontal severa, el otro determinó que existía una asociación en individuos no-fumadores. Las diferencias en los resultados de estos dos estudios

pueden deberse, por lo menos en parte, a la ambigua definición de las poblaciones de estudio como “hispánicas”.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

Recientemente, se han llevado a cabo estudios en los que se fundamenta que existe una predisposición a padecer diversas enfermedades de origen inflamatorio en individuos portadores de ciertos alelos o genotipos variantes de los genes que regulan el proceso.

Algunos estudios sugieren que más de la mitad de las diferencias en la presentación clínica de la enfermedad periodontal que se observan entre individuos, se deben a factores genéticos del hospedero. Dichos factores determinan el riesgo y la susceptibilidad a padecer periodontitis **(Michalowicz 1993, Michalowicz 1994)**. Por lo tanto, la identificación de las variaciones genéticas 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 valorar el riesgo y la susceptibilidad de cada paciente a presentar determinadas enfermedades no es nuevo.

Se ha demostrado que la prueba genética de susceptibilidad existente PST™ no es aplicable a la población mexicana. Los eventos de destrucción de los tejidos periodontales son procesos complejos, en los que se requiere la participación de muchos elementos genéticos. Las citocinas IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF y LTA juegan un papel muy importante en dichos procesos. Por este motivo, es necesario establecer en esta población, perfiles más amplios para determinar si las variaciones en los elementos que regulan la enfermedad periodontal influyen en (1) la presencia o

ausencia de la enfermedad y, (2) la forma en la que se presenta la enfermedad (agresiva o crónica).

## **OBJETIVOS**

Describir la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas de las variaciones genéticas de tipo SNP IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A, LTA:c.131+90A>G en sujetos mexicanos sistémicamente sanos con periodontitis crónica generalizada, periodontitis agresiva generalizada y salud periodontal.

Diseñar, desarrollar y aplicar un modelo estadístico-matemático que permita identificar haplotipos aditivos complejos de variaciones de tipo SNP, y analizar la habilidad de los haplotipos identificados tanto para marcar específicamente a los grupos PCG y PAG, como para separar a dichos grupos entre sí y del grupo control (SP).

Determinar las asociaciones entre los dos grupos experimentales (PCG y PAG) y la presencia tanto de alelos y genotipos individuales, como de haplotipos complejos, así como evaluar la capacidad diagnóstica de los mismos como marcadores específicos de susceptibilidad y riesgo a los dos tipos de enfermedad periodontal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

En este estudio de tipo transversal se evaluó el ADN proveniente de un total de 127 sujetos de estudio. Los sujetos fueron examinados en una sola visita en la que se realizó una evaluación de su estado de salud general y periodontal, se registraron los datos clínicos y se recolectó la muestra. El ADN se analizó para determinar la presencia de alelos y genotipos específicos de las variaciones genéticas IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A, LTA:c.131+90A>G.

### POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio consistió de un total de 127 sujetos sistémicamente sanos sin relación familiar sanguínea (periodontitis crónica generalizada, PCG  $n= 58$ ; periodontitis agresiva generalizada, PAG  $n= 27$ ; salud periodontal, SP  $n= 42$ ). En la **Tabla 1** se describen las características clínicas de la población de estudio. Cabe señalar que además de los tres grupos de estudio mencionados, se creó un grupo adicional (enfermedad periodontal, EP) en el cual se incluyeron a todos los sujetos que forman parte de los grupos PCG y PAG (EP  $n=85$ ), con el objetivo de explorar la posibilidad de que algunas de las variaciones evaluadas pudieran estar asociadas a la enfermedad periodontal independientemente de su tipo. Los sujetos de estudio se reclutaron 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 Universidad Nacional Autónoma de México. Cada sujeto recibió información sobre los objetivos del estudio, además se les entregó una 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. Cada sujeto de

estudio leyó y firmó la carta de consentimiento, con lo que estableció su deseo voluntario de participar (**Anexo 1**).

### **Criterios de selección**

Todos los sujetos incluidos en el estudio presentaron por lo menos 20 dientes naturales y fueron mexicanos por nacimiento con ambos padres y por lo menos 2 abuelos nacidos en México no pertenecientes a alguna denominación indígena mexicana. Se excluyeron del estudio todos los sujetos que presentaron alguna condición sistémica que pudiera influir sobre el curso o severidad de la enfermedad periodontal, como diabetes, VIH/SIDA, hemofilia, enfermedades autoinmunes, etc. Así mismo, se excluyeron a las mujeres que se encontraban embarazadas o en lactancia.

Los sujetos incluidos en los grupos de periodontitis crónica generalizada (PCG) y periodontitis agresiva generalizada (PAG) presentaron por lo menos 9 sitios con nivel de inserción  $\geq 5$  mm. Todos los sujetos incluidos en el grupo de salud periodontal (SP) presentaron menos de 4 sitios con nivel de inserción de 3 a 4 mm y ningún sitio con nivel de inserción  $\geq 5$  mm. Los sujetos incluidos en el grupo PCG tuvieron una edad  $\geq 35$  años, aquellos incluidos en el grupo PAG tuvieron edades de 12 a 29 años y los individuos del grupo SP tuvieron una edad  $\geq 18$  años.

### **EVALUACIÓN CLÍNICA**

Cada sujeto de estudio recibió una evaluación periodontal completa realizada por clínicos calibrados para este propósito. Todas las mediciones clínicas se registraron de un total de 6 sitios (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) de cada diente, excluyendo los terceros molares (máximo 168 sitios por sujeto dependiendo del número de dientes faltantes) de acuerdo con los procedimientos previamente descritos (**Haffajee et al. 1983**).

Se evaluaron y se registraron los siguientes parámetros clínicos:

- Acumulación de placa (0/1, ausente/presente)
- Enrojecimiento gingival (0/1)
- Profundidad de bolsa (mm)
- Nivel de inserción (mm)
- Sangrado al sondeo (0/1)
- Supuración al sondeo (0/1)

La profundidad de bolsa y el nivel de inserción se tomaron 2 veces al mm más cercano utilizando una sonda periodontal “Carolina del Norte” (UNC) de 15 mm de longitud (Hu-Friedy). El promedio de las dos mediciones se utilizó para el análisis de los datos. Los parámetros clínicos 1, 2, 5 y 6 se evaluaron una sola ocasión con mediciones dicotómicas de presencia (1) o ausencia (0).

## **EVALUACIÓN GENÉTICA**

Se evaluó la presencia de las variaciones que se describen en las **Tablas 2a y 2b** mediante las técnicas que se describen en las **Tablas 3a y 3b**.

### **Recolección y procesamiento de muestras**

Se obtuvieron muestras de dos tipos para extraer el ADN de los sujetos de estudio:

#### ***Muestras de sangre***

Se recolectaron 3ml de sangre periférica total en un tubo vacutainer de 6 ml, que contenía 0.4 ml de solución de citrato ácido de dextrosa (ACD). De estas muestras se utilizaron 200 µl para la obtención de ADN genómico, y el resto se alicuotó en crioviales y se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Las alícuotas fueron procesadas inmediatamente para la extracción y purificación de ADN genómico. Esto se realizó utilizando el QIAamp™ DNA Blood Mini Kit (Qiagen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La cantidad y calidad del ADN obtenido se midió a partir de 2 µl de cada muestra

utilizando el espectrofotómetro ND-1000 (NanoDrop). El resto de la muestra de ADN purificado fue alicuotada y almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento para la identificación de variaciones genéticas.

### ***Muestras de células epiteliales de mejilla***

En algunos casos, se tomó una muestra de células epiteliales de la mucosa bucal, la cual fue recolectada utilizando hisopos estériles (Whatman) y colocada en una tarjeta MiniCard FTA (Whatman) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se permitió que la muestra secase sobre la tarjeta a temperatura ambiente durante 1 hora. Un disco de 2 mm de diámetro fue tomado de la muestra para la detección de cada uno de las 8 variaciones genéticas evaluadas, utilizando un Uni-Core punch estéril (Whatman). Cada disco fue colocado individualmente en un tubo para PCR de 0.2 ml y procesado para la extracción y purificación de DNA genómico siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **DetECCIÓN DE VARIACIONES GENÉTICAS**

Los alelos y genotipos de cada variación se determinaron mediante 8 reacciones individuales de PCR para cada sujeto de estudio utilizando las metodologías que se describen en las **Tablas 3a y 3b**. Cada reacción de PCR se realizó en un volumen final de 50  $\mu\text{l}$  utilizando  $\approx 150$  ng de ADN genómico purificado, 2.5 unidades de *Taq* ADN polimerasa (Biogénica), 0.2 mM de mezcla de dNTPs (Biogénica), 1 x *Taq* ADN polimerasa buffer (10 mM Tris-HCl (pH 9.0 a  $25^{\circ}\text{C}$ ), 50 mM KCl (Biogénica), 1.5 mM  $\text{MgCl}_2$  (Biogénica), 0.01% gelatina y 1  $\mu\text{M}$  de cada uno de los primers (Invitrogen). En el caso de las variaciones que fueron evaluadas mediante la técnica de ARMS-PCR (amplification refractory mutation system-PCR) se utilizó 0.1  $\mu\text{M}$  de los primers externos (FO y RO) y 1  $\mu\text{M}$  de los primers internos (FI y RI). Los primers para la variación TNF:c.-488G>A se diseñaron *in silico* en base a la secuencia de referencia del gen depositada en la base de datos del NCBI;

mientras que para la detección de las variaciones IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C y LTA:c.131+90A>G, se utilizaron secuencias de primers descritas en estudios previos (**Fassmann *et al.* 2003, Heinzmann *et al.* 2004, Huang *et al.* 2000, Lazarus *et al.* 1997, Pandey & Takeuchi 1999, Scarel-Caminaga *et al.* 2004, Ye *et al.* 2001**). Todos los primers fueron alineados *in silico* para comprobar su especificidad, así como la localización y tamaño del fragmento resultante. Así mismo, para cada corrida de PCR, se incluyeron controles positivos utilizando ADN de sujetos previamente caracterizados mediante secuenciación como portadores de cada uno de los 3 posibles genotipos de cada variación, y un control negativo sin ADN.

El análisis de los fragmentos se llevó a cabo con 10 µl de los productos de PCR o digestión, dependiendo del caso. Se utilizaron geles de TBE en gradiente del 4 al 20% (Invitrogen) y se corrieron a 200V (10V por cm entre electrodos) como indica el fabricante, en cámaras de electroforesis XCell SureLock™ (NOVEX, Invitrogen). Los geles se tiñeron durante 40 minutos con SYBR Green I (Invitrogen) para visualizar las bandas bajo luz UV (BioRad, UV Transilluminator 2000). Se obtuvieron imágenes digitales de todos los geles utilizando el sistema de documentación DigiDoc (BioRad). El análisis del peso molecular de cada banda se realizó mediante la comparación con estándares de pesos moleculares conocidos (Invitrogen) utilizando el programa Quantity One (BioRad).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS**

Los datos generados en el presente estudio sometidos a análisis estadísticos fueron las frecuencias de portadores de cada alelo y genotipo de las 8 variaciones genéticas IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A y LTA:c.131+90A>G en sujetos mexicanos distribuidos de acuerdo con su estado de salud

periodontal en 4 grupos (PCG: periodontitis crónica generalizada, PAG: periodontitis agresiva generalizada, EP: grupo que incluye a todos los sujetos con enfermedad periodontal tanto PCG como PAG, y SP: salud periodontal). Adoptando un enfoque propositivo, novedoso y multidisciplinario de exploración de la información genética, los resultados fueron analizados mediante la utilización de un modelo matemático-estadístico, diseñado expresamente para este proyecto, el cual permitió identificar las combinaciones (haplotipos) de alelos y genotipos individuales de diferentes variaciones que pudieran asociarse y separar a los grupos de estudio. Esto con el propósito de no limitar la exploración y análisis de datos únicamente a las posibles asociaciones de alelos y genotipos individuales, como se realiza más tradicionalmente en estudios similares de variaciones genéticas relacionadas con padecimientos específicos. La **figura 2** muestra un diagrama de flujo que sintetiza la secuencia de pasos que se siguieron para el análisis de datos, mismos que constituyen el modelo de análisis propuesto.

### **Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales**

Las frecuencias alélicas y genotípicas de las 8 variaciones evaluadas fueron determinadas para cada uno de los 4 grupos de estudio (PCG, PAG, EP y SP) mediante conteos directos. La proporción (%) de portadores de cada alelo y genotipo fue calculada dividiendo la frecuencia ( $i$ ) entre el número de sujetos ( $n$ ) incluidos en cada grupo ( $i/n$ ). Todas las variaciones genéticas analizadas fueron del tipo SNP, por lo que tuvieron la posibilidad de presentar únicamente dos alelos (ejemplo: A y a); de ahí que, la posibilidad de genotipos en todos los casos fue de 3 para cada variación (A/A: homocigoto para el alelo A, A/a: heterocigoto y a/a: homocigoto para el alelo a). Dado lo anterior, el total de alelos y genotipos individuales reportados fue de 40 (3 genotipos x 8 variaciones=24 +2 alelos x 8 variaciones=16. 24 genotipos + 16 alelos=40). El reporte de la distribución de frecuencias incluye el número y porcentaje de portadores de cada uno de los 40

alelos y genotipos individuales para los sujetos de cada grupo de estudio, así como el resultado de los cálculos de heterocigocidad (frecuencia de heterocigotos/ $n$ ) y chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  H-W) para cada una de las variaciones genéticas. Bajo el principio de H-W (**Figura 1**), cuando una población se encuentra en equilibrio genético, las frecuencias genotípicas observadas serán  $p^2+2pq+q^2$ , considerando un locus con dos alelos A y a, y con frecuencias alélicas de  $p$  y  $q$ , respectivamente; donde  $p^2$ = frecuencia AA,  $2pq$ = frecuencia Aa y  $q^2$ = frecuencia aa. Con el objeto de saber si la distribución de genotipos para cada variación en cada grupo de estudio se encontraba dentro del equilibrio de H-W, se calcularon las frecuencias esperadas de cada genotipo mediante las siguientes fórmulas:  $\sqrt{p^2} \times n =$ ,  $\sqrt{2pq} \times n =$  y  $\sqrt{q^2} \times n =$ , respectivamente. Posteriormente, se empleó la prueba  $\chi^2$  H-W para determinar si las diferencias entre los genotipos observados y los esperados bajo el equilibrio de H-W en cada grupo eran significativas. En breve, se formuló una hipótesis conservadora llamada hipótesis nula ( $H_0$ ) de que no existía diferencia significativa entre los valores observados y los esperados; es decir, que la distribución de genotipos en el grupo de estudio se encontraba dentro del equilibrio de H-W. Por otro lado, se formuló una hipótesis alterna ( $H_A$ ) de que la diferencia sí era significativa, por lo que la distribución de genotipos en el grupo de estudio no se encontraba dentro del equilibrio de H-W. Considerando las hipótesis anteriores, la prueba  $\chi^2$  H-W permitió determinar la probabilidad de que las diferencias fueran o no debidas al azar. La ecuación que se utilizó fue la siguiente:  $\chi^2 = \frac{\sum(\text{frecuencia genotípica observada} - \text{esperada})^2}{\text{esperada}}$ . Se estableció un valor de  $p < 0.05$  y se calcularon los grados de libertad (GL) de acuerdo con la siguiente fórmula:  $GL = k - 1$ ; donde  $k$  representó el número de genotipos (para todas las variaciones evaluadas este valor fue =3) y  $m$  representó el número de valores independientes en las frecuencias alélicas (para todas las variaciones evaluadas este valor fue =1). Por lo tanto, dado que los GL para todas las variaciones reportadas en el estudio

fueron =1, el valor crítico en la prueba  $\chi^2$  H-W en cualquiera de los grupos de estudio y para cualquiera de las 8 variaciones genéticas debió ser  $<3.841$ . En cualquiera de los casos, cuando se presentó un valor crítico mayor, se consideró que la distribución de genotipos no estaba dentro del equilibrio de H-W.

### **Comparación de alelos y genotipos individuales**

Se calcularon las diferencias en % de portadores de cada alelo y genotipo individual entre el grupo experimental y el control ( $D_{\max}$ ) para pares de los cuatro grupos de estudio (PCG vs. SP, PAG vs. SP, PAG vs. PCG y EP vs. SP), considerando en todos los casos al primer grupo de estudio citado como grupo experimental y al segundo como grupo control en cada comparación. Las frecuencias de portadores de cada genotipo y alelo individual ( $n=40$ ) fueron evaluadas y comparadas estadísticamente entre los grupos de cada comparación. La significancia de las diferencias en la frecuencia de portadores de cada alelo y genotipo individual entre los grupos de estudio fue calculada utilizando la prueba  $U$  de Mann-Whitney (M-W). Así mismo, se evaluó la habilidad de cada alelo y genotipo individual para marcar a los grupos experimentales en cada una de las 4 comparaciones, mediante el cálculo de la sensibilidad (SNS), especificidad (ESP), exactitud (EXC), índice de falsos positivos (IFP), índice de falsos negativos (IFN), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). La SNS se consideró como la proporción de portadores del alelo o genotipo en cuestión en el grupo experimental (% de verdaderos positivos, ( $i=1$  exp)) y fue calculada como:  $\frac{(i=1 \text{ exp})}{n=\text{exp}}$ . La ESP representó la proporción de no-portadores en el grupo control (% de verdaderos negativos, ( $i=0$  con)) y fue calculada como:  $\frac{(i=0 \text{ con})}{n=\text{con}}$ . La exactitud se tomó como una medida del grado de certeza o veracidad y se consideró como la proporción del % de verdaderos positivos y de verdaderos negativos. La EXC fue calculada como:  $\frac{(i=1 \text{ exp})+(i=0 \text{ con})}{n=\text{exp} + n=\text{con}}$ . Los IFP e IFN, se definieron como la proporción de no-portadores del alelo o genotipo en cuestión en el grupo

experimental (% de falsos positivos,  $(i=0 \text{ exp})$ ) y proporción de portadores en el grupo control (falsos negativos,  $(i=1 \text{ con})$ ). Los índices anteriores fueron calculados como:  $\frac{(i=1 \text{ con})}{n=\text{con}}$  y  $\frac{(i=0 \text{ exp})}{n=\text{exp}}$ , respectivamente. Por último, los VPP y VPN fueron considerados como la proporción de portadores del alelo o genotipo en cuestión, que padecían la condición periodontal que se deseaba marcar (la del grupo experimental) considerando al total de sujetos en los dos grupos de la comparación, y como la proporción de portadores del alelo o genotipo en cuestión, que no padecían el tipo de enfermedad periodontal que se deseaba marcar, considerando al total de sujetos en los dos grupos de la comparación, respectivamente. Los VPP y VPN fueron calculados como:  $\frac{(i=1 \text{ exp})}{(i=1 \text{ exp} + i=1 \text{ con})}$  y  $\frac{(i=0 \text{ con})}{(i=0 \text{ exp} + i=0 \text{ con})}$ , respectivamente.

Adicionalmente, se buscaron asociaciones de alelos y genotipos individuales con cada grupo de estudio utilizando la prueba exacta de Fisher (F) y, se estimaron los índices y probabilidades de riesgo mediante los cálculos del riesgo relativo (RR) y la razón de momios (RM), respectivamente. El RR se consideró como la proporción (razón) del % de portadores de un alelo o genotipo determinado en el grupo experimental (% de verdaderos positivos) y el % de portadores en el grupo control (% de falsos positivos). El RR fue calculado mediante la siguiente ecuación:  $\frac{\frac{(i=1 \text{ exp})}{(n=\text{exp})}}{\frac{(i=1 \text{ con})}{(n=\text{con})}}$ .

La RM se consideró como la proporción (razón) de la probabilidad de portadores de un alelo o genotipo específico en el grupo experimental (probabilidad de verdaderos positivos) y de la probabilidad de portadores en el grupo control (probabilidad de falsos positivos), la cual fue calculada como sigue:  $\frac{\frac{(i=1 \text{ exp})}{(n=\text{exp}) - (i=1 \text{ exp})}}{\frac{(i=1 \text{ con})}{(n=\text{con}) - (i=1 \text{ con})}}$ . La significancia de la probabilidad de riesgo (RM) fue

determinada mediante la prueba de Mantel-Haenszel (M-H) para la razón de momios común, utilizando intervalos de confianza al 95% (IC95%).

## **Selección de alelos y genotipos individuales**

En base a los análisis estadísticos de alelos y genotipos individuales, que se describieron en los párrafos que anteceden, se realizó una selección de aquellos genotipos y/o alelos que presentaron  $RM > 1.5$ ,  $EXC > 0.5$  e  $IFN < 0.5$  en una o más de las cuatro comparaciones entre grupos. La selección de los genotipos y alelos individuales se realizó con el objetivo de descartar aquellos que no mostraron relevancia como marcadores de grupos de estudio específicos, ni en cuanto a su papel en la susceptibilidad o riesgo a las enfermedades periodontales estudiadas. Esto con la finalidad de elevar la eficiencia de los análisis que se llevaron a cabo en las siguientes fases del modelo. Gracias a esta primera etapa de discriminación, se logró considerar a todas las combinaciones posibles de alelos y genotipos individuales seleccionados. Lo anterior, no hubiera sido posible de haber considerado las 40 variables individuales, debido a la gran cantidad de tiempo que se hubiera dedicado a la evaluación de combinaciones mayormente irrelevantes. Desde una óptica analítica matemática, la cantidad de combinaciones que pueden llegar a producirse considerando los diferentes alelos y genotipos de las 8 variaciones genéticas evaluadas, rebasa 1,000,000 de posibilidades. Evidentemente, no todas las posibilidades existen en la realidad; sin embargo, el conjunto de combinaciones presentes, considerando variantes con dos, tres, cuatro, cinco y más alelos, genotipos y, combinación de alelos y genotipos, continúa siendo un número demasiado elevado de opciones para que los análisis sean factibles.

## **Generación de variables con alelos y genotipos combinados (haplotipos)**

Considerando los alelos y genotipos individuales seleccionados, se generaron variables dicotómicas que identificaron a los portadores de todas las posibles combinaciones de 2, 3, 4 y más genotipos y/o alelos individuales seleccionados. Las variables generadas fueron de tres tipos: *alélicas*: combinaciones que incluyeron en su composición únicamente a los alelos seleccionados,

*genotípicas*: combinaciones que incluyeron en su composición únicamente a los genotipos seleccionados y, *alélicas/genotípicas*: combinaciones que incluyeron en su composición tanto a los alelos como los genotipos seleccionados.

### **Comparación de haplotipos entre grupos de estudio**

Para todas las combinaciones generadas, se procedió a determinar las frecuencias de portadores mediante conteos directos y, se calculó tanto la proporción de portadores en cada grupo de estudio, como la  $D_{\max}$ . Las frecuencias de portadores de cada combinación fueron evaluadas y comparadas estadísticamente entre pares de los cuatro grupos de estudio. La significancia de las diferencias en la frecuencia de portadores de cada combinación entre los grupos fue calculada utilizando la prueba M-W. Así mismo, se evaluó la habilidad de cada combinación para marcar a los grupos experimentales en cada una de las 4 comparaciones, mediante el cálculo de SNS, ESP, EXC, IFP, IFN, VPP y VPN, siguiendo los mismos procedimientos que se describen en los párrafos que anteceden. Adicionalmente, se buscaron asociaciones de cada combinación con los grupos de estudio utilizando la prueba F y, se estimaron los índices y probabilidades de riesgo mediante los cálculos del RR y RM, respectivamente. La significancia de la probabilidad de riesgo (RM) fue determinada mediante la prueba M-H para la razón de momios común, utilizando IC95%.

### **Selección de alelos y genotipos combinados (haplotipos)**

En base a los análisis estadísticos anteriores, se realizó una selección de combinaciones en 2 fases.

#### ***Fase 1. En base a los análisis estadísticos***

En la primera fase de selección, se consideraron combinaciones que cumplieron con cada uno de los siguientes criterios en cualquiera de las cuatro comparaciones entre grupos:  $RM > 3$ ,  $EXC > 0.65$ ,  $IFN < 0.5$ ,  $M-W p < 0.05$ ,  $F p < 0.05$ ,  $M-H p < 0.05$ ,  $\% i=1 \exp > 0.5$ ,  $\% i=1 \text{ con} < 0.3$  y  $D_{\max} > 0.25$ .

## ***Fase 2. En base a redundancias***

En la segunda fase de selección, se llevó a cabo una discriminación de combinaciones en base a las redundancias de cada variación individual presente en unas combinaciones y otras. En la **Tabla 6** se presenta un ejemplo del procedimiento de discriminación de combinaciones redundantes. En esta fase de selección, se consideraron únicamente las combinaciones no-redundantes conformadas por el mayor número de alelos y genotipos individuales dentro de alguno de los conjuntos de combinaciones que fueron agrupados por la presentación en común de un alelo o genotipo individual, mismo que no estuviera incluido en alguna de las demás combinaciones. Este método de discriminación escalonada, permitió garantizar que dentro del conjunto de combinaciones incluidas en el paso final del análisis, por lo menos una combinación contuviera a cada uno de los alelos y genotipos individuales seleccionados en el tercer paso del análisis.

### **Aplicación y análisis del modelo aditivo propuesto**

Los haplotipos seleccionados fueron considerados como una plantilla de opciones (perfil genético) y, bajo un modelo aditivo, se tomó  $\delta$  como una variable discreta con dominio  $(0, x)$  que cuantificó las combinaciones de la plantilla presentes en un individuo dado. De esta forma, entre más grande fuera  $\delta$ , se tuvo mayor certeza en la calificación de ese caso como un individuo del grupo experimental; por otra parte, mientras más pequeña fuera  $\delta$ , o inclusive si fuera igual a cero, se tuvo mayor certeza en la calificación de ese caso como un individuo del grupo control. Dicho modelo fue aplicado a toda la población, encontrándose las frecuencias relativas acumuladas. Así mismo, se estableció un punto de corte en  $\delta$  para que actuara como límite en la calificación en un sentido o en el otro. El estadístico  $D_{KS}$  (Kolmogorov-Smirnov) para medir la separación entre las funciones de densidad de probabilidad acumulada o en su defecto entre las frecuencias relativas acumuladas, fue el punto de partida para elegir la región de corte. En todos los casos, se estableció

el punto de corte en el nivel donde se lograra la máxima separación entre grupos con el máximo nivel de aciertos y el nivel de error más bajo aceptables. Este modelo aditivo fue aplicado a todos los posibles perfiles genéticos utilizando las combinaciones seleccionadas. Cada perfil fue evaluado para determinar las frecuencias de portadores en el nivel de exigencia (punto de corte) establecido, mediante conteos directos y, se calculó tanto la proporción de portadores en cada grupo de estudio, como la  $D_{max}$ , de acuerdo a las descripciones anteriores. Las frecuencias de portadores de cada perfil fueron evaluadas y comparadas estadísticamente entre pares de los cuatro grupos de estudio. La significancia de las diferencias en la frecuencia de portadores de cada perfil entre los grupos de estudio fue calculada utilizando la prueba M-W. Así mismo, se evaluó la habilidad de cada perfil para marcar a los grupos experimentales en cada una de las 4 comparaciones, mediante el cálculo de SNS, ESP, EXC, IFP, IFN, VPP y VPN, siguiendo los mismos procedimientos que se describen en los párrafos que anteceden. Adicionalmente, se buscaron asociaciones de cada perfil genético con los grupos de estudio utilizando la prueba F y, se estimaron los índices y probabilidades de riesgo mediante los cálculos de RR y RM, respectivamente. La significancia de la probabilidad de riesgo (RM) fue determinada mediante la prueba M-H para la razón de momios común, utilizando IC95%.

### **Identificación de marcadores genéticos**

Tomando en consideración al conjunto de análisis estadísticos anteriores, se identificó el perfil genético con el mayor poder, menor error y más elevada capacidad para separar y marcar específicamente a los grupos experimentales en cada par de comparaciones. Cabe mencionar que los valores de los parámetros en los perfiles seleccionados estuvieron dentro de los límites aceptables para pruebas diagnósticas.

## RESULTADOS

La distribución de las 8 variaciones de tipo SNP evaluadas (IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A y LTA:c.131+90A>G) que se presentan en 6 genes (IL6, IL8, IL10, IL12B, TNF y LTA) que codifican para citocinas inflamatorias, no-pertenecientes a la familia de la IL-1 (interleucina 1), fue evaluada y comparada de manera individual y en combinaciones utilizando el modelo matemático-estadístico que se resume en la **figura 2**. En total se incluyeron 127 sujetos mexicanos sistémicamente sanos y sin relación familiar con periodontitis crónica generalizada, periodontitis agresiva generalizada y salud periodontal.

### DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS INDIVIDUALES

En las **figuras 3a-h** se presenta la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas ( $i=$ ) y la proporción de portadores (%) de cada una de las 8 variaciones genéticas evaluadas, en sujetos incluidos en cada uno de los 4 grupos de estudio (PCG, PAG, EP y SP). Así mismo, se presentan los cálculos de heterocigocidad y  $\chi^2$  H-W para cada variación en los diferentes grupos de estudio. La distribución de frecuencias alélicas y genotípicas para las diferentes variaciones genéticas, mostró diferencias entre grupos de estudio en la mayoría de los casos. Sin embargo, es necesario señalar las similitudes observadas en la distribución general de alelos y genotipos dentro de cada variación. Dicha distribución tendió a ser similar en los cuatro grupos de estudio, lo cual le confirió un patrón de distribución de genotipos, característica a cada variación genética.

Es interesante que en la población mexicana incluida en el estudio, los alelos que se han definido como “ancestrales”, de acuerdo con la secuencia de referencia del genoma humano inscrita en las bases de datos del NCBI, fueron detectados con mayor frecuencia para algunas variaciones genéticas en particular (IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488G>A y LTA:c.131+90A>G),

mientras que para otras (IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C), la frecuencia de los alelos “variantes” tendió a ser mayor en todos los grupos de estudio.

En la distribución de genotipos de la variación IL6:c.-237C>G (**Figuras 3a y 4a**) se observó una proporción muy alta (>77%) del genotipo [GG] en todos los grupos de estudio, la proporción de heterocigotos fue de alrededor del 20%, mientras que la proporción de homocigotos [CC] fue baja (0-2.4%). Para esta variación, todos los grupos se encontraron dentro del equilibrio de Hardy-Weinberg. Así mismo, se observó que existía una diferencia muy marcada en la proporción de portadores del alelo [C] (entre 11.1% y 14.6%) y el alelo [G] (entre 85.4% y 88.9%).

En el caso de IL8:c.-352A>T (**Figuras 3b y 4a**), exceptuando al grupo PAG, la diferencia en la proporción de portadores de cada uno de los 3 genotipos fue muy similar entre los grupos de estudio, dichas diferencias entre grupos no excedieron del 10%. Sin embargo, se encontró que los grupos PCG y EP estaban fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. Las posibles razones de dicho desequilibrio se comentan más adelante.

La distribución de los genotipos de la variación IL10:c-627T>G (**Figuras 3c y 4a**), presentó un patrón distinto al de las dos variaciones anteriores, debido a que se detectó un mayor porcentaje de portadores heterocigotos que homocigotos para cualquiera de los 2 alelos. La proporción más elevada de portadores fue la de los heterocigotos, presentándose este genotipo en más del 50% de los casos, seguida por los homocigotos del genotipo [GG] (entre 29.6% y 33%), con una baja proporción de portadores homocigotos del alelo “ancestral” [TT]. Sin embargo, en el grupo SP, se observó una frecuencia de portadores de este último genotipo de 14.3%, siendo más de 2 veces mayor que en los grupos experimentales PCG (8.6%), PAG (3.7%) y EP (7.1%). Cabe señalar que la mayor diferencia observada en el porcentaje de portadores homocigotos [TT], fue entre los grupos PAG y SP. Las significancias de las diferencias entre grupos se describen en el siguiente apartado.

Al igual que en el caso de IL6:c.-237C>G, en esta variación el alelo considerado como “ancestral” se encontró en menor frecuencia que el alelo variante. Además, la distribución de genotipos en los grupos de PAG y EP se observó fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Similarmente, el genotipo heterocigoto de la variación IL10:c-854T>C (**Figuras 3d y 4a**), se encontró en mayor proporción (42.9% a 63%) que cualquiera de los genotipos homocigotos, y la proporción de portadores homocigotos del alelos variante [GG] fue más elevada que la de homocigotos para el alelo “ancestral”. Cabe mencionar que la proporción de homocigotos para el alelo “ancestral” [TT] fue mayor en el grupo SP (33.3%) que en cualquiera de los grupos con enfermedad periodontal (PCG 13.8%, PAG 18.5% y EP=15.3%). El análisis de las frecuencias alélicas, reveló que las proporciones de cada alelos fueron similares (alelo [T] entre 43.1% y 54.8%, alelo [C] entre 45.2% y 56.9%). La distribución de genotipos en todos los grupos se encontró dentro del equilibrio de Hardy-Weinberg.

El patrón de distribución de alelos y genotipos para la variación IL10:c.-1117A>G (**Figuras 3e y 4b**) fue notable distinto que el de las 4 variaciones anteriormente descritas. Se encontró una alta proporción del genotipo homocigoto para el alelo “ancestral” [AA] (53.4% a 63%), seguida por una proporción menor de heterocigotos (37% a 42%) en los 4 grupo de estudio. La proporción de portadores homocigotos del alelo “variante” [GG] fue muy baja (entre 0% y 4.9%). Fue notable, la magnitud de la diferencia en el porcentaje de portadores de cada uno de los 2 alelos (de 48.8% a 63%). Para esta variación genética, se determinó que la distribución de genotipos en el grupo EP estaba fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Los genotipos de IL12:c-\*159A>C (**Figuras 3f y 4b**) se distribuyeron de manera similar a los de IL10:c-854T>C. Siendo más frecuente el genotipo heterocigoto (de 45.2% a 59.3%), seguido por el genotipo homocigoto para el alelo “ancestral” (de 29.3% a 38.1%) y finalmente por el genotipo

homocigoto variante (de 39.3% a 44.8%). En todos los grupos la distribución de genotipos se ajustó al equilibrio de H-W.

La variación TNF:c.-488G>A presentó una distribución de genotipos y alelos única en comparación al resto de las variaciones evaluadas (**Figuras 3g y 4b**). Se encontró una proporción excepcionalmente baja de heterocigotos (de 3.7% a 12.2%), siendo la mayor parte de la población de estudio portadora del genotipo homocigoto para el alelo “ancestral” [GG] (de 87.8% a 96.3%). Cabe destacar que sólo un individuo (del grupo PCG) de los 127 sujetos incluidos en el estudio, fue portador del genotipo homocigoto para el alelo variante [AA]. En consecuencia, la diferencia entre la proporción de portadores de los 2 alelos fue muy marcada (>87%). En todos los grupos la distribución de genotipos se ajustó al equilibrio de H-W.

Y por último, la variación LTA:c-131+90A>G presentó una distribución similar a la de IL10:c-1117A>G (**Figuras 3h y 4b**), encontrándose con mayor frecuencia portadores homocigotos para el alelo “ancestral” [AA] (47.6 a 63%). Exceptuando al SP, las frecuencias de portadores heterocigotos fueron similares entre grupos. Las diferencias más notorias entre grupos de estudio, se observaron en la distribución de homocigotos para el alelo variante [GG] (PCG 17.2%, PAG 7.4%, EP 14.1% y SP 4.8%). La distribución de genotipos en el grupo EP presentó desequilibrio bajo el principio de H-W.

Lo anterior sugiere que la incorporación de variaciones genéticas al genoma de sujetos mexicanos ha ocurrido a ritmos distintos para cada una de las variaciones evaluadas en el presente estudio. Esto resulta particularmente interesante cuando se analiza el caso del gen IL10, en el que 2 de las 3 variaciones evaluadas presentaron frecuencias más elevadas del alelo “variante” en la población mexicana, mientras que la tercera variación en el mismo gen presentó frecuencias mayores del alelo “ancestral”. Lo anterior refleja que la incorporación de diferentes variaciones de tipo SNP al

genoma humano, puede ocurrir en ritmos distintos incluso dentro del mismo gen. En las **figuras 4a** y **4b** se pueden observar más detalladamente, las diferencias en la proporción de portadores de los genotipos homocigotos y heterocigotos entre las 8 variaciones genéticas evaluadas, así como la similitud en la tendencia de la distribución en el grueso de la población, a pesar de las diferencias puntuales entre grupos de estudio.

Como se mencionó en los párrafos anteriores, cuatro de las 8 variaciones evaluadas (IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G, IL10:c.-1117A>G y LTA:c.131+90A>G) presentaron distribuciones genotípicas que estuvieron fuera del equilibrio de H-W para uno o más de los grupos de estudio. Interesantemente, en los 4 casos, el grupo de estudio EP se encontró en desequilibrio con respecto al principio de H-W. Debido a que el grupo EP incluye una combinación heterogénea de sujetos con diferentes formas de enfermedad periodontal (PCG+PAG), no es sorprendente que este hallazgo se hubiera observado, y sugiere que existen diferencias genéticas importantes en la distribución de genotipos entre los grupos PCG y PAG en la población mexicana, mismos que pudieran ser responsables del desequilibrio observado al considerar juntos a los sujetos de estos grupos.

### **COMPARACIÓN DE ALELOS Y GENOTIPOS INDIVIDUALES**

En las **tablas 4a-d** se muestran los resultados de las pruebas estadísticas empleadas para comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de las 8 variaciones genéticas entre cada uno de los 4 pares de grupos de estudio. De las 40 variables individuales, únicamente cuatro (IL8:c.[-352AA], IL8:c.[-352T], IL10:c.[-854TT] e IL10:c.[-854C]) presentaron frecuencias significativamente diferentes entre los grupos comparados (M-W). Para la comparación tanto entre PCG y SP, como entre EP y SP, las frecuencias de IL10:c.[-854TT] e IL10:c.[-854C] fueron significativamente diferentes entre los grupos experimental y control (M-W  $p < 0.05$ ); sin embargo, únicamente el alelo IL10:c.[-854C]

presentó una asociación significativa con los grupos experimentales (PCG vs. SP:  $F p < 0.05$ ,  $RM = 3.13$ ,  $IC95\% = 1.17-8.36$ . EP vs. SP:  $F p < 0.05$ ,  $RM = 2.77$ ,  $IC95\% = 1.16-6.62$ ). En la comparación entre los grupos PAG y SP, ninguno de los alelos y genotipos individuales mostraron frecuencias significativamente diferentes entre los grupos. Por otra parte, las frecuencias de IL8:c.[-352AA] e IL8:c.[-352T] fueron significativamente diferentes entre los grupos PAG y PCG ( $M-W p < 0.05$ ), pero únicamente el alelo IL18:c.[-352T] presentó una asociación significativa con el grupo experimental ( $F p < 0.05$ ,  $RM = 3.90$ ,  $IC95\% = 1.04-14.58$ ). De manera general, ninguno de los alelos o genotipos individuales presentó valores de SNS, ESP, EXC, IFP, IFN, VPP y VPN suficientemente aceptables para poder sugerir que alguno sería un marcador útil o específico para los grupos experimentales en alguna de las 4 comparaciones.

### SELECCIÓN DE ALELOS Y GENOTIPOS INDIVIDUALES

Se seleccionaron, para las fases posteriores del análisis, en total los 5 alelos y 5 genotipos individuales cuyos valores de RM, EXC e IFN estuvieron dentro de los puntos de corte establecidos como criterios de selección, mismos que fueron descritos en la sección de materiales y métodos. En la **figura 5**, se presenta la dispersión de los alelos y genotipos individuales de acuerdo con los 3 criterios de selección para cada una de las 4 comparaciones y se delimitan aquellos que presentaron valores que estuvieron dentro de los puntos de corte establecidos. Las **tablas 4a-d** señalan, dentro de los recuadros punteados, aquellos alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados. Así mismo, la **figura 6** describe el universo de los 10 alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados en una o más de las 4 comparaciones entre grupos. Ninguno de los alelos o genotipos individuales seleccionados mostró capacidad para marcar de manera exclusiva (sin marcar conjuntamente a otros grupos) al grupo PCG en la comparación PCG vs. SP. Sin embargo, 2 de ellos (IL10:c.[-1117A] e IL10:c.[-627G]) mostraron capacidad para marcar

conjuntamente al grupo mencionado en la comparación anterior y al grupo EP en la comparación EP vs. SP. Adicionalmente, 2 de los alelos y genotipos seleccionados (IL10:c.[-854TC] e IL10:c.[-854C]) fueron capaces de marcar tanto a los 2 grupos experimentales anteriores como al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP. Los genotipos IL12B:c.[\*159AC] e IL10:c.[-627TG] fueron relevantes para marcar exclusivamente al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP, mientras que el alelo IL6:c.[-237G] y el genotipo TNF:c.[-488GG] mostraron capacidad para marcar exclusivamente al grupo EP en la comparación EP vs. SP. El alelo IL8:c.[-352T] marcó exclusivamente al grupo PAG en la comparación PAG vs. PCG, y el genotipo LTA:c.[131+90AA] mostró capacidad para marcar conjuntamente al grupo PAG tanto en la comparación anterior como en la comparación PAG vs. SP.

### **GENERACIÓN DE VARIABLES CON ALELOS Y GENOTIPOS COMBINADOS (HAPLOTIPOS)**

En la **figura 7** se proporciona una descripción de las variables dicotómicas generadas para identificar a los portadores de combinaciones de los alelos y genotipos individuales seleccionados. En total se generaron 565 variables compuestas por un máximo de 8 de los 10 genotipos y/o alelos individuales seleccionados. Las combinaciones de 9 y 10 no fueron consideradas debido a que 2 de los alelos seleccionados (IL10:c.[-627G] e IL10:c.[-854C]), presentaron redundancias en relación a 2 de los genotipos (IL10:c.[-627TG] e IL10:c.[-854TC]), por lo que no se generaron variables en las que la combinación presentara simultáneamente al alelo y al genotipo redundantes. En total, 26 variables alélicas fueron generadas, conformadas por combinaciones de 2, 3, 4 y 5 de los alelos individuales seleccionados. Así mismo, se generaron 26 variables genotípicas, conformadas por combinaciones de 2, 3, 4 y 5 de los genotipos individuales seleccionados, y 513 variables

alélicas/genotípicas constituidas por combinaciones de 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 de los alelos y genotipos seleccionados.

De las 565 variables alélicas, genotípicas y alélicas/genotípicas generadas, 43 estuvieron compuestas por 2 alelos y/o genotipos individuales, 104 por 3, 155 por 4, 146 por 5, 85 por 6, 28 por 7 y 4 por 8. Los alelos IL6:c.[-237G], IL8:c.[-352T] e IL10:c.[-1117A], así como los genotipos IL12B:c.[\*159AC], TNF:c.[-488GG] y LTA:c.[131+90AA], se incorporaron a un total de 286 combinaciones, mientras que los alelos IL10:c.[-627G] e IL10:c.[-854C] y los genotipos IL10:c.[-627TG] e IL10:c.[-854TC] fueron incluidos únicamente en 190 combinaciones debido a la redundancia de alelos que se mencionó en el párrafo que antecede.

### **COMPARACIÓN DE HAPLOTIPOS ENTRE GRUPOS DE ESTUDIO**

Los resultados de los análisis estadísticos empleados para evaluar y comparar las combinaciones generadas, revelaron que las frecuencias de portadores de 275 de las 565 combinaciones evaluadas fueron significativamente diferentes (M-W) entre los grupos de estudio en una o más de las comparaciones. Las frecuencias de 21 de dichas combinaciones fueron significativamente diferentes entre grupos en la comparación PCG vs. SP; 4 de ellas, adicionalmente presentaron diferencias significativas en las comparaciones PAG vs. SP y EP vs. SP, y 17 adicionalmente sólo en la comparación EP vs. SP. 240 combinaciones presentaron frecuencias significativamente diferentes entre grupos en la comparación PAG vs. SP; 94 de las cuales no mostraron diferencias significativas en ninguna otra comparación, 113 además presentaron diferencias en la comparación PAG vs. PCG, 18 en la comparación EP vs. SP, y 11 tanto en la comparación PAG vs. PCG como en EP vs. SP. La frecuencia de 11 de las 275 combinaciones, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos únicamente en la comparación PAG vs. PCG, y 7 en la comparación EP vs. SP (**Tabla 5**).

Las 21 combinaciones que presentaron frecuencias significativamente diferentes en la comparación PCG vs. SP, se conformaron por 7 combinaciones alélicas (3 con 2 alelos, 3 con 3 y 1 con 4), 2 combinaciones genotípicas (1 con 2 genotipos y 1 con 3) y 12 combinaciones de tipo alélica/genotípica (1 con 2 alelos y genotipos, 5 con 3, 5 con 4 y 1 con 5). De las 240 combinaciones cuyas frecuencias presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos PAG y SP, ninguna fue de tipo alélica y únicamente 3 fueron de tipo genotípicas (1 con 2 genotipos y 2 con 3 genotipos). El resto de las combinaciones fueron de tipo alélicas/genotípicas (3 con 2 alelos y genotipos, 29 con 3, 71 con 4, 73 con 5, 44 con 6, 15 con 7 y 2 con 8). De las 135 combinaciones que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos PAG y PCG, 3 fueron de tipo alélicas (3 con 2 alelos individuales, 3 con 3 y 1 con 4), ninguna fue genotípica y 128 fueron de tipo alélicas/genotípicas (3 con 2 alelos y genotipos, 15 con 3, 36 con 4, 43 con 5, 25 con 6 y 6 con 7). Por último, de las 57 combinaciones que presentaron frecuencias con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos EP y SP, 7 fueron de tipo alélicas (3 con 2 alelos individuales, 3 con 3 y 1 con 4), 2 fueron de tipo genotípicas (1 con 2 genotipos individuales y 1 con 3), y 48 fueron de tipo alélicas/genotípicas (1 con 2 alelos y genotipos individuales, 11 con 3, 19 con 4, 12 con 5, 4 con 6 y 1 con 7).

Una síntesis de las estadísticas empleadas para comparar la frecuencia de alelos y genotipos combinados entre los grupos de estudio, se presenta en la **tabla 5**. Resulta interesante destacar que a pesar de que en los análisis de alelos y genotipos individuales, ninguno presentó frecuencias significativamente diferentes entre los grupos PAG y SP; en los análisis de alelos y genotipos combinados, el mayor número de diferencias estadísticamente significativas se presentaron precisamente en la comparación entre dichos grupos. Aún más, los valores calculados en cuanto a la capacidad de combinaciones para marcar específicamente a los grupos experimentales y de

separar a dichos grupos de sus controles, así como en cuanto a las probabilidades de riesgo, fueron superiores en la comparación PAG vs. SP que en el resto de las comparaciones (valores máximos de EXC,  $D_{max}$ , y RM: PCG vs. SP=0.65, 0.22 y 3.47; PAG vs. SP=0.72, 0.38 y 9.09; PAG vs. PCG=0.75, 0.36 y 7.15; EP vs. SP=0.68, 0.22 y 4.24, respectivamente). Esto indica que la evaluación de la asociación de variaciones genéticas con determinadas enfermedades, abordada mediante estrategias de análisis que consideran a los alelos y genotipos de diferentes variaciones de manera a conjuntas, aumenta la capacidad para identificar asociaciones y la potencia global como marcadores de grupos específicos. Lo anterior, en contraste con las estrategias más comúnmente empleadas que consideran a cada variación genética de manera individual como entidades independientes. Así mismo, los resultados de los análisis de alelos y genotipos combinados, representaron para el presente estudio, el primer indicio de que las variaciones genéticas reportadas podrían estar asociadas de manera específica con el riesgo y susceptibilidad a la PAG.

### **SELECCIÓN DE ALELOS Y GENOTIPOS COMBINADOS (HAPLOTIPOS)**

La selección de combinaciones se realizó mediante un procedimiento en 2 fases, de acuerdo con la descripción que se presentó en la sección de materiales y métodos.

#### **Fase 1. En base a los análisis estadísticos**

En la **figura 8**, se presenta una gráfica de burbujas que muestra la dispersión de las 565 combinaciones generadas, considerando la EXC calculada para cada una (eje horizontal) en relación al IFN (eje vertical) y la  $D_{max}$  (diámetro de las burbujas) en cada una de las 4 comparaciones entre los grupos de estudio. En la primera fase, se seleccionaron en total las 62 combinaciones cuyos valores de RM, EXC, IFN, M-W, F, M-H, %  $i=1$  exp, %  $i=1$  con y  $D_{max}$  estuvieron dentro de los puntos de corte establecidos como criterios de selección (ver “Análisis estadístico de

datos” en materiales y métodos). Todas las combinaciones seleccionadas fueron de tipo alélicas/genotípicas.

La **figura 9** describe el universo de las 62 combinaciones que fueron seleccionadas en una o más de las 4 comparaciones entre grupos. Ninguna de las comparaciones mostró capacidad para marcar de manera exclusiva o conjunta al grupo PCG en la comparación PCG vs. SP, ni al grupo EP en la comparación EP vs. SP. Así mismo, tampoco se encontraron combinaciones capaces de marcar de manera exclusiva al grupo PAG en la comparación PAG vs. PCG. Sin embargo, 26 de las combinaciones seleccionadas fueron relevantes para marcar al grupo PAG conjuntamente en las comparaciones PAG vs. SP y PAG vs. PCG. Finalmente, 36 combinaciones mostraron buena capacidad para marcar de manera exclusiva al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP.

El grupo de las 62 combinaciones seleccionadas se conformó por combinaciones con 2, 3, 4, 5 y 6 alelos y genotipos individuales, por lo que ninguna combinación con 7 y 8 fue conservada después de esta primera fase de selección para los análisis posteriores. Así mismo, parece interesante destacar que a partir de este punto en el análisis, todos los alelos y genotipos individuales o combinados quedaron descartados como posibilidades para marcar específicamente tanto al grupo PCG como al EP.

## **Fase 2. En base a redundancias**

En la segunda fase de selección, se eliminaron las combinaciones redundantes utilizando el método anteriormente descrito. 9 combinaciones fueron seleccionadas en esta fase, 7 de las cuales estuvieron compuestas por 5 alelos y genotipos individuales, y 2 por 6. La **figura 10** presenta la lista de las 9 combinaciones seleccionadas y una descripción detallada de su composición. Cabe señalar que todas las combinaciones que se conservaron después de esta

última fase de selección exhibieron, en términos generales, una buena capacidad y potencia global para marcar al grupo PAG tanto en la comparación PAG vs. SP como en PAG vs. PCG.

### **APLICACIÓN Y ANÁLISIS DEL MODELO ADITIVO PROPUESTO**

El modelo aditivo que se describió en la sección de materiales y métodos, fue aplicado a todos los perfiles genéticos que es posible generar al crear conjuntos de 3 hasta 9 de las combinaciones seleccionadas. En total, el modelo aditivo se aplicó a 466 perfiles genéticos, los cuales fueron evaluados para determinar las frecuencias de portadores en el nivel de exigencia (punto de corte) establecido para cada análisis. Se generó el mismo conjunto de análisis estadísticos que se empleó para comparar y evaluar tanto las frecuencias individuales como las combinadas. Dicho conjunto incluyó cálculos de la proporción de portadores en cada grupo de estudio y  $D_{max}$ , así como comparaciones entre grupos mediante la prueba M-W, la evaluación de la habilidad de cada perfil para marcar a los grupos experimentales mediante el cálculo de SNS, ESP, EXC, IFP, IFN, VPP y VPN, la búsqueda de asociaciones de cada perfil genético aditivo con los grupos de estudio y las estimaciones de riesgo utilizando la prueba F, RR, RM y M-H. Los resultados del conjunto de estadísticas fueron evaluados para identificar el mejor perfil genético aditivo para marcar a cada uno de los grupos experimentales.

### **IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS**

Dos perfiles genéticos aditivos fueron identificados, ambos para marcar al grupo PAG (uno en la comparación PAG vs. SP y el otro en la comparación PAG vs. PCG). La selección de marcadores genéticos se realizó considerando únicamente al perfil genético aditivo con el mayor poder, menor error y más elevada capacidad para separar y marcar específicamente a los grupos experimentales.

Las distribuciones de frecuencias tanto del perfil identificado para marcar al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP, como de las 4 combinaciones que lo componen, se presentan en la **figura 11a**. Este marcador (perfil), consideró individuos portadores de 2 o más de las combinaciones incluidas en el modelo. En la **figura 11b** se resumen las estadísticas comparativas entre grupos de estudio de este marcador genético y de las 4 combinaciones que lo conforman de manera individual. Exceptuando la comparación PCG vs. SP, el marcador aditivo proporcionó mejor separación entre los grupos experimental y control ( $D_{max}$ ), así como una mayor probabilidad de riesgo que cualquiera de las combinaciones por separado. Sin embargo, la capacidad para marcar al grupo EP en la comparación EP vs. SP fue pobre. Así mismo, ninguna de las posibilidades, ya sea del marcador aditivo o de cualquiera de las 4 combinaciones por separado mostró capacidad para marcar o separar al grupo PCG en la comparación PCG vs. SP. Cabe señalar que a pesar de que este marcador fue seleccionado como el mejor de los 466 evaluados, para separar al grupo PAG específicamente en la comparación PAG vs. SP, su capacidad para marcar a dicho grupo en la comparación PAG vs. PCG, si bien no fue la mejor, también fue muy buena.

En las **figuras 12a-d** se presenta la separación que se produce en las frecuencias relativas acumuladas entre los grupos experimental y control en cada una de las comparaciones, al aplicar este modelo aditivo en los diferentes niveles de exigencia. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia entre los grupos, en este caso 2 combinaciones.

Al aplicar el modelo aditivo a las 4 combinaciones se lograron porcentajes de aciertos (SNS) y niveles de error (IFN) de 35% y 22%, 78% y 22%, 78% y 35%, y 49% y 22%, respectivamente en las comparaciones PCG vs. SP, PAG vs. SP, PAG vs. PCG y EP vs. SP. Lo anterior demuestra que el

marcador sugerido, carece de una potencia global aceptable para marcar a los grupos PCG y EP, pero posee una muy buena habilidad para marcar al grupo PAG.

En las **figuras 13a-b** se presentan las distribuciones de frecuencias y los resúmenes de las estadísticas comparativas, de las 3 combinaciones y del segundo perfil conformado por las mismas, mismo que fue identificado para marcar al grupo PAG específicamente en la comparación PAG vs. PCG. Las **figuras 14a-d** presentan las evaluaciones de este segundo modelo en cuanto a su capacidad para separar y marcar específicamente a los grupos experimentales en cada una de las comparaciones. Las figuras citadas, se presentan en el mismo formato que las que se describieron para el primer perfil.

En términos generales, los resultados de las evaluaciones de este segundo modelo, tendieron a ser similares a los obtenidos para el primer marcador descrito. Es decir, la capacidad del marcador para separar a los grupos PCG y EP del grupo SP fue pobre; mientras que su habilidad para marcar a PAG en las comparaciones PAG vs. SP y PAG vs. PCG, fue buena. Sin embargo, debido a que este fue el mejor marcador para separar al grupo PAG específicamente de PCG, se consideró importante no descartarlo como posible perfil.

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio revelan asociaciones entre combinaciones (haplotipos) de diferentes alelos y genotipos específicos de las variaciones genéticas estudiadas, y la periodontitis agresiva generalizada en sujetos mexicanos. Así mismo, se presentó el diseño y uso de un modelo matemático desarrollado para identificar perfiles genéticos complejos en estudios de tipo caso-control, los cuales pudieran estar asociados con y/o separar a grupos específicos dentro de una población determinada. Se demostró que la aplicación de dicho modelo, permite considerar la influencia de alelos y genotipos individuales de diferentes variaciones genéticas, en el contexto de su aportación como parte de un haplotipo complejo que incluye a una gama de variaciones en diferentes genes que codifican para proteínas con funciones o efectos similares. El modelo propuesto, permitió identificar las asociaciones de alelos y genotipos individuales con las patologías evaluadas, incluso cuando mostraron poca relevancia al ser analizados como entidades aisladas e independientes de otras variaciones.

El desarrollo de métodos eficientes y de bajo costo para la genotipificación de variaciones genéticas de tipo SNP en años recientes, ha conducido a la identificación de un número elevado de dichas variaciones en el genoma humano; así como al vertiginoso desarrollo y publicación de numerosos estudios para determinar las asociaciones de dichas variaciones con enfermedades específicas. Se ha calculado que en el genoma humano, compuesto de aproximadamente 3 billones de nucleótidos, existen entre 7 y 10 millones de variaciones de tipo SNP (**Hinds et al. 2005**). A la fecha, la cantidad y complejidad de los datos generados en este tipo de estudios, ha excedido por mucho a la presentación de propuestas de modelos de análisis para procesar e interpretar adecuadamente dicha información. Por lo tanto, la mayoría de los estudios continúan utilizando modelos relativamente simples y limitados de análisis de datos, reportando

generalmente sólo la frecuencia de portadores de alelos o genotipos de variaciones individuales como fenómenos independientes de otras variaciones en el mismo o en diferentes genes (**Greisenegger et al. 2003, Mohlig et al. 2004, Morahan et al. 2002, Padovani et al. 2000, Rasmussen et al. 2000, Vendrell et al. 2003, Walston et al. 1999**). A pesar de esto, la tendencia en estudios recientes es reportar alelos o genotipos combinados; sin embargo, los estudios que han llevado esto a cabo, generalmente incluyen un número muy limitado de variaciones en sus análisis (**Fernandez et al. 2005, Karahan et al. 2005, Nibali et al. 2009, Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**). Lo anterior obliga a las ciencias biológicas a adoptar estrategias multidisciplinarias de mayor alcance que faciliten el diseño de modelos matemáticos y estadísticos nuevos que sirvan como herramientas útiles para procesar, analizar e interpretar con mayor rapidez y eficiencia la información generada.

Una de las mayores dificultades que se presentan en la exploración de los datos derivados del estudio de variaciones genéticas y sus asociaciones con enfermedades, es la de vincular la información de múltiples alelos y genotipos de un número extenso de variaciones, asociándolos no sólo con estados patológicos sino también con los posibles efectos funcionales de tales genotipos complejos. Este problema es particularmente grave cuando se trata de reportes de variaciones en el genoma completo, o bien para el caso de enfermedades multifactoriales comunes, como la enfermedad periodontal (**Hinds et al. 2005, Hoffmann et al. 2002, Meenagh et al. 2002**). Dichas enfermedades, tienden a prevalecer en familias, grupos étnicos y zonas geográficas, y aunque se transmiten hereditariamente, sus patrones de herencia no se ajustan a los patrones Mendelianos. En la genética Mendeliana, los fenotipos son dominados por los componentes genéticos, y las interacciones entre genes y factores ambientales de riesgo o microorganismos son poco relevantes. La mayor parte de las enfermedades asociadas con genes únicos que muestran

patrones Mendelianos de herencia, como la fibrosis quística, son poco frecuentes y sus primeros signos tienden a evidenciarse en la infancia. En el caso de las enfermedades multifactoriales comunes, se hereda el riesgo de desarrollar la enfermedad y no la certeza de presentarla. Por lo tanto, en dichas enfermedades, la interacción entre genes y factores ambientales de riesgo o microorganismos, es discreta y compleja. Es decir, los genes de susceptibilidad regulan el efecto de los factores ambientales y microorganismos haciendo que los eventos que dan inicio a la enfermedad sean más o menos probables (**Duff 2006**). Considerando por una parte, que la patogenia de las enfermedades periodontales involucra una extensa gama de citocinas inflamatorias; y por la otra, la compleja y redundante regulación de las cascadas de producción de dichas citocinas durante los procesos inflamatorios, es improbable que una o dos variaciones genéticas individuales, tengan un efecto representativo de la complejidad de dichos procesos.

La diversidad genética dentro de y entre poblaciones, razas y grupos étnicos humanos ha sido un tópico de investigación intensa durante las tres últimas décadas. En la actualidad, existe un interés particular en el estudio del papel conjunto de las variaciones genéticas y los factores ambientales de riesgo, en la etiología y susceptibilidad a ciertas enfermedades en diferentes poblaciones. Se reconoce que la frecuencia de variaciones genéticas, puede diferir significativamente entre poblaciones, zonas geográficas y/o grupos étnicos (**Hoffmann et al. 2002**). Identificar las diferencias genéticas entre grupos similares de seres humanos, es importante para poder diseñar y crear mapas de asociación donde se pueda relacionar a las variaciones genéticas con enfermedades que afectan de manera particular a determinadas poblaciones (**Hassan et al. 2003**). Se ha demostrado que incluso dentro de una misma población, las frecuencias alélicas y genotípicas de variaciones, pueden ser notablemente diferentes. La distribución de variaciones en la población parece estar relacionada con sub-regiones específicas y se piensa que dicha diferencia

genética es el reflejo de la historia étnica particular (**Kubistova et al. 2006**). En este sentido, es importante señalar que en los textos del presente trabajo, se hace referencia a la población incluida en el estudio indistintamente como “población mexicana” o “población de mestizos mexicanos”. Considerando que todos los sujetos incluidos en el estudio fueron seleccionados en base a que eran mexicanos tanto por nacionalidad como por nacimiento, y que sus padres y por lo menos dos de sus abuelos también lo eran; y que ninguno pertenecía a alguna denominación indígena o era de las razas negra, asiática o caucásica, los términos anteriores no son imprecisos. Sin embargo, cabe destacar que la mayoría de los sujetos incluidos en el estudio eran originarios del Distrito Federal y área Metropolitana. Por lo tanto, a pesar de que es correcto referirse a la población evaluada como una “población mexicana” o “población de mestizos mexicanos”, los alcances del presente estudio, no permiten garantizar que los resultados sean representativos de mestizos mexicanos en todas y cada una de las regiones geográficas del país.

En la **tabla 7** se resumen los resultados de diversos estudios que han reportado la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas de las variaciones reportadas en el presente estudio en diferentes poblaciones del mundo. En la población de mestizos mexicanos incluidos en el estudio, el genotipo más frecuentemente detectado para la variación IL6:c.-237C>G, independientemente del grupo de estudio, fue IL6:c.[-237GG] (73.2% a 77.8%), seguido por el genotipo heterocigoto (21.1% a 24.4%) y el homocigoto IL6:c.[-237CC] (0% a 2.4%). Para dicha variación, el alelo detectado con menor frecuencia fue IL6:c.[-237C] (11.1% a 14.6%). Así mismo, para las variaciones TNF:c.-488G>A y LTA:c.131+90A>G, se encontró que los genotipos más comunes fueron TNF:c.[-488GG] (87.8% a 96.3%) y LTA:c.[131+90AA] (47.6% a 63.0%), respectivamente. Para ambas variaciones los genotipos heterocigotos siguieron a los genotipos anteriores en el porcentaje de portadores y, los genotipos homocigotos TNF:c.[-488AA] y LTA:c.[131+90GG] fueron los de menor

frecuencia (0% a 1.8% y 4.8% a 17.2%, respectivamente). Estos resultados fueron similares a las distribuciones de genotipos y alelos para estas variaciones, reportadas en otros estudios de mestizos mexicanos (**Parra-Rojas et al. 2006, Wu et al. 2007**), así como de poblaciones turcas (**Karahan et al. 2005**), de individuos de raza negra de Estados Unidos de Norteamérica (E.U.) (**Jenny et al. 2002**) y del Reino Unido (**Nibali et al. 2009**), asiáticos del Reino Unido (**Nibali et al. 2009**), japoneses (**Furuta et al. 2002**), coreanos (**Um & Kim 2003**) e individuos de la República Checa (**Fassmann et al. 2003**).

Sin embargo, para las mismas variaciones existieron discrepancias importantes con respecto a las distribuciones reportadas para poblaciones de Finlandia (**Hulkkonen et al. 2001**), Alemania (**Mohlig et al. 2004, Schotte et al. 2001, Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**), Escocia (**Basso et al. 2002**), Austria (**Greisenegger et al. 2003**), Dinamarca (**Rasmussen et al. 2000**), así como para las reportadas en individuos caucásicos de E.U. (**Cozen et al. 2004, Jenny et al. 2002, Walston et al. 1999**) y de raza negra de Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**). A diferencia de los resultados del presente estudio, en las poblaciones antes mencionadas, los genotipos heterocigotos de las variaciones IL6:c.-237C>G y LTA:c.131+90A>G fueron los más frecuentemente detectados (43.0% a 54.8% y 49%, respectivamente) y, los porcentajes de portadores del alelo IL6:c.[-237G] (41.8% a 69.2%) y el genotipo LTA:c.[131+90AA] (37%) fueron significativamente menores a los observados en la población mexicana (85.4% a 88.9% y 47.6% a 63.0%, respectivamente). Por otra parte, a pesar de que la distribución de genotipos para la variación TNF:c.-488G>A en las poblaciones de los estudios antes citados, fue similar a la observada en sujetos mexicanos en el presente estudio (genotipo de mayor frecuencia TNF:c.[-488GG], seguido por heterocigotos y homocigotos TNF:c.[-488AA]), los porcentajes de portadores del genotipo heterocigoto y del homocigoto TNF:c.[-488GG] discreparon importantemente. Dichas discrepancias consistieron en un aumento en la

frecuencia de portadores heterocigotos (22.5% a 35.0%) y una disminución en la frecuencia de portadores homocigotos TNF:c.[-488GG] (61.0% a 73.2%), en los estudios de Alemania (**Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**), Dinamarca (**Rasmussen et al. 2000**), Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**) y de caucásicos de E.U. (**Walston et al. 1999**), comparados con la población mexicana que aquí se reporta (3.7% a 12.2% y 87.8% a 96.3%, respectivamente).

En México, el mayor porcentaje de la población está compuesto por individuos provenientes de una mezcla de indígenas con europeos (mayormente españoles), con una pequeña pero importante contribución de africanos (**Bonilla et al. 2005**). Además de la inmigración española a México, durante los siglos XIX y XX, prácticamente no existió inmigración de otros grupos europeos como ocurrió de forma masiva en Argentina, Brasil y Uruguay (**Palma-Mora 2005**). Sin embargo, en el mismo periodo, llegó a México un gran número de inmigrantes del medio oriente, principalmente de Turquía y Líbano (**García-Ita 2005**); así como de China y Corea (**INEGI 2007**). Por lo tanto, no es sorprendente que las características genéticas de los mexicanos presenten similitudes con las poblaciones turcas (**Karahan et al. 2005**), afroamericanas (**Jenny et al. 2002, Nibali et al. 2009**) y asiáticas (**Furuta et al. 2002, Nibali et al. 2009, Um & Kim 2003**) antes mencionadas. Sin embargo, las similitudes detectadas con la población de la República Checa (**Fassmann et al. 2003**); compuesta mayormente por mezclas de checos, alemanes, polacos, romanos y húngaros, son difíciles de explicar y merece exploraciones de patrones históricos de ascendencia e inmigración profundas que se salen de los alcances del presente trabajo. Así mismo, exceptuando el reporte citado de individuos de raza negra de Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**), el resto de las discrepancias observadas con otros reportes, parecen lógicas siendo que todas las poblaciones en cuestión están compuestas primordialmente por individuos de raza caucásica y/o ascendencia anglosajona.

En contraste, algunas comparaciones con estudios previos resultaron un tanto sorprendentes. Dentro de ellas, cabe destacar la similitud en la distribución de frecuencias para la variación IL12B:c.\*159A>C detectada entre la población mexicana del presente estudio y la población Australiana (**Morahan et al. 2002**). Esto sorprende debido a que las ascendencias principales de la población son anglosajonas; particularmente de Inglaterra, Irlanda y Escocia. Lo anterior sugiere que; a pesar de que pudieran existir patrones similares de distribución de la mayoría de las variaciones genéticas en determinados grupos poblacionales, existe la posibilidad de que la distribución de algunas variaciones en particular pueda salirse de dicho esquema.

Otro hallazgo inesperado fue que no se detectaron similitudes en la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas de la mayoría de las variaciones (IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-854T>C, IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C y TNF:c.-488G>A) entre la población mexicana y la española; población con la que se anticipaban pocas discrepancias (**Fernandez et al. 2005, Landi et al. 2003, Martinez-Pomar et al. 2006, Vendrell et al. 2003**). En la población española, las distribuciones de las variaciones IL6:c.-237C>G y TNF:c.-488G>A, fueron parecidas a las que se mencionaron en los párrafos que anteceden para las poblaciones de Finlandia (**Hulkkonen et al. 2001**), Alemania (**Mohlig et al. 2004, Schotte et al. 2001, Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**), Escocia (**Basso et al. 2002**), Austria (**Greisenegger et al. 2003**) y Dinamarca (**Rasmussen et al. 2000**), así como de individuos caucásicos de E.U. (**Cozen et al. 2004, Jenny et al. 2002, Walston et al. 1999**) y de raza negra de Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**). En el presente estudio, los genotipos más frecuentemente detectados para la variación IL8:c.-352A>T, independientemente del grupo de estudio, fueron IL8:c.[-352AT] e IL8:c.[-352TT] (32.8% a 44.5%), seguidos por el genotipo homocigoto IL8:c.[-352AA] (11.1% a 32.8%). Para dicha variación, las frecuencias de los alelos IL8:c.[-352A] e IL8:c.[-352T] fueron 33.3% a 49.1% y 50.9% a 66.7%, respectivamente. En un

reporte de individuos españoles sistémicamente sanos, el porcentaje de portadores del genotipo heterocigoto fue significativamente mayor (55.2%) (**Landi et al. 2003**). Para las variaciones IL10:c.-854T>C (**Fernandez et al. 2005**), IL10:c.-1117A>G (**Fernandez et al. 2005**) e IL12B:c.\*159A>C (**Martinez-Pomar et al. 2006**), los estudios de la población española reportaron un mayor porcentaje de portadores de los genotipos IL10:c.[-854CC] (55.3% a 62.8%, presente estudio: 18.5% a 27.6%), IL10:c.[-1117GG] (16.9% a 24.4%, presente estudio: 0% a 4.9%) e IL12B:c.[-159AA] (62.9% a 68.5%, presente estudio: 29.3% a 38.1%), y de los alelos IL10:c.[-854C] (74.1% a 77.3%, presente estudio: 45.2% a 56.9%), IL10:c.[-1117G] (39.7% a 46.5%, presente estudio: 18.5% a 25.6%) e IL12B:c.[-159A] (77.1% a 83.3%, presente estudio: 55.2% a 60.7%). Así mismo, dichos estudios reportaron un menor porcentaje de portadores de los genotipos IL10:c.[-854TC] (28.9% a 39.0%, presente estudio: 42.9% a 63.0%), IL10:c.[-1117AA] (28.1% a 37.5%, presente estudio: 53.4% a 63.0%) e IL12B:c.[-159AC] (28.6% a 29.6%, presente estudio: 45.2% a 59.3%), y de los alelos IL10:c.[-854T] (22.7% a 25.9%, presente estudio: 43.1% a 54.8%), IL10:c.[-1117A] (53.5% a 60.3%, presente estudio: 74.4% a 81.5%) e IL12B:c.[-159C] (16.7% a 22.9%, presente estudio: 39.3% a 44.8%).

Comparando los resultados de la presente investigación con aquellos reportados para las poblaciones de Brasil, Italia y del Reino Unido, se encontró que mientras que la distribución de alelos y genotipos para algunas variaciones genéticas mostró similitudes, para otras fue notablemente diferente. En la población brasileña, las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL10:c.-1117A>G (**Scarel-Caminaga et al. 2004**) fueron similares a las de la población mexicana; sin embargo, se detectaron diferencias en las frecuencias de las variaciones IL6:c.-237C>G (**Moreira et al. 2007**), IL10:c.-627T>G (**Scarel-Caminaga et al. 2004**), IL10:c.-854T>C (**Scarel-Caminaga et al. 2004**), TNF:c.-488G>A (**Padovani et al. 2000**) y LTA:c.131+90A>G

**(Padovani et al. 2000)**. En relación a los resultados del presente estudio, en la población brasileña se ha reportado un menor porcentaje de portadores de los genotipos IL6:c.[-237GG] (55.6% a 59.7%, presente estudio: 73.2% a 77.8%) e IL10:c.[-854TT] en sujetos con SP (14.4%, presente estudio: 33.3%), y de los alelos IL10:c.[-854T] en sujetos con SP (32.6%, presente estudio: 54.8%), TNF:c.[-488G] en individuos sistémicamente sanos (77.1%, presente estudio: 93.9% a 98.1%) y LTA:c.[131+90A] (42.6% a 48.0%, presente estudio: 65.5% a 77.8%). Así mismo, en sujetos con SP se reportaron porcentajes mayores de portadores de los genotipos IL10:c.[-627GG] (48.8%, presente estudio: 33.3%) e IL10:c.[-854CC] (48.8%, presente estudio: 23.8%), y de los alelos IL10:c.[-854C] (67.4%, presente estudio: 45.2%), así como de TNF:c.[-488A] en individuos sistémicamente sanos (22.9%, presente estudio: 1.9% a 6.1%) y LTA:c.[131+90G] (52.0% a 57.4%, presente estudio: 22.2% a 34.5%). El hecho de que en la población brasileña, la distribución de frecuencias encontrada para algunas variaciones hubiera sido similar a la de la población mexicana y para otras hubiera sido diferente, podría estar relacionado con la gran diversidad racial y étnica en Brasil. Los tres estudios citados incluyeron sujetos de la región sudeste de Brasil, en donde el 58.8% de la población se compone de caucásicos, el 40.2% de razas mezcladas y africanos, el 0.8% de asiáticos y el 0.2% de indígenas. En uno de dichos estudios, los autores especificaron que su población de estudio se compuso por 77.2% de caucásicos y 22.8% de afroamericanos y mulatos **(Scarel-Caminaga et al. 2004)**; sin embargo, en los otros dos estudios no se especificó la composición étnica o racial de la población **(Moreira et al. 2007, Padovani et al. 2000)**.

En publicaciones en las que se reportan poblaciones de Italia, la distribución de alelos y genotipos de la variación LTA:c.131+90A>G fue similar a la observada en el presente estudio para la población mexicana **(Scapoli et al. 2007)**. Sin embargo, mientras que en un estudio se reportaron frecuencias de la variación TNF:c.-488G>A similares a las de la población mexicana **(Scapoli et al.**

**2007**), en otro se reportó un mayor porcentaje de portadores del genotipo heterocigoto TNF:c.[-488GA] (27.0%, presente estudio: 3.7% a 12.2%) y un menor porcentaje de portadores de genotipo homocigoto TNF:c.[-488GG] (72.2%, presente estudio: 87.8% a 96.3%) (**Lio et al. 2003**), que los detectados en el presente estudio. Las frecuencias reportadas en el estudio antes citado, fueron similares a las que se describieron en los textos que anteceden para las poblaciones de Alemania (**Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**), Dinamarca (**Rasmussen et al. 2000**), España (**Landi et al. 2003, Vendrell et al. 2003**), Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**) y de individuos caucásicos de E.U. (**Walston et al. 1999**). Por otra parte, las distribuciones de frecuencias de las variaciones IL6:c.-237C>G (**Pola et al. 2003, Scapoli et al. 2007**) e IL10:c.-1117A>G (**Lio et al. 2003**) reportadas para la población italiana, mostraron similitud con aquellas reportadas para la población española que también se describieron anteriormente (**Fernandez et al. 2005, Landi et al. 2003**); sin embargo, discreparon de las que se detectaron para la población mexicana.

Cabe destacar que la única población caucásica para la que se encontraron similitudes, en las frecuencias alélicas y genotípicas de algunas de las variaciones evaluadas, fue la del Reino Unido. En un estudio, la distribución de frecuencias de la variación LTA:c.131+90A>G fue similar a la de la población mexicana (**Pantelidis et al. 2001**). En contraste, la distribución de alelos y genotipos de otras variaciones tales como IL6:c.-237C>G (**Fishman et al. 1998, Nibali et al. 2009, Pantelidis et al. 2001**) y TNF:c.-488G>A (**Grove et al. 1997**), fue distinta a la de la población mexicana, pero similar a la que se describió anteriormente para las poblaciones de Alemania (**Mohlig et al. 2004, Schotte et al. 2001, Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005**), Austria (**Greisenegger et al. 2003**), individuos caucásicos de E.U. (**Cozen et al. 2004, Jenny et al. 2002, Walston et al. 1999**), Escocia (**Basso et al. 2002**), España (**Landi et al. 2003, Vendrell et al. 2003**), Finlandia (**Hulkkonen et al.**

**2001)**, Italia (**Lio et al. 2003, Pola et al. 2003, Scapoli et al. 2007**), Dinamarca (**Rasmussen et al. 2000**) y Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**).

La determinación de las distribuciones de frecuencias alélicas y genotípicas de variaciones genéticas en diferentes poblaciones del mundo, así como en diversos grupos raciales y étnicos dentro de regiones geográficas particulares, es especialmente importante para garantizar una correcta interpretación de los resultados de estudios en los que se buscan asociaciones entre dichas variaciones y procesos patológicos específicos. Las variaciones genéticas de tipo SNP pueden afectar la estructura y composición de la proteína para la cual el gen codifica, cuando el nucleótido que se sustituye afecta la información que porta el codón, dando como resultado la incorporación de un aminoácido diferente. Esto ocurre cuando la variación se localiza en regiones de exones que están sujetas al proceso de traducción, siempre y cuando la sustitución no produzca un codón con diferente secuencia pero con información redundante para el mismo aminoácido. A pesar de que este es uno de los efectos que pueden tener las variaciones de tipo SNP; no es el más común. En la mayoría de los casos las variaciones de tipo SNP producen sustituciones en las regiones 5' o 3' no traducidas del gen, en intrones o en regiones cercanas al gen pero fuera de las secuencias codificantes. Las variaciones en dichas regiones, no producen cambios en la estructura o composición de la proteína codificada, sino que generalmente influyen sobre los mecanismos que regulan la expresión del gen. De tal manera, que ante estímulos similares, la expresión del gen puede verse aumentada o disminuida cuando se presenta un alelo o genotipo determinado de la variación.

Algunos estudios *in vitro* e *in vivo*, han demostrado los efectos de alelos y genotipos específicos de variaciones sobre la expresión de diversos genes que codifican para citocinas inflamatorias. Por ejemplo, estudios previos han demostrado que la presencia del genotipo IL6:c.[-237CC], así como

del alelo IL6:c.[-237C], provocan una disminución significativa en la producción de IL-6 en comparación a la presencia del genotipo IL6:c.[-237GG] y el alelo IL6:c.[-237G], respectivamente, de la variación IL6:c.-237C>G (**Cozen et al. 2004, Fishman et al. 1998, Moreira et al. 2007, Tischendorf et al. 2007**). En otros estudios, se ha demostrado que la presencia de cualquiera de los genotipos homocigotos IL12B:c.[\*159AA] o IL12B:c.[\*159CC] de la variación IL12B:c.\*159A>C, provoca un aumento importante en la secreción de IL-12 p70 y en la transcripción de IL-12 p40, comparado con la presencia del genotipo heterocigoto IL12B:c.[\*159AC] (**Morahan et al. 2002, Peng et al. 2006**). Así mismo, la presencia del alelo TNF:c.[-488A] de la variación TNF:c.-488G>A, se ha relacionado con el aumento en la producción de la citocina TNF, en comparación con la presencia del alelo TNF:c.[-488G] (**Abraham & Kroeger 1999, Sallakci et al. 2005, Wilson et al. 1997, Yang et al. 2009**). A pesar de las demostraciones anteriores, es importante considerar que las citocinas representan una familia de proteínas solubles reguladoras que intervienen en el crecimiento, migración, señalización y diferenciación de un gran número de líneas celulares. Dichas proteínas tienen un alto grado de pleotropía y redundancia; es decir, que varias citocinas pueden contribuir al desarrollo de la misma función en un determinado tipo celular y como consecuencia; en ausencia de una determinada citocina, sus funciones pueden ser reemplazadas total o parcialmente por otras. Esta característica complica tanto la separación de sus roles individuales dentro de las respuestas tisulares, como el entendimiento de las implicaciones funcionales de las variaciones en los genes que las codifican y la comprensión del fundamento biológico de las asociaciones que se han establecido entre dichas variaciones y enfermedades específicas en el ser humano. A la fecha, algunos estudios han comenzado a abordar este problema describiendo interacciones complejas entre una gama relativamente amplia de citocinas y las variaciones genéticas que afectan su expresión (**Knight 2005, Peng et al. 2006, Smeltz et al. 2002**).

La idea de que la detección de variaciones genéticas específicas, pudiera servir como una herramienta diagnóstica y predictiva útil en la práctica clínica para el manejo de enfermedades multifactoriales comunes, no es nueva. Una gama relativamente amplia de variaciones en genes que codifican para citocinas inflamatorias han sido propuestas como marcadores de predisposición y riesgo a diversas enfermedades incluyendo la enfermedad coronaria (**Basso et al. 2002**), la artritis reumatoide (**Buchs et al. 2001, Jouvenne et al. 1999**), el síndrome de Sjögren primario (**Hulkkonen et al. 2001**), la esquizofrenia (**Katila et al. 1999**), la colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn (**Bioque et al. 1996, Bioque et al. 1995, Hacker et al. 1998, Heresbach et al. 1997, Nemetz et al. 1999, Stokkers et al. 1998**), la psoriasis (**Cork et al. 1993**), la enfermedad de Graves (**Blakemore et al. 1995**), el cáncer colorectal (**Landi et al. 2003**), la aterosclerosis (**Jenny et al. 2002**) y el lupus eritematoso (**Blakemore et al. 1994**).

En este sentido, en diversos estudios se han reportado las asociaciones de los alelos y genotipos de la variación IL6:c.-237C>G con enfermedades sistémicas. Algunos de ellos determinaron que no existía una asociación entre alelos o genotipos de la variación y el síndrome de Sjögren primario (**Hulkkonen et al. 2001**), los perfiles lipídicos de individuos (**Parra-Rojas et al. 2006**), la fibrosis pulmonar idiopática (**Pantelidis et al. 2001**) y la embolia cerebral en niños (**Karahan et al. 2005**). En contraste, el alelo IL6:c.[-237G] se asoció en un estudio con la predisposición de individuos con lupus eritematoso sistémico a presentar lesiones discoides cutáneas y concentraciones elevadas de anticuerpos antihistona (**Schotte et al. 2001**). En otros estudios, la presencia del genotipo IL6:c.[-237GG] presentó asociación con la severidad de eventos cerebrovasculares agudos (RM=3.2 a 4.2) (**Greisenegger et al. 2003**) y con la historia de embolias cerebrales isquémicas (**Pola et al. 2003**). Así mismo, se reportó que la presencia del alelo IL6:c.[-237C], no sólo disminuía la producción de IL-6, sino que también disminuía significativamente el riesgo de padecer artritis

crónica juvenil sistémica (**Fishman et al. 1998**). Similarmente, otros estudios han determinado que la presencia del genotipo IL6:c.[-237CC] se asociaba con la disminución en el riesgo de padecer linfoma de Hodgkin del adulto joven (**Cozen et al. 2004**) y enfermedad coronaria (**Basso et al. 2002**). Como se mencionó anteriormente, en el caso de esta variación genética, el genotipo IL6:c.[-237GG] y el alelo IL6:c.[-237G], son los que se han asociado con la sobreproducción de IL-6; por lo tanto, no es extraño que en la mayor parte de los estudios, dicho alelo y genotipo se reporten con mayor frecuencia asociados con el aumento en la susceptibilidad y riesgo a padecer diversas enfermedades que presentan un componente inflamatorio importante dentro de su patogenia.

Sin embargo, los resultados de un cierto grupo de estudios, ofrecen mayores dificultades interpretativas. Por ejemplo, en dos estudios, la presencia del alelo IL6:c.[-237C] (relacionado con la baja producción de IL-6), se asoció con el aumento del riesgo a padecer cáncer colorectal (**Landi et al. 2003**) y de la predisposición a la aterosclerosis (**Jenny et al. 2002**). Aunque en el primer estudio mencionado, la probabilidad de riesgo reportada fue baja (RM=1.53), los autores mencionaron e interpretaron la asociación como significativa. En otro estudio, se determinó que la presencia del genotipo IL6:c.[-237CC] (también relacionado con la producción discreta de IL-6), se asoció con el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2 en individuos con un índice de masa corporal  $>28\text{kg/m}^2$  (**Mohlig et al. 2004**). Una posible explicación de que el genotipo y alelo relacionados con la baja producción de la citocina se encuentren asociados con las enfermedades anteriores, podría ser que los procesos patológicos específicos de las mismas, se acentúen en presencia de concentraciones discretas de la citocina. De lo contrario, otras posibilidades interpretativas tendrían que ser exploradas más a fondo.

En un estudio se determinó que los individuos portadores del alelo IL8:c.[-352A], asociado con una baja producción de IL-8, presentaron una disminución en la susceptibilidad al cáncer colorectal en

comparación a portadores del alelo IL8:c.[-352T] (**Landi et al. 2003**). En relación a las variaciones del gen IL10, en un estudio se reportó que mientras que la variación IL10:c.-854T>C no influyó en la susceptibilidad a padecer colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn, los portadores del alelo IL10:c.[-1117G] presentaron un riesgo mayor a padecer dichas enfermedades que los portadores del alelo IL10:c.[-1117A] (RM=3.18) (**Fernandez et al. 2005**). Por otro lado, en un reporte de las asociaciones de la variación IL12B:c.\*159A>C con las inmunodeficiencias variables comunes, se determinó que dicha variación no influía en la susceptibilidad o riesgo a padecer ese grupo de enfermedades (**Martinez-Pomar et al. 2006**); sin embargo, en otro reporte se determinó que el genotipo heterocigoto IL12B:c.[\*159AC] se asociaba significativamente con la severidad de asma, pero no al riesgo de padecer la enfermedad, y que dicho genotipo disminuía la producción de IL-12 p70 y la transcripción de IL-12 p40, en comparación a los genotipos homocigotos IL12B:c.[\*159AA] e IL12B:c.[\*159CC] (**Morahan et al. 2002**). En otros reportes, los alelos y genotipos de la variación LTA:c.131+90A>G, no se asociaron significativamente con infarto al miocardio (**Padovani et al. 2000**), asma en niños mexicanos (**Wu et al. 2007**), ni fibrosis pulmonar idiopática (**Pantelidis et al. 2001**).

La búsqueda de asociaciones entre la variación TNF:c.-488G>A y diversas de enfermedades, ha sido de las más extensamente reportadas en la literatura relativa a variaciones de tipo SNP, debido al papel primordial que tiene la citocina TNF en los procesos inflamatorios. Sin embargo, esta variación es particular, en el sentido de que el genotipo TNF:c.[-488AA], asociado con una mayor producción de TNF, parece estar presente en un porcentaje extremadamente bajo en las diferentes poblaciones del mundo (<10%). Por lo tanto, a pesar de que algunas asociaciones con enfermedades han sido reportadas, éstas son poco frecuentes. En diversos estudios, dicha variación genética, no presentó asociaciones significativas con la predisposición y riesgo a padecer

infarto al miocardio (**Padovani et al. 2000**), síndrome de resistencia a la insulina (**Furuta et al. 2002**, **Rasmussen et al. 2000**, **Walston et al. 1999**), cáncer colorectal (**Landi et al. 2003**), enfermedad hepática alcohólica (**Grove et al. 1997**), fibrosis pulmonar idiopática (**Pantelidis et al. 2001**) ni embolia cerebral pediátrica (**Karahan et al. 2005**). Sin embargo, algunos estudios han reportado asociaciones significativas del alelo TNF:c.[-488A] tanto con el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2 en pacientes con enfermedad coronaria (RM=2.86 a 4.29) (**Vendrell et al. 2003**) y asma en pacientes pediátricos (RR=2.06 a 2.21) (**Wu et al. 2007**), como con la severidad de la silicosis en individuos de raza negra de Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**), entre otros. En contraste, en un estudio de mestizos mexicanos, se determinó que el genotipo TNF:c.[-488GG], se asoció significativamente con la presencia de niveles elevados de triglicéridos y colesterol en sangre, y de niveles bajos de lípidos de alta densidad (HDL) (**Parra-Rojas et al. 2006**).

En relación a las enfermedades periodontales, los estudios de variaciones genéticas se han concentrado principalmente en la familia de genes de IL1. Esto es debido, por lo menos en parte, a la amplia difusión de los resultados de los estudios que sustentaron científicamente la comercialización de la prueba PST™, descrita extensamente en la introducción del presente trabajo. Por lo tanto, a la fecha se tiene un entendimiento pobre y limitado de la diversidad de los factores genéticos que pudieran afectar los mecanismos de destrucción periodontal. Como se mencionó con anterioridad, los procesos inflamatorios (activados por una infección) son la base fundamental de la patogenia de las enfermedades periodontales. Este mecanismo patogénico es similar al de otras enfermedades sistémicas como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa, así como al de otras enfermedades cuyo activador no es necesariamente la infección, pero en las que la magnitud de los procesos inflamatorios es responsable de las alteraciones que se presentan. Algunas de tales enfermedades son la artritis juvenil, el asma, la enfermedad de

Graves, el lupus eritematoso y la enfermedad de Sjögren, entre otras. En los textos anteriores, se mencionaron sólo algunos de los múltiples estudios en los que se ha demostrado que la predisposición y riesgo a la mayoría de las enfermedades sistémicas citadas, están relacionados con la presencia de diversas variaciones en genes que codifican para citocinas inflamatorias no pertenecientes a la familia de la IL-1, como TNF, LTA, IL-8, IL-10, IL-6 e IL-12. De ahí que, es razonable suponer que si la patogenia de dichas enfermedades es similar a la de las enfermedades periodontales, los determinantes genéticos de predisposición y riesgo, también pudieran serlo. En la literatura reciente, se han publicado estudios en los que se ha comenzado a explorar esta posibilidad.

Varios estudios han reportado análisis de las posibles asociaciones entre la variación IL6:c.-237C>G y los diferentes estados de salud periodontal en sujetos de diferentes poblaciones. La mayoría de dichos estudios determinaron que los individuos portadores del genotipo IL6:c.[-237GG], asociado con la sobreproducción de IL-6, tuvieron un mayor riesgo de padecer enfermedad periodontal. En un estudio de 84 sujetos brasileños, se reportó que los portadores del genotipo IL6:c.[-237GG] presentaron 3 veces mayor riesgo de padecer periodontitis crónica generalizada (**Trevilatto et al. 2003**). Similarmente, en otro estudio en el que se analizó esta misma variación en otra población brasileña de sujetos con periodontitis severa, periodontitis moderado y salud periodontal, se determinó que el genotipo IL6:c.[-237CC] estaba relacionado con una menor producción de IL-6, y que dicho genotipo se presentó con mayor frecuencia en individuos periodontalmente sanos y con periodontitis moderada que en sujetos con periodontitis severa (**Moreira et al. 2007**). Así mismo, se ha reportado que los portadores caucásicos del genotipo IL6:c.[-237GG] en el Reino Unido, presentaban una mayor susceptibilidad de padecer enfermedad periodontal que los no-portadores (**Nibali et al. 2009**). Los resultados del presente estudio confirman los de dichos

estudios. En la población mexicana, cuando los alelos y genotipos de la variación IL6:c.-237C>G fueron analizados individualmente, se determinó que los portadores del alelo IL6:c.[-237G] tuvieron 2.08 veces mayor probabilidad de riesgo de presentar cualquiera de las dos formas de enfermedad periodontal (PCG o PAG). Incluso, el alelo IL6:c.[-237G] formó parte de la composición de los cuatro haplotipos incluidos en los perfiles aditivos identificados como marcadores de la PAG en la población mexicana.

Una de las variaciones genéticas que pareció tener mayor relevancia en cuanto a la susceptibilidad y riesgo a las enfermedades periodontales en la población mexicana, fue IL8:c.-352A>T. En los análisis individuales, se determinó que los portadores del alelo IL8:c.[-352T] tuvieron un riesgo 3.9 veces mayor de presentar PAG que de padecer PCG. Adicionalmente, dicho alelo formó parte de la composición de los cuatro haplotipos incluidos en los perfiles aditivos identificados como marcadores de la PAG. Desafortunadamente, estos hallazgos no pudieron ser comparados con los de otros estudios, debido a que no se encontraron publicaciones en las que se reportara esta variación en relación a las enfermedades periodontales.

En estudios de sujetos con PCG y PAG, realizados en Alemania (Gonzales *et al.* 2002) y Japón (Yamazaki *et al.* 2001), no se encontraron evidencias de que las variaciones IL10:c.-627T>G, IL10:c.-854T>C e IL10:c.-1117A>G estuvieran relacionadas con la susceptibilidad o riesgo de las enfermedades mencionadas. Similarmente, en un estudio longitudinal realizado en Australia, no se encontraron asociaciones de las variaciones IL10:c.-627T>G e IL10:c.-1117A>G, con la enfermedad periodontal (Cullinan *et al.* 2008). Sin embargo, se determinó que los individuos portadores de ciertos haplotipos de dichas variaciones, presentaban una 20% menor número de sitios con profundidad de bolsa  $\geq 4$  mm. En un estudio de la población brasileña, se reportaron resultados muy similares a los del presente estudio en relación a las asociaciones de las variaciones en el gen

IL10 con la enfermedad periodontal (Scarel-Caminaga *et al.* 2004). En el estudio mencionado, se determinó que individualmente los genotipos heterocigotos IL10:c.[-627TG] e IL10:c.[-854TC], se asociaron significativamente con la enfermedad periodontal (IL10:c.[-627TG] RM de 2.4 a 3.38, IL10:c.[-854TC] RM de 3.04 a 4.13). Así mismo, se reportó que las mujeres portadoras del haplotipo IL10:c.[-627G]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A], presentaban 2.57 veces mayor probabilidad de riesgo de padecer enfermedad periodontal. En el presente estudio, se determinó que los alelos y genotipos IL10:c.[-627G], IL10:c.[-627TG], IL10:c.[-854TC], IL10:c.[-854C] e IL10:c.[-1117A]; analizados individualmente, aumentaron el riesgo de individuos de 1.77 a 4.31 veces de presentar PCG y/o PAG. Así mismo, todos los alelos y genotipos anteriores, exceptuando el alelo IL10:c.[-627G], fueron componentes esenciales de los haplotipos incluidos en los perfiles aditivos identificados como marcadores de la PAG en la población mexicana.

En un estudio de 124 individuos alemanes con PCG y PAG, se determinó que no existía una correlación entre la variación IL12B:c.\*159A>C y los dos tipos de enfermedad periodontal analizados (**Reichert *et al.* 2008**). En contraste, en el presente estudio se determinó que los sujetos portadores del genotipo heterocigoto IL12B:c.[\*159AC] analizado de forma individual, presentaron un aumento en el riesgo de padecer PAG. Este genotipo formó parte de uno de los haplotipos incluidos en el perfil aditivo identificado como marcador de la PAG. Es de interés destacar que, como se mencionó en los textos anteriores, algunos estudios han sugerido que el genotipo heterocigoto provoca una disminución importante en la secreción de IL-12 p70 y en la transcripción de IL-12 p40, con respecto a los genotipos homocigotos de la variación (**Morahan *et al.* 2002, Peng *et al.* 2006**). La discrepancia entre los resultados de la presente investigación y los reportados para la población alemana, podrían estar relacionados, por lo menos en parte, con las

diferencias generales en la distribución de frecuencias de variaciones genéticas entre las poblaciones de México y Alemania, que fueron descritas anteriormente.

Las variaciones TNF:c.-488G>A y LTA:c.131+90A>G, también han sido reportadas en estudios de asociación con la enfermedad periodontal. En una población china se encontró que el alelo TNF:c.[-488A], asociado con la sobreproducción de TNF, se relacionaba con la periodontitis crónica (**Lin et al. 2003**). En una población checa, se reportó no haber encontrado una asociación de la variación TNF:c.-488G>A con la PCG, pero que los portadores del genotipo LTA:c.[-131+90GG], exhibían una disminución en el riesgo de padecer la enfermedad (**Fassmann et al. 2003**). En un estudio realizado en Alemania, a pesar de no haber encontrado asociaciones de la variación TNF:c.-488G>A con la PCG o la PAG, se determinó que los individuos portadores del genotipo TNF:c.[-488GG] tenían una mayor probabilidad de presentar colonización subgingival de *Prevotella intermedia* (RM=2), una de las principales especies bacterianas involucradas en la etiología de las enfermedades periodontales (**Schulz et al. 2008**). Interesantemente, en los análisis de alelos y genotipos individuales del presente estudio, se determinó que los individuos mexicanos portadores del genotipo TNF:c.[-488GG], no relacionado con la sobreproducción de TNF, presentaron un aumento discreto en la probabilidad de riesgo de padecer enfermedad periodontal (RM=1.53), en comparación con los sujetos portadores de los otros genotipos. Así mismo, los individuos portadores del genotipo LTA:c.[-131+90AA] exhibieron de 1.76 a 1.82 veces mayor probabilidad de riesgo de presentar PAG. En relación a los cuatro haplotipos incluidos en los perfiles aditivos identificados como marcadores de la PAG en la población mexicana; uno de ellos incluyó en su composición al genotipo LTA:c.[-131+90AA], y tres de ellos al genotipo TNF:c.[-488GG].

A pesar de que el ejercicio de comparar los resultados del presente estudio con los de estudios previos es interesante, cabe señalar algunas de las dificultades que se encontraron al tratar de interpretar las similitudes y diferencias detectadas. Los autores suelen proporcionar una interpretación personal de sus hallazgos, derivada de los resultados de las pruebas estadísticas empleadas y los indicadores seleccionados para determinar asociaciones y estimaciones de riesgo. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios publicados, en particular aquellos relacionados con las enfermedades periodontales, utilizan como indicadores para determinar la relevancia de variaciones genéticas sobre la susceptibilidad de individuos a las enfermedades; únicamente la razón de momios y la significancia de pruebas comparativas de las frecuencias entre casos y controles. Mientras que los resultados de tales pruebas son importantes, en el presente estudio, se consideró que no deben ser empleadas como los únicos indicadores para determinar la habilidad de variaciones genéticas para marcar enfermedades. Dichos indicadores son insuficientes y resultan en conclusiones e interpretaciones inexactas mientras que no se les considere como parte de una evaluación más robusta que incluya adicionalmente a otros indicadores de igual o mayor importancia. Tales indicadores incluyen la sensibilidad, especificidad, exactitud, índice de falsos positivos y negativos, riesgo relativo, valores predictivos positivos y negativos, así como indicadores simples, tales como el porcentaje de portadores observado en los casos y controles. A continuación se proporciona un ejemplo que ilustra la relevancia del comentario anterior. Considérese una población compuesta por 27 casos y 42 controles, en la que 7 de los casos y 2 de los controles son portadores de una variación determinada. La significancia de la diferencia en las frecuencias observadas entre casos y control es de  $p < 0.01$  y la probabilidad de riesgo (razón de momios) para los casos es de 7.0. Considerando únicamente estos indicadores, se podría concluir equivocadamente que la variación es un buen marcador de la enfermedad. Sin embargo, en este ejemplo el 26% de los casos y el 5% de los controles son portadores de la

variación. Esto resulta en un marcador con una especificidad muy alta de 95% pero con una sensibilidad de únicamente el 26%. Así mismo, mientras que en este ejemplo, la utilización de la variación como marcador de los casos resultaría en una prueba con un índice muy bajo de falsos positivos (5%), el índice de falsos negativos sería de 74%, esto quiere decir que en aproximadamente el 75% de los casos, la prueba marcaría erróneamente a los casos como controles. Considerando todos los indicadores anteriores, es claro que la habilidad general de la variación como marcador es mala.

En el presente estudio, todos los indicadores anteriormente mencionados fueron considerados en las evaluaciones tanto de alelos y genotipos individuales como de haplotipos y perfiles aditivos. Por lo tanto, a pesar de que algunos alelos y genotipos individuales presentaron razones de momios relativamente altas y las diferencias en las frecuencias observadas fueron estadísticamente significativas entre casos y controles; dentro de los estándares interpretativos empleados, ninguno fue considerado como un marcador aceptable cuando se analizaron de forma individual. De ahí que, se procedió a explorar la posibilidad de que los haplotipos y posteriormente los perfiles aditivos exhibieran una mejor habilidad diagnóstica y predictiva. Con la utilización del modelo de análisis empleado, se logró este objetivo. De manera general, en los análisis individuales, el alelo IL10:c.[-854C] presentó la mejor capacidad para marcar el grupo PAG y separarlo del grupo SP, con SNS=81%, ESP=33%, EXC=52%, IFP=67%, IFN=19%, VPP=44%, VPN=74%, M-W  $p=0.18$ , Fisher  $p=0.27$ , RR=1.22 y RM=2.20. Sin embargo, las mismas cifras para el haplotipo que mejor marcó y separó a dichos grupos de estudios fueron SNS=52%, ESP=85%, EXC=72%, IFP=15%, IFN=48%, VPP=70%, VPN=73%, M-W  $p=0.001$ , Fisher  $p=0.002$ , RR=3.54 y RM=6.28. Tales indicadores fueron aun mejores para el perfil aditivo (SNS=78%, ESP=78%, EXC=78%, IFP=22%, IFN=22%, VPP=70%, VPN=84%, M-W  $p=0.000$ , Fisher  $p=0.000$ , RR=3.54 y

RM=12.44). Esto hace patente, la magnitud de lo limitados e insuficientes que resultan los análisis exclusivamente de variaciones individuales, y podría ser el reflejo de la complejidad en las interacciones entre múltiples variaciones genéticas. Este es un tema que merece mayor profundización en estudios futuros.

La clasificación actual de las enfermedades periodontales considera a la periodontitis crónica generalizada y a la periodontitis agresiva generalizada como dos tipos diferentes de enfermedad (**Armitage 1999a**), y mientras que es razonable asumir que de hecho son entidades patológicas distintas, en estudios transversales, la tarea de separar sujetos con PAG y PCG en grupos que carezcan de traslape, es un reto complicado. En la clasificación vigente, se enfatiza que el diagnóstico de estas dos formas de enfermedad periodontal no debe basarse en su ritmo de progresión ni en la edad de los sujetos. Sin embargo, la periodontitis agresiva se definió como una enfermedad caracterizada por la pérdida rápida de inserción y hueso, que se presenta generalmente en individuos menores de 30 años de edad con destrucción episódica pronunciada. Así mismo, la periodontitis crónica fue definida como una enfermedad que se presenta generalmente en adultos con un ritmo de progresión lento o moderado. Una de las contradicciones más notables en la clasificación vigente de las enfermedades periodontales es que para diagnosticar y clasificar individuos de acuerdo con las características anteriores, es indispensable considerar tanto la edad como el ritmo de progresión de la enfermedad.

Una complicación adicional en estudios transversales, es la falta de medios para determinar el momento de inicio de la enfermedad ni su ritmo de progresión. Además, a pesar de que la naturaleza episódica de las enfermedades periodontales está ampliamente demostrada, a la fecha, se carece de marcadores u otros mecanismos para identificar con certeza los periodos de actividad de la enfermedad cuando un individuo se evalúa en una sola ocasión. Por lo tanto, en

estudios transversales, el diagnóstico y clasificación de sujetos sólo pueden basarse en las características clínicas observadas en el momento de la evaluación. De ahí que, mientras que es altamente improbable que la PAG sea mal diagnosticada cuando en este grupo se incluyen únicamente sujetos menores de 30 años que presentan destrucción periodontal severa y extensa; es imposible determinar qué proporción de los individuos clasificados en grupos de PCG, son o fueron en realidad sujetos con PAG que están siendo evaluados después de los 30 años de edad. Este traslape de sujetos con PAG en los grupos PCG, que es inherente a todos los estudios transversales, incluyendo la presente investigación, representa un problema importante no sólo para el diagnóstico clínico, sino que también para dilucidar en estudios científicos las características etiológicas, genéticas e inmunológicas particulares de la PCG (**Boughman *et al.* 1988, Potter 1989, Robertson & DeRouen 2002, Taba *et al.* 2005**).

## CONCLUSIONES

En la presente investigación, se describieron las distribuciones de frecuencias alélicas y genotípicas de 8 variaciones de tipo SNP en genes que codifican para citocinas inflamatorias, en sujetos mexicanos sistémicamente sanos con periodontitis crónica generalizada, periodontitis agresiva generalizada y salud periodontal. Las frecuencias detectadas fueron comparadas con aquellas reportadas por diversos grupos de investigación para otras poblaciones de sujetos mexicanos, así como para individuos de diferentes razas y regiones geográficas del mundo.

En términos generales, la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas, fue similar a la descrita para otras poblaciones de mestizos mexicanos, así como para turcos, individuos de raza negra y asiáticos, principalmente de Japón y Corea. Las poblaciones que parecieron ser menos similares genéticamente a la población mexicana, fueron las de individuos caucásicos de países de América como E.U. y Brasil, y de países de Europa como Finlandia, Alemania, Escocia, Inglaterra, Austria, Italia, España y Dinamarca.

Por otra parte, se presentó el diseño e implementación de un nuevo modelo matemático desarrollado para identificar y evaluar haplotipos aditivos complejos en estudios de tipo caso-control. Se demostró que la aplicación de dicho modelo, permitió considerar en los análisis, la influencia de alelos y genotipos individuales de diferentes variaciones genéticas, en el contexto de su aportación como parte de haplotipos de una gama de variaciones en diferentes genes que codifican para proteínas con funciones similares.

Utilizando el modelo de análisis propuesto, se identificaron dos haplotipos aditivos con habilidad para marcar específicamente al grupo PAG, y separarlo de los grupos PCG y SP. Dichos haplotipos incluyeron en su composición algunos alelos y genotipos individuales que mostraron poca

relevancia al ser analizados como entidades independientes utilizando estadísticas simples. Por lo tanto, de no haber utilizado el modelo propuesto, no hubiera sido posible identificar el efecto de dichos alelos y genotipos sobre la susceptibilidad y riesgo a la PAG.

Si los resultados del presente estudio pueden ser confirmados en el futuro por investigaciones independientes, la implicación de mayor trascendencia de los hallazgos aquí presentados sería que los marcadores genéticos identificados, podrían emplearse como una herramienta no sólo para determinar la predisposición y riesgo de individuos periodontalmente sanos a desarrollar PAG; sino que también para diagnosticar correctamente el tipo de enfermedad en sujetos con periodontitis. Hasta donde conocemos, esta es la primera propuesta de un auxiliar de diagnóstico genético periodontal con dichas capacidades, que sería de utilidad tanto para la práctica clínica como para la investigación científica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham LJ, Kroeger KM. Impact of the -308 TNF promoter polymorphism on the transcriptional regulation of the TNF gene: relevance to disease. *J Leukoc Biol* **1999**; 66(4): 562-566.
- Al-Rasheed A, Scheerens H, Rennick DM, Fletcher HM, Tatakis DN. Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10. *J Dent Res* **2003**; 82(8): 632-635.
- Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol* **2000**; 29(177-206).
- Altman LC, Baker C, Fleckman P, Luchtel D, Oda D. Neutrophil-mediated damage to human gingival epithelial cells. *J Periodontal Res* **1992**; 27(1): 70-79.
- Ammons WF, Schectman LR, Page RC. Host tissue response in chronic periodontal disease. 1. The normal periodontium and clinical manifestations of dental and periodontal disease in the marmoset. *J Periodontal Res* **1972**; 7(2): 131-143.
- Araya AV, Pavez V, Perez C, *et al.* 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* **2003**; 14(3): 128-133.
- Armitage G. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* **1999a**; 4(1): 1-6.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* **1999b**; 4(1): 1-6.
- Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol* **2000a**; 71(2): 164-171.

- Armitage GC, Wu Y, Wang HY, Sorrell J, di Giovine FS, Duff GW. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol* **2000b**; 71(2): 164-171.
- Arregui I, Guisasola C, Menendez M, *et al.* IL-1 genotype distribution in a periodontally diseased population in Spain. *J Clin Periodontol* **2000**; 27(86).
- Basso F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE. Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2002**; 22(4): 599-604.
- Bioque G, Bouma G, Crusius JB, *et al.* Evidence of genetic heterogeneity in IBD: 1. The interleukin-1 receptor antagonist in the predisposition to suffer from ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **1996**; 8(2): 105-110.
- Bioque G, Crusius JB, Koutroubakis I, *et al.* Allelic polymorphism in IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* **1995**; 102(2): 379-383.
- Blakemore AI, Tarlow JK, Cork MJ, Gordon C, Emery P, Duff GW. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **1994**; 37(9): 1380-1385.
- Blakemore AI, Watson PF, Weetman AP, Duff GW. Association of Graves' disease with an allele of the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Clin Endocrinol Metab* **1995**; 80(1): 111-115.
- Bonilla C, Gutierrez G, Parra EJ, Kline C, Shriver MD. Admixture analysis of a rural population of the state of Guerrero, Mexico. *Am J Phys Anthropol* **2005**; 128(4): 861-869.
- Boughman JA, Beaty TH, Yang P, Goodman SB, Wooten RK, Suzuki JB. Problems of genetic model testing in early onset periodontitis. *J Periodontol* **1988**; 59(5): 332-337.

Brooker RJ. *Genetics : analysis & principles*. Boston: McGraw-Hill Higher Education; **2005**: xxii, 842 p.

Buchs N, di Giovine FS, Silvestri T, Vannier E, Duff GW, Miossec P. IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes Immun* **2001**; 2(4): 222-228.

Caffesse RG, De LaRosa MR, De LaRosa MG, Mota LF. Prevalence of interleukin 1 periodontal genotype in a Hispanic dental population. *Quintessence Int* **2002**; 33(3): 190-194.

Cobb CM, Singla O, Feil PH, Theisen FC, Schultz RE. Comparison of NK-cell (Leu-7+ and Leu-11b+) populations in clinically healthy gingiva, chronic gingivitis and chronic adult periodontitis. *J Periodontal Res* **1989**; 24(1): 1-7.

Corbett EL, Mozzato-Chamay N, Butterworth AE, *et al*. Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter may predispose to severe silicosis in black South African miners. *Am J Respir Crit Care Med* **2002**; 165(5): 690-693.

Cork MJ, Tarlow JK, Blakemore AI, *et al*. Psoriasis and interleukin-1. A translation. *J R Coll Physicians Lond* **1993**; 27(4): 366.

Cozen W, Gill PS, Ingles SA, *et al*. IL-6 levels and genotype are associated with risk of young adult Hodgkin lymphoma. *Blood* **2004**; 103(8): 3216-3221.

Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, *et al*. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. *J Clin Periodontol* **2001**; 28(12): 1137-1144.

Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, *et al*. Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. *J Periodontal Res* **2008**; 43(3): 328-333.

- Chapple CC, Srivastava M, Hunter N. Failure of macrophage activation in destructive periodontal disease. *J Pathol* **1998**; 186(3): 281-286.
- Duff GW. Evidence for genetic variation as a factor in maintaining health. *Am J Clin Nutr* **2006**; 83(2): 431S-435S.
- Fassmann A, Holla LI, Buckova D, Vasku A, Znojil V, Vanek J. Polymorphisms in the +252(A/G) lymphotoxin-alpha and the -308(A/G) tumor necrosis factor-alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population. *J Periodontol Res* **2003**; 38(4): 394-399.
- Fernandez L, Martinez A, Mendoza JL, *et al.* Interleukin-10 polymorphisms in Spanish patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* **2005**; 11(8): 739-743.
- Fishman D, Faulds G, Jeffery R, *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* **1998**; 102(7): 1369-1376.
- Furuta M, Yano Y, Ito K, *et al.* Relationship of the tumor necrosis factor-alpha -308 A/G promoter polymorphism with insulin sensitivity and abdominal fat distribution in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* **2002**; 56(2): 141-145.
- Galbraith GM, Hagan C, Steed RB, Sanders JJ, Javed T. Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J Periodontol* **1997**; 68(9): 832-838.
- Galbraith GM, Steed RB, Sanders JJ, Pandey JP. Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *J Periodontol* **1998**; 69(4): 428-433.
- Garcia-Ita RE. Los árabes de México. Asimilación y herencia cultural. *CONfines* **2005**; 1(107-109).
- Genco RJ. Periodoncia. In. México, D.F.: Interamericana McGraw-Hill, **1993**.

- Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* **1996**; 67(10 Suppl): 1041-1049.
- Gonzales JR, Herrmann JM, Boedeker RH, Francz PI, Biesalski H, Meyle J. Concentration of interleukin-1beta and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* **2001**; 28(6): 544-549.
- Gonzales JR, Michel J, Diете A, Herrmann JM, Bodeker RH, Meyle J. Analysis of genetic polymorphisms at the interleukin-10 loci in aggressive and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **2002**; 29(9): 816-822.
- Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent* **2004**; 32(7): 511-520.
- Graves DT, Oskoui M, Volejnikova S, *et al.* Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. *J Dent Res* **2001**; 80(10): 1875-1879.
- Greenstein G, Hart TC. Clinical utility of a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis: a critical evaluation. *J Am Dent Assoc* **2002**; 133(4): 452-459; quiz 492-453.
- Greisenegger S, Endler G, Haering D, *et al.* The (-174) G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with the severity of acute cerebrovascular events. *Thromb Res* **2003**; 110(4): 181-186.
- Grenier D, Mayrand D. Cytotoxic effects of culture supernatants of oral bacteria and various organic acids on Vero cells. *Can J Microbiol* **1985**; 31(3): 302-304.
- Griffiths AJF, Wessler SR, Lewontin, Richard C., Carroll, Sean B. *An Introduction to Genetic Analysis*. New York: W. H. Freeman; **2000**.

- Grove J, Daly AK, Bassendine MF, Day CP. Association of a tumor necrosis factor promoter polymorphism with susceptibility to alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* **1997**; 26(1): 143-146.
- Haber J. Cigarette smoking: a major risk factor for periodontitis. *Compendium* **1994**; 15(8): 1002, 1004-1008 passim; quiz 1014.
- Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol* **1993**; 64(1): 16-23.
- Hacker UT, Bidlingmaier C, Gomolka M, *et al.* Inflammatory bowel disease: no association between allele combinations of the interleukin (IL) I beta and IL-I receptor antagonist gene polymorphisms. *Eur J Clin Invest* **1998**; 28(3): 214-219.
- Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. *J Clin Periodontol* **1983**; 10(3): 298-310.
- Hart TC. Genetic risk factors for early-onset periodontitis. *J Periodontol* **1996**; 67( 355-366.
- Hart TC, Shapira L. Papillon-Lefevre syndrome. *Periodontol 2000* **1994**; 6(88-100.
- Hart TCea. Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* **1994**; 65(5 Suppl): 521-529.
- Hassan MI, Aschner Y, Manning CH, Xu J, Aschner JL. Racial differences in selected cytokine allelic and genotypic frequencies among healthy, pregnant women in North Carolina. *Cytokine* **2003**; 21(1): 10-16.
- Hassell TM, Harris EL. Genetic influences in caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* **1995**; 6(4): 319-342.

- Heinzmann A, Ahlert I, Kurz T, Berner R, Deichmann KA. Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL8 on bronchial asthma and respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Allergy Clin Immunol* **2004**; 114(3): 671-676.
- Hellden L, Lindhe J. Enhanced emigration of crevicular leukocytes mediated by factors in human dental plaque. *Scand J Dent Res* **1973**; 81(2): 123-129.
- Heresbach D, Alizadeh M, Dabadie A, *et al.* Significance of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genetic polymorphism in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* **1997**; 92(7): 1164-1169.
- Hinds DA, Stuve LL, Nilsen GB, *et al.* Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations. *Science* **2005**; 307(5712): 1072-1079.
- Hoag PM. *Fundamentos de Periodoncia*. St. Louis: Mosby, Co.; **1990**.
- Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, *et al.* Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am J Transplant* **2002**; 2(6): 560-567.
- Honig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increased interleukin-1 beta (IL-1 beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodontal Res* **1989**; 24(6): 362-367.
- Huang D, Cancilla MR, Morahan G. Complete primary structure, chromosomal localisation, and definition of polymorphisms of the gene encoding the human interleukin-12 p40 subunit. *Genes Immun* **2000**; 1(8): 515-520.
- Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A, Hurme M. Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology (Oxford)* **2001**; 40(6): 656-661.

INEGI. Los extranjeros en México. **2007**;

Irfan UM, Dawson DV, Bissada NF. Epidemiology of periodontal disease: a review and clinical perspectives. *J Int Acad Periodontol* **2001**; 3(1): 14-21.

Iwasaki K, Komaki M, Mimori K, Leon E, Izumi Y, Ishikawa I. IL-6 induces osteoblastic differentiation of periodontal ligament cells. *J Dent Res* **2008**; 87(10): 937-942.

Jenny NS, Tracy RP, Ogg MS, *et al.* In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G>C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2002**; 22(12): 2066-2071.

Jouvenne P, Chaudhary A, Buchs N, Giovine FS, Duff GW, Miossec P. Possible genetic association between interleukin-1alpha gene polymorphism and the severity of chronic polyarthritis. *Eur Cytokine Netw* **1999**; 10(1): 33-36.

Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* **1999**; 20(12): 561-567.

Kamma JJ, Giannopoulou C, Vasdekis VG, Mombelli A. Cytokine profile in gingival crevicular fluid of aggressive periodontitis: influence of smoking and stress. *J Clin Periodontol* **2004**; 31(10): 894-902.

Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y, Mitani H. Periodontal ligament cells under mechanical stress induce osteoclastogenesis by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand up-regulation via prostaglandin E2 synthesis. *J Bone Miner Res* **2002**; 17(2): 210-220.

Karahan ZC, Deda G, Sipahi T, Elhan AH, Akar N. TNF-alpha -308G/A and IL-6 -174 G/C polymorphisms in the Turkish pediatric stroke patients. *Thromb Res* **2005**; 115(5): 393-398.

- Katila H, Hanninen K, Hurme M. Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* **1999**; 4(2): 179-181.
- Kawai T, Eisen-Lev R, Seki M, Eastcott JW, Wilson ME, Taubman MA. Requirement of B7 costimulation for Th1-mediated inflammatory bone resorption in experimental periodontal disease. *J Immunol* **2000**; 164(4): 2102-2109.
- Kjeldsen M, Holmstrup P, Lindemann RA, Bendtzen K. Bacterial-stimulated cytokine production of peripheral mononuclear cells from patients of various periodontitis categories. *J Periodontol* **1995**; 66(2): 139-144.
- Knight JC. Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. *J Mol Med* **2005**; 83(2): 97-109.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, *et al.* The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* **1997**; 24(1): 72-77.
- Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* **1998**; 3(1): 327-338.
- Kornman KS, Duff GW. Detecting genetic predisposition to periodontal disease. In: *United States Patent Office*. United States: 5,686,246, **1997**.
- Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des* **2001**; 7(8): 613-635.
- Kubistova Z, Mrazek F, Tudos Z, *et al.* Distribution of 22 cytokine gene polymorphisms in the healthy Czech population. *Int J Immunogenet* **2006**; 33(4): 261-267.

- Laine ML, Farre MA, Gonzalez G, *et al.* Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res* **2001**; 80(8): 1695-1699.
- Landi S, Moreno V, Gioia-Patricola L, *et al.* Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor alpha, NFKB1, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma with colorectal cancer. *Cancer Res* **2003**; 63(13): 3560-3566.
- Lang NP, Tonetti MS, Suter J, Sorrell J, Duff GW, Kornman KS. Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population. *J Periodontol Res* **2000**; 35(2): 102-107.
- Lappin DF, Koulouri O, Radvar M, Hodge P, Kinane DF. Relative proportions of mononuclear cell types in periodontal lesions analyzed by immunohistochemistry. *J Clin Periodontol* **1999**; 26(3): 183-189.
- Lavine WS, Page RC, Padgett GA. Host response in chronic periodontal disease. V. The dental and periodontal status of mink and mice affected by Chediak-Higashi syndrome. *J Periodontol* **1976**; 47(11): 621-635.
- Lazarus M, Hajeer AH, Turner D, *et al.* Genetic variation in the interleukin 10 gene promoter and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* **1997**; 24(12): 2314-2317.
- Lin L, Pan YP, Yin LY. Study on the correlation of cytokine gene polymorphism with chronic periodontitis. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* **2003**; 12(6): 456-459.
- Lindhe J. *Periodontología Clínica*. Buenos Aires, Argentina: **Médica-Panamericana**; **1992**.
- Lindhe J, Haffajee AD, Socransky SS. Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J Clin Periodontol* **1983**; 10(4): 433-442.

- Lindhe J, Hamp S, Loe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res* **1973**; 8(1): 1-10.
- Lindhe J, Karring T, Lang P. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Copenhagen, Munksgaard; **1998**.
- Lio D, Scola L, Crivello A, *et al*. Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 -1082 promoter SNP and its interaction with TNF-alpha -308 promoter SNP. *J Med Genet* **2003**; 40(4): 296-299.
- Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* **1986**; 13(5): 431-445.
- Loe H, Wright WH. Gingivectomy. *Odontol Tidskr* **1965**; 73(5): 501-514.
- Martinez-Pomar N, Raga S, Ferrer J, *et al*. Elevated serum interleukin (IL)-12p40 levels in common variable immunodeficiency disease and decreased peripheral blood dendritic cells: analysis of IL-12p40 and interferon-gamma gene. *Clin Exp Immunol* **2006**; 144(2): 233-238.
- Masada MP, Persson R, Kenney JS, Lee SW, Page RC, Allison AC. Measurement of interleukin-1 alpha and -1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* **1990**; 25(3): 156-163.
- Mayrand D, Grenier D. Detection of collagenase activity in oral bacteria. *Can J Microbiol* **1985**; 31(2): 134-138.
- McFarlane CG, Reynolds JJ, Meikle MC. 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* **1990**; 25(4): 207-214.

- Meenagh A, Williams F, Ross OA, *et al.* Frequency of cytokine polymorphisms in populations from western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America. *Hum Immunol* **2002**; 63(11): 1055-1061.
- Meisel P, Kocher T. Risk factors in periodontitis and classifying the disease. *Eur J Oral Sci* **2003**; 111(3): 280-281; author reply 282-283.
- Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol* **2002**; 73(1): 27-32.
- Michalowicz BS. Genetic and inheritance considerations in periodontal disease. *Curr Opin Periodontol* **1993**; 11-17.
- Michalowicz BS. Genetic risk factors for the periodontal diseases. *Compendium* **1994**; 15(8): 1036, 1038, 1040 *passim*.
- Mogi M, Ozeki N, Nakamura H, Togari A. Dual roles for NF-kappaB activation in osteoblastic cells by serum deprivation: osteoblastic apoptosis and cell-cycle arrest. *Bone* **2004**; 35(2): 507-516.
- Mohlig M, Boeing H, Spranger J, *et al.* Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**; 89(4): 1885-1890.
- Morahan G, Huang D, Wu M, *et al.* Association of IL12B promoter polymorphism with severity of atopic and non-atopic asthma in children. *Lancet* **2002**; 360(9331): 455-459.
- Moreira PR, Lima PM, Sathler KO, *et al.* Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol* **2007**; 148(1): 119-126.

- Nemetz A, Nosti-Escanilla MP, Molnar T, *et al.* IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. *Immunogenetics* **1999**; 49(6): 527-531.
- Nibali L, D'Aiuto F, Donos N, *et al.* Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine* **2009**; 45(1): 50-54.
- Okada H, Murakami S. Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med* **1998**; 9(3): 248-266.
- Padovani JC, Pazin-Filho A, Simoes MV, Marin-Neto JA, Zago MA, Franco RF. Gene polymorphisms in the TNF locus and the risk of myocardial infarction. *Thromb Res* **2000**; 100(4): 263-269.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* **1991**; 26(3 Pt 2): 230-242.
- Page RC. Milestones in periodontal research and the remaining critical issues. *J Periodontal Res* **1999**; 34(7): 331-339.
- Page RC, Engel LD, Narayanan AS, Clagett JA. Chronic inflammatory gingival and periodontal disease. *JAMA* **1978**; 240(6): 545-550.
- Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* **1976**; 34(3): 235-249.
- Page RC, Simpson DM, Ammons WF. Host tissue response in chronic inflammatory periodontal disease IV. The periodontal and dental status of a group of aged great apes. *J Periodontol* **1975**; 46(3): 144-155.
- Palma-Mora M. Asociaciones de inmigrantes extranjeros en la Ciudad de México. Una mirada a finales del siglo XX. *Migraciones Internacionales* **2005**; 3(2): 29-57.

- Pandey JP, Takeuchi F. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in systemic sclerosis. *Hum Immunol* **1999**; 60(11): 1128-1130.
- Pantelidis P, Fanning GC, Wells AU, Welsh KI, Du Bois RM. Analysis of tumor necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha, tumor necrosis factor receptor II, and interleukin-6 polymorphisms in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* **2001**; 163(6): 1432-1436.
- Parra-Rojas I, Ruiz-Madrigal B, Martinez-Lopez E, Panduro A. Influence of the -308 TNF-alpha and -174 IL-6 polymorphisms on lipid profile in Mexican subjects. *Hereditas* **2006**; 143(2006): 167-172.
- Peng JC, Abu Bakar S, Richardson MM, *et al.* IL10 and IL12B polymorphisms each influence IL-12p70 secretion by dendritic cells in response to LPS. *Immunol Cell Biol* **2006**; 84(2): 227-232.
- Perez-Soria A, Higashida-Guerrero C, Jacobo-Soto V, Lopez-Hernandez A, Ximenez-Fyvie LA. Distribution of interleukin-1B+3954 and IL-1A-889 polymorphisms in Mexican subjects. *J Dent Res* **2006**; 85(special issue A): Abstract 1106.
- Pola R, Flex A, Gaetani E, Flore R, Serricchio M, Pola P. Synergistic effect of -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and 469 E/K polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene in Italian patients with history of ischemic stroke. *Stroke* **2003**; 34(4): 881-885.
- Potter RH. Etiology of periodontitis: the heterogeneity paradigm. *J Periodontol* **1989**; 60(10): 593-597.
- Preshaw PM, Seymour RA, Heasman PA. Current concepts in periodontal pathogenesis. *Dent Update* **2004**; 31(10): 570-572, 574-578.

Pulendran B, Banchereau J, Maraskovsky E, Maliszewski C. Modulating the immune response with dendritic cells and their growth factors. *Trends Immunol* **2001**; 22(1): 41-47.

Ramfjord SP. *Periodontología y periodoncia*. Buenos Aires, Argentina: Médica-Panamericana; **1982**.

Rasmussen SK, Urhammer SA, Jensen JN, Hansen T, Borch-Johnsen K, Pedersen O. The -238 and -308 G-->A polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha gene promoter are not associated with features of the insulin resistance syndrome or altered birth weight in Danish Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**; 85(4): 1731-1734.

Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, *et al*. Interferon-gamma and interleukin-12 gene polymorphisms and their relation to aggressive and chronic periodontitis and key periodontal pathogens. *J Periodontol* **2008**; 79(8): 1434-1443.

Robertson PB, DeRouen TA. Controversies in periodontology. *Periodontol 2000* **2002**; 30(7-8).

Robertson PB, Grupe HE, Jr., Taylor RE, Shyu KW, Fullmer HM. The effect of collagenase-inhibitor complexes on collagenolytic activity of normal and inflamed gingival tissue. *J Oral Pathol* **1973**; 2(1): 28-32.

Roitt I, Delves PJ. *Inmunología Fundamentos*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana; **2001**.

Sallakci N, Akcurin G, Koksoy S, *et al*. TNF-alpha G-308A polymorphism is associated with rheumatic fever and correlates with increased TNF-alpha production. *J Autoimmun* **2005**; 25(2): 150-154.

Scapoli C, Mamolini E, Trombelli L. Role of IL-6, TNF-A and LT-A variants in the modulation of the clinical expression of plaque-induced gingivitis. *J Clin Periodontol* **2007**; 34(12): 1031-1038.

- Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LE, Line SR. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **2004**; 31(6): 443-448.
- Schenkein HA. Finding genetic risk factors for periodontal diseases: is the climb worth the view? *Periodontol 2000* **2002**; 30(79-90).
- Schlegel Gomez R, Langer P, Pelka M, von den Driesch P, Johannessen AC, Simon M, Jr. Variational expression of functionally different macrophage markers (27E10, 25F9, RM3/1) in normal gingiva and inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol* **1995**; 22(5): 341-346.
- Schotte H, Schluter B, Rust S, Assmann G, Domschke W, Gaubitz M. Interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) in Caucasian German patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* **2001**; 40(4): 393-400.
- Schulz S, Machulla HK, Altermann W, et al. Genetic markers of tumour necrosis factor alpha in aggressive and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **2008**; 35(6): 493-500.
- Shapira L, Borinski R, Sela MN, Soskolne A. Superoxide formation and chemiluminescence of peripheral polymorphonuclear leukocytes in rapidly progressive periodontitis patients. *J Clin Periodontol* **1991**; 18(1): 44-48.
- Smeltz RB, Chen J, Ehrhardt R, Shevach EM. Role of IFN-gamma in Th1 differentiation: IFN-gamma regulates IL-18R alpha expression by preventing the negative effects of IL-4 and by inducing/maintaining IL-12 receptor beta 2 expression. *J Immunol* **2002**; 168(12): 6165-6172.
- Socransky SS, Haffajee AD. Microbial risk factors for destructive periodontal diseases. In: *Risk assessment in dentistry*. Chapel Hill: University of North Carolina, **1990**: 79-90.

- Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* **2000** **1994**; 5(7-25).
- Sorsa T, Suomalainen K, Uitto VJ. The role of gingival crevicular fluid and salivary interstitial collagenases in human periodontal diseases. *Arch Oral Biol* **1990**; 35 Suppl(193S-196S).
- Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser MS, Prostack L, Haffajee AD, Socransky SS. Levels of interleukin 1 beta in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol* **1991a**; 18(7): 548-554.
- Stashenko P, Jandinski JJ, Fujiyoshi P, Rynar J, Socransky SS. Tissue levels of bone resorptive cytokines in periodontal disease. *J Periodontol* **1991b**; 62(8): 504-509.
- Stokkers PC, van Aken BE, Basoski N, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ. Five genetic markers in the interleukin 1 family in relation to inflammatory bowel disease. *Gut* **1998**; 43(1): 33-39.
- Taba M, Jr., Kinney J, Kim AS, Giannobile WV. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am* **2005**; 49(3): 551-571, vi.
- Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am* **2005**; 49(3): 491-516, v.
- Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Crit Rev Oral Biol Med* **2001**; 12(2): 125-135.
- Teng YT. The role of acquired immunity and periodontal disease progression. *Crit Rev Oral Biol Med* **2003**; 14(4): 237-252.
- Terwilliger JD, Goring HH. Gene mapping in the 20th and 21st centuries: statistical methods, data analysis, and experimental design. *Hum Biol* **2000**; 72(1): 63-132.

- Tischendorf JJ, Yagmur E, Scholten D, *et al.* The interleukin-6 (IL6)-174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *Int J Immunogenet* **2007**; 34(6): 413-418.
- Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB, Jr., de Souza AP, Line SR. Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *J Clin Periodontol* **2003**; 30(5): 438-442.
- Tyagi SR, Uhlinger DJ, Lambeth JD, Champagne C, Van Dyke TE. Altered diacylglycerol level and metabolism in neutrophils from patients with localized juvenile periodontitis. *Infect Immun* **1992**; 60(6): 2481-2487.
- Um JY, Kim HM. Frequencies of the tumor necrosis factor gene polymorphisms in the Korean population. *Hereditas* **2003**; 139(3): 184-188.
- Van Dyke TE, Levine MJ, Genco RJ. Neutrophil function and oral disease. *J Oral Pathol* **1985**; 14(2): 95-120.
- Van Dyke TE, Sheilesh D. Risk factors for periodontitis. *J Int Acad Periodontol* **2005**; 7(1): 3-7.
- Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol* **1990**; 8(253-278).
- van Winkelhoff AJ, Bosch-Tijhof CJ, Winkel EG, van der Reijden WA. Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. *J Periodontol* **2001**; 72(5): 666-671.
- Vendrell J, Fernandez-Real JM, Gutierrez C, *et al.* A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor-alpha gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* **2003**; 167(2): 257-264.

- Wada N, Maeda H, Tanabe K, *et al.* Periodontal ligament cells secrete the factor that inhibits osteoclastic differentiation and function: the factor is osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor. *J Periodontol Res* **2001**; 36(1): 56-63.
- Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis* **2000**; 6(3): 138-151.
- Walker SJ, Van Dyke TE, Rich S, Kornman KS, di Giovine FS, Hart TC. Genetic polymorphisms of the IL-1alpha and IL-1beta genes in African- American LJP patients and an African-American control population. *J Periodontol* **2000**; 71(5): 723-728.
- Walston J, Seibert M, Yen CJ, Cheskin LJ, Andersen RE. Tumor necrosis factor-alpha-238 and -308 polymorphisms do not associated with traits related to obesity and insulin resistance. *Diabetes* **1999**; 48(10): 2096-2098.
- Wilson AG, di Giovine FS, Duff GW. Genetics of tumour necrosis factor-alpha in autoimmune, infectious, and neoplastic diseases. *J Inflamm* **1995a**; 45(1): 1-12.
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1997**; 94(7): 3195-3199.
- Wilson ME, Bronson PM, Hamilton RG. Immunoglobulin G2 antibodies promote neutrophil killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* **1995b**; 63(3): 1070-1075.
- Williams RC. Periodontal disease. *N Engl J Med* **1990**; 322(6): 373-382.
- Wu H, Romieu I, Sienra-Monge JJ, *et al.* Parental smoking modifies the relation between genetic variation in tumor necrosis factor-alpha (TNF) and childhood asthma. *Environ Health Perspect* **2007**; 115(4): 616-622.

- Wynne SE, Walsh LJ, Seymour GJ, Powell RN. In situ demonstration of natural killer (NK) cells in human gingival tissue. *J Periodontol* **1986**; 57(11): 699-702.
- Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Moreno-Borjas JY, Alcantara-Maruri E. Subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* **2006a**; 33(12): 869-877.
- Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Sanchez-Vargas LO, Alcantara-Maruri E. Description of the subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects: chronic periodontitis and periodontal health. *J Periodontol* **2006b**; 77(3): 460-471.
- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* **2000**; 27(9): 648-657.
- Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K. IL-4- and IL-6-producing cells in human periodontal disease tissue. *J Oral Pathol Med* **1994**; 23(8): 347-353.
- Yamazaki K, Nakajima T, Hara K. Immunohistological analysis of T cell functional subsets in chronic inflammatory periodontal disease. *Clin Exp Immunol* **1995**; 99(3): 384-391.
- Yamazaki K, Tabeta K, Nakajima T, *et al.* Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* **2001**; 28(9): 828-832.
- Yang IA, Holz O, Jorres RA, *et al.* Association of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms and ozone-induced change in lung function. *Am J Respir Crit Care Med* **2005**; 171(2): 171-176.
- Yang L, Lu R, Jiang L, Liu Z, Peng Y. Expression and genetic analysis of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) G-308A polymorphism in sporadic Alzheimer's disease in a Southern China population. *Brain Res* **2009**; 1247(178-181).

Ye S, Dhillon S, Ke X, Collins AR, Day IN. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res* **2001**; 29(17): E88-88.

Yu C, Zhang S, Zhou C, Sile S. A likelihood ratio test of population Hardy-Weinberg equilibrium for case-control studies. *Genet Epidemiol* **2008**;

## TABLAS

**Tabla 1.** Descripción de la población de estudio ( $n=127$ ).

	PCG $n=58$		PAG $n=27$		EP ( $n=85$ )		SP $n=42$	
	Media $\pm$ EEM	Rango						
Edad (años)	47.6 $\pm$ 1.2	35 - 75	22.7 $\pm$ 0.9	12 - 29	39.7 $\pm$ 1.5	12 - 75	27.5 $\pm$ 1.1	18 - 60
Género (% mujeres)	51.7		81.5		61.2		54.8	
Número de dientes faltantes	3.7 $\pm$ 0.3	0 - 8	1.4 $\pm$ 0.4	0 - 7	3.0 $\pm$ 0.3	0 - 8	1.5 $\pm$ 0.3	0 - 6
% fumadores actuales	27.6		22.2		25.9		23.8	
Profundidad de bolsa promedio (mm)	4.04 $\pm$ 0.13	2.30 - 7.37	4.36 $\pm$ 0.27	2.58 - 7.77	4.14 $\pm$ 0.12	2.30 - 7.77	2.05 $\pm$ 0.03	1.68 - 2.57
Nivel de inserción promedio (NI, mm)	4.53 $\pm$ 0.16	2.66 - 9.04	4.46 $\pm$ 0.28	2.64 - 8.23	4.51 $\pm$ 0.14	2.64 - 9.04	1.93 $\pm$ 0.04	0.92 - 2.30
Número de sitios con NI $\geq$ 5 mm	55.8 $\pm$ 3.7	11 - 118	56.9 $\pm$ 7.9	9 - 156	56.2 $\pm$ 3.6	9 - 156	0 $\pm$ 0	0 - 0
<b>% sitios con:</b>								
Acumulación de placa	43.1 $\pm$ 4.3	0 - 100	39.0 $\pm$ 6.9	0 - 96.4	41.8 $\pm$ 3.7	0 - 100	17.3 $\pm$ 3.2	0 - 72.0
Enrojecimiento gingival	17.8 $\pm$ 3.4	0 - 100	30.5 $\pm$ 6.3	0 - 100	21.8 $\pm$ 3.1	0 - 100	4.5 $\pm$ 1.5	0 - 42.3
Sangrado al sondeo	44.8 $\pm$ 2.8	4.9 - 100	50.8 $\pm$ 5.0	13.1 - 97.4	46.7 $\pm$ 2.5	4.9 - 100	5.1 $\pm$ 1.2	0 - 38.1
Supuración	5.3 $\pm$ 1.0	0 - 37.0	8.3 $\pm$ 2.4	0 - 61.3	6.2 $\pm$ 1.0	0 - 61.3	0 $\pm$ 0	0 - 0

\*  $p < 0.001$  PCG vs. SP. †  $p < 0.01$  y ‡  $p < 0.001$  PAG vs. SP. §  $p > 0.001$  PAG vs. PCG. £  $p < 0.001$  EP vs. SP (prueba U de Mann-Whitney). **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **EEM:** error estándar de la media.

**Tabla 2a.** Descripción de las variaciones genéticas evaluadas.

	IL6:c.-237C>G	IL8:c.-352A>T	IL10:c.-627T>G	IL10:c.-854T>C
Tipo de variación:	SNP	SNP	SNP	SNP
Símbolo del gen:	IL6	IL8	IL10	IL10
Nombre oficial del gen:	interleucina 6 (interferon beta 2)	interleucina 8	interleucina 10	interleucina 10
Referencia de NCBI en dbSNP:	rs1800795	rs4073	rs1800872	rs1800871
ID en dbSNP Lab. GM UNAM:	NA	104828688	104829939	104830706
Descripción de la variación:	IL6{NM_000600.2}:c.-237C>G	IL8{NM_000584.2}:c.-352A>T	IL10{NM_000572.2}:c.-627T>G	IL10{NM_000572.2}:c.-854T>C
Abreviación de la variación:	IL6:c.-237C>G	IL8:c.-352A>T	IL10:c.-627T>G	IL10:c.-854T>C
Sinónimos de la variación:	IL6-174	IL8-251	IL10-592	IL10-819
Localización de la variación:	5' cerca del gen	5' cerca del gen	5' cerca del gen	5' cerca del gen
Posición en el cromosoma:	22,733,170	74,824,888	205,013,030	205,013,257
Posición en el contig:	22,255,603	3,113,034	464,186	464,413
Posición en el mRNA:	NA	NA	NA	NA
5' a la variación (30bp):	GCTGCACTTTTCCCCCTAGTTGTGTC TTGC	TAAAGTTATCTAGAAATAAAAAAGC ATACA	TTTTACTTTCCAGAGACTGGCTTC CTACAG	CACTGGTGTACCCTTGTACAGGTGAT GTAA
Alelos:	(C>G)	(A>T)	(T>G)	(T>C)
3' a la variación (30bp):	ATGCTAAAGGACGTCACATTGCACA ATCTT	TTGATAATTCACCAAATTGTGGAGCT TCAG	ACAGGCGGGGTACAGGATGTGT TCCAGGC	ATCTCTGTGCCTCAGTTTGCTCACTAT AAA

**SNP:** single nucleotide polymorphism (polimorfismo de un solo nucleótido). **NA:** no aplica.

**Tabla 2b.** Descripción de las variaciones genéticas evaluadas.

	IL10:c.-1117A>G	IL12B:c.*159A>C	TNF:c.-488G>A	LTA:c.131+90A>G
Tipo de variación:	SNP	SNP	SNP	SNP
Símbolo del gen:	IL10	IL12B	TNF	LTA
Nombre oficial del gen:	interleucina 10	interleucina 12B (factor estimulador 2 de células natural killer, factor 2 de maduración de linfocitos citotóxicos, p40)	factor de necrosis tumoral (superfamilia TNF miembro 2)	linfotóxina alfa (superfamily TNF, miembro 1)
Referencia de NCBI en dbSNP:	rs1800896	rs3212227	rs1800629	rs909253
ID en dbSNP Lab. GM UNAM:	104810155	104807663	NA	104807664
Descripción de la variación:	IL10{NM_000572.2}:c.-1117A>G	IL12B{NM_002187.2}:c.*159A>C	TNF{NM_000594.2}:c.-488G>A	LTA{NM_000595.2}:c.131+90A>G
Abreviación de la variación:	IL10:c.-1117A>G	IL12B:c.*159A>C	TNF:c.-488G>A	LTA:c.131+90A>G
Sinónimos de la variación:	IL10-1082	IL12B+1188	TNF-308, TNF-A-308	LTA+252, TNFB+252
Localización de la variación:	5' cerca del gen	3' UTR en exón 8	5' cerca del gen	Intron 1
Posición en el cromosoma:	205,013,520	158,675,528	31,651,010	31,648,292
Posición en el contig:	464,676	3,552,508	22,401,282	22,398,564
Posición en el mRNA:	NA	1188	NA	NA
5' a la variación (30bp):	CAAGACAACACTACTAAGGCTTCTT TGGGA	CAATGATATCTTTGCTGTATTTGTAT AGTT	AAATGGAGGCAATAGGTTTTGAGG GGCATG	CTCTGTACACATTCTCTGTTTCTGCC ATG
Alelos:	(A>G)	(A>C)	(G>A)	(A>G)
3' a la variación (30bp):	GGGGAAGTAGGGATAGGTAAGAG GAAAGTA	GATGCTAAATGCTCATTGAAACAAT CAGCT	GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTC CTACAC	TTCCTCTGTTCCTCCTGTCTCTC TCT

**SNP:** single nucleotide polymorphism (polimorfismo de un solo nucleótido). **NA:** no aplica.

**Tabla 3a.** Descripción de las técnicas empleadas para la detección de variaciones genéticas.

Técnica	Secuencia de primers	Productos PCR (bp)	Secuencia amplificada	Localización de secuencia	TA (°C)	Condiciones de digestión	Productos digestión (bp)	
IL6:c.-237C>G	ARMS-PCR	FI: 5'-GCACCTTTCCCCTAGTTGTGCTTGC-3'	Outer primers: 326	GACTTCAGCTTTACTCTTTGTCAAGACATgccaaagtgtgagtcactaataaaag aaaaaaaaaagtaaaggaagagtggtctgctcttagcgctagcctcaatgacgacctaa	chr7:22732997 + 22733343	63	NA	
		RI: 5'-ATTGTGCAATGTGACGTCCTTTAGCATG-3'	Alelo C (Fo+Ri): 176	gctgcactttccccctagttgtgtcttccatgctaaaggacgtcacattgcacaatcttaata aggttccaatcagccccaccgctctggccccaccctcacctccaacaagattatcaaat				
		FO: 5'-GACTTCAGCTTTACTCTTTGTCAAGACA-3'	Alelo G (Fi+Ro): 205	gtgggatttcccatgagtcctcaatattagagtcctcaacccccataataaTAGGACTGGA GATGTCTGAGGCTCATT				
		RO: 5'-GAATGAGCCTCAGACATCTCCAGTCTA-3'						
IL8:c.-352A>T	ARMS-PCR	FI: 5'-GTTATCTAGAAATAAAAAAGCATACAA-3'	Outer primers: 349	CATGATAGCATCTGTAATTAAGTgaaaaaaaaataattatgccattaaagaaaaatc atccatgatctgttctaacacctgcccactctagtactatctgtcacatggtactatgataaa	chr4:74824628 + 74825025	56	NA	
		RI: 5'-CACAAATTTGGTGAATTATCAA-3'	Alelo A (Fi+Ro): 228	ggtatctagaaaataaaagcacaattgataattcaccaaattgtggagcttcagttat aatgtatataaaataaattatataaagatcaagaaaaactctgtcactaccgtattgat				
		FO: 5'-CATGATAGCATCTGTAATTAAGT-3'	Alelo T (Fo+Ri): 169	aaggacaataaggaagtgtgatgactcaggttgccttgagggatgggcatcagttgca aatcgtggaattcCTCTGACATAATGAAAAGATGAG				
		RO: 5'-CTCATCTTTTATTATGTCAGAG-3'						
IL10:c.-627T>G	RFLP	F: 5'-CCTAGGTCACAGTGACGTGG-3'	412	CCTAGGTCACAGTGACGTGGacaaattgccattccagaataacaatgggattgagaa ataattgggtcccccaacctgggatgaataccaagactctccttgtaacttaggcagtc ccttagtctctgggccttagttcccccaagtaaaaatggggggtgggctaaatctcctcaa gttccaagcagccttccatttacttccagagactggcttctcactacagtcagggcggtca caggatgtgtccaggctccttaccgatttcattaggtctcaggcacatgtttccacctct tcagctgtccccaccaccaactgtgcttgggggaagtgggtaagagtagtctgcactgtgta aagctcttatatGCTAGTCAGGTAGTGCTCACC	chr1:205012795 + 205013206	61	3U Rsa I a 37°C (inact. 65°C)	Alelo T: 236+176
		R: 5'-GGTGAGCACTACCTGACTAGC-3'						Alelo G: 412
IL10:c.-854T>C	RFLP	F: 5'-TCATTCTATGTGCTGGAGATGG-3'	209	TCATTCTATGTGCTGGAGATGGgtacagtagggtaggaaacaaatctcagttg gcactgggtaccctgtacaggtgatgaataatctctgtgcctcagttgctcactataaaata gagacggtaggggtcatggtagcactacctgactagcatataagaagcttcagcaagtc agactACTCTTACCACTTCCCCCA	chr1:205013137 - 205013345	59	1U Mae III a 37°C	Alelo T: 209
		R: 5'-TGGGGGAAGTGGTAAGAGT-3'						Alelo C: 125+84

**PCR:** polymerase chain reaction. **ARMS-PCR:** amplification refractory mutation system-PCR. **RFLP:** restriction fragment length polymorphism. **TA:** temperatura de alineamiento de primers. **bp:** base pairs (pares de bases).



**Tabla 4a.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales de las 8 variaciones genéticas evaluadas, comparando los grupos PCG ( $n=58$ ) y SP ( $n=42$ ).

	$D_{max}$	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
IL6:c.[-237CC]	-0.01	0.02	0.98	0.42	0.02	0.98	0.50	0.42	0.81	1.00	0.72	0.71	0.04	11.76	0.81
IL6:c.[-237CG]	-0.03	0.21	0.76	0.44	0.24	0.79	0.55	0.41	0.70	0.81	0.86	0.83	0.32	2.15	0.70
IL6:c.[-237GG]	0.04	0.77	0.27	0.56	0.73	0.23	0.59	0.46	0.65	0.81	1.05	1.24	0.49	3.14	0.65
IL6:c.[-237C]	-0.02	0.23	0.73	0.44	0.27	0.77	0.54	0.41	0.65	0.81	0.85	0.81	0.32	2.04	0.65
IL6:c.[-237G]	0.02	0.98	0.02	0.58	0.98	0.02	0.58	0.50	0.81	1.00	1.01	1.40	0.09	23.05	0.81
IL8:c.[-352AA]	0.08	0.33	0.76	0.51	0.24	0.67	0.66	0.44	0.37	0.50	1.34	1.51	0.61	3.71	0.37
IL8:c.[-352AT]	-0.06	0.33	0.61	0.44	0.39	0.67	0.54	0.39	0.52	0.53	0.84	0.76	0.33	1.75	0.52
IL8:c.[-352TT]	-0.02	0.34	0.63	0.46	0.37	0.66	0.57	0.41	0.83	0.83	0.94	0.91	0.40	2.10	0.83
IL8:c.[-352A]	0.05	0.66	0.37	0.54	0.63	0.34	0.59	0.43	0.83	0.83	1.03	1.10	0.48	2.53	0.83
IL8:c.[-352T]	-0.05	0.67	0.24	0.49	0.76	0.33	0.56	0.34	0.37	0.50	0.89	0.66	0.27	1.63	0.37
IL10:c.[-627TT]	-0.06	0.09	0.86	0.41	0.14	0.91	0.45	0.40	0.37	0.52	0.60	0.57	0.16	2.00	0.38
IL10:c.[-627TG]	0.06	0.59	0.48	0.54	0.52	0.41	0.61	0.45	0.54	0.55	1.12	1.29	0.58	2.87	0.54
IL10:c.[-627GG]	-0.01	0.33	0.67	0.47	0.33	0.67	0.58	0.42	0.95	1.00	0.98	0.97	0.42	2.27	0.95
IL10:c.[-627T]	-0.03	0.67	0.33	0.53	0.67	0.33	0.58	0.42	0.95	1.00	1.01	1.03	0.44	2.39	0.95
IL10:c.[-627G]	-0.03	0.91	0.14	<b>0.59</b>	<b>0.86</b>	<b>0.09</b>	<b>0.60</b>	<b>0.55</b>	<b>0.37</b>	<b>0.52</b>	<b>1.07</b>	<b>1.77</b>	<b>0.50</b>	<b>6.23</b>	<b>0.38</b>
IL10:c.[-854TT]	-0.20	0.14	0.67	0.36	0.33	0.86	0.36	0.36	0.02	0.03	0.41	0.32	0.12	0.86	0.02
IL10:c.[-854TC]	0.16	0.59	0.57	<b>0.58</b>	0.43	<b>0.41</b>	0.65	0.50	0.12	0.16	1.37	<b>1.89</b>	0.85	4.22	0.12
IL10:c.[-854CC]	0.04	0.28	0.76	0.48	0.24	0.72	0.62	0.43	0.67	0.82	1.16	1.22	0.49	3.04	0.67
IL10:c.[-854T]	-0.12	0.72	0.24	0.52	0.76	0.28	0.57	0.38	0.67	0.82	0.95	0.82	0.33	2.05	0.67
IL10:c.[-854C]	0.12	0.86	0.33	<b>0.64</b>	0.67	<b>0.14</b>	0.64	0.64	0.02	0.03	1.29	<b>3.13</b>	1.17	8.36	0.02
IL10:c.[-1117AA]	0.00	0.53	0.46	0.51	0.54	0.47	0.58	0.41	0.98	1.00	1.00	0.99	0.45	2.21	0.98
IL10:c.[-1117AG]	0.03	0.45	0.59	0.51	0.41	0.55	0.60	0.43	0.74	0.84	1.08	1.15	0.51	2.58	0.74
IL10:c.[-1117GG]	-0.03	0.02	0.95	0.40	0.05	0.98	0.33	0.41	0.37	0.57	0.35	0.34	0.03	3.90	0.39
IL10:c.[-1117A]	0.01	0.98	0.05	<b>0.60</b>	0.95	<b>0.02</b>	0.59	0.67	0.37	0.57	1.03	<b>2.92</b>	0.26	33.36	0.39
IL10:c.[-1117G]	-0.01	0.47	0.54	0.49	0.46	0.53	0.59	0.42	0.98	1.00	1.00	1.01	0.45	2.25	0.98
IL12B:c.[*159AA]	-0.09	0.29	0.62	0.43	0.38	0.71	0.52	0.39	0.36	0.39	0.77	0.67	0.29	1.56	0.36
IL12B:c.[*159AC]	0.06	0.52	0.55	0.53	0.45	0.48	0.61	0.45	0.52	0.55	1.14	1.30	0.59	2.88	0.52
IL12B:c.[*159CC]	0.02	0.19	0.83	0.46	0.17	0.81	0.61	0.43	0.77	0.80	1.14	1.17	0.41	3.32	0.77
IL12B:c.[*159A]	-0.06	0.81	0.17	0.54	0.83	0.19	0.57	0.39	0.77	0.80	0.97	0.85	0.30	2.43	0.77
IL12B:c.[*159C]	0.06	0.71	0.38	0.57	0.62	0.29	0.61	0.48	0.36	0.39	1.14	1.48	0.64	3.44	0.36
TNF:c.[-488GG]	0.02	0.89	0.12	0.57	0.88	0.11	0.59	0.45	0.80	1.00	1.02	1.18	0.33	4.17	0.80
TNF:c.[-488GA]	-0.03	0.09	0.88	0.42	0.12	0.91	0.50	0.41	0.58	0.74	0.72	0.69	0.19	2.57	0.58
TNF:c.[-488AA]	0.02	0.02	1.00	0.43	0.00	0.98	1.00	0.42	0.40	1.00	NA	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488G]	0.00	0.98	0.00	0.57	1.00	0.02	0.58	0.00	0.40	1.00	0.98	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488A]	0.00	0.11	0.88	0.43	0.12	0.89	0.55	0.41	0.80	1.00	0.86	0.85	0.24	2.99	0.80
LTA:c.[131+90AA]	0.01	0.48	0.52	0.50	0.48	0.52	0.58	0.42	0.95	1.00	1.01	1.03	0.46	2.27	0.95
LTA:c.[131+90AG]	-0.13	0.34	0.52	0.42	0.48	0.66	0.50	0.37	0.19	0.22	0.72	0.58	0.26	1.30	0.19
LTA:c.[131+90GG]	0.12	0.17	0.95	0.50	0.05	0.83	0.83	0.45	0.06	0.07	3.62	4.17	0.86	20.13	0.08
LTA:c.[131+90A]	-0.06	0.83	0.05	0.50	0.95	0.17	0.55	0.17	0.06	0.07	0.87	0.24	0.05	1.16	0.08
LTA:c.[131+90G]	0.06	0.52	0.48	0.50	0.52	0.48	0.58	0.42	0.95	1.00	0.99	0.97	0.44	2.16	0.95

Los recuadros punteados señalan alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados para ser considerados en los análisis posteriores en base a su cumplimiento con los criterios de selección en la comparación entre estos 2 grupos de estudio en particular. Los datos sombreados destacan los datos específicos que fueron considerados en la selección. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **SP:** salud periodontal.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental (PCG) y el grupo control (SP). **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios. **NA:** no aplica.

**Tabla 4b.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales de las 8 variaciones genéticas evaluadas, comparando los grupos PAG ( $n=27$ ) y SP ( $n=42$ ).

	$D_{max}$	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
IL6:c.[-237CC]	-0.02	0.00	0.98	0.59	0.02	1.00	0.00	0.60	0.42	1.00	0.00	NA	NA	NA	NA
IL6:c.[-237CG]	-0.02	0.22	0.76	0.54	0.24	0.78	0.38	0.60	0.84	1.00	0.91	0.89	0.28	2.81	0.84
IL6:c.[-237GG]	0.05	0.78	0.27	0.47	0.73	0.22	0.41	0.65	0.67	0.78	1.06	1.28	0.41	4.01	0.67
IL6:c.[-237C]	-0.04	0.22	0.73	0.53	0.27	0.78	0.35	0.59	0.67	0.78	0.83	0.78	0.25	2.44	0.67
IL6:c.[-237G]	0.04	1.00	0.02	0.41	0.98	0.00	0.40	1.00	0.42	1.00	1.03	NA	NA	NA	NA
IL8:c.[-352AA]	-0.13	0.11	0.76	0.50	0.24	0.89	0.23	0.56	0.18	0.22	0.46	0.39	0.10	1.57	0.18
IL8:c.[-352AT]	0.05	0.44	0.61	0.54	0.39	0.56	0.43	0.63	0.66	0.80	1.14	1.25	0.47	3.33	0.66
IL8:c.[-352TT]	0.08	0.44	0.63	0.56	0.37	0.56	0.44	0.63	0.52	0.61	1.21	1.39	0.52	3.73	0.52
IL8:c.[-352A]	-0.11	0.56	0.37	0.44	0.63	0.44	0.37	0.56	0.52	0.61	0.88	0.72	0.27	1.94	0.52
IL8:c.[-352T]	0.11	0.89	0.24	0.50	0.76	0.11	0.44	0.77	0.18	0.22	1.18	2.58	0.64	10.42	0.18
IL10:c.[-627TT]	-0.11	0.04	0.86	0.54	0.14	0.96	0.14	0.58	0.16	0.23	0.26	0.23	0.03	2.03	0.19
IL10:c.[-627TG]	-0.14	0.67	0.48	0.55	0.52	0.33	0.45	0.69	0.24	0.32	1.27	1.82	0.67	4.96	0.24
IL10:c.[-627GG]	-0.04	0.30	0.67	0.52	0.33	0.70	0.36	0.60	0.75	0.80	0.89	0.84	0.30	2.40	0.75
IL10:c.[-627T]	-0.03	0.70	0.33	0.48	0.67	0.30	0.40	0.64	0.75	0.80	1.06	1.19	0.42	3.34	0.75
IL10:c.[-627G]	0.03	0.96	0.14	0.46	0.86	0.04	0.42	0.86	0.16	0.23	1.12	4.33	0.49	38.19	0.19
IL10:c.[-854TT]	-0.15	0.19	0.67	0.48	0.33	0.81	0.26	0.56	0.18	0.27	0.56	0.45	0.14	1.46	0.18
IL10:c.[-854TC]	0.20	0.63	0.57	0.59	0.43	0.37	0.49	0.71	0.11	0.14	1.47	2.27	0.84	6.11	0.11
IL10:c.[-854CC]	-0.05	0.19	0.76	0.54	0.24	0.81	0.33	0.59	0.61	0.77	0.78	0.73	0.22	2.42	0.60
IL10:c.[-854T]	-0.05	0.81	0.24	0.46	0.76	0.19	0.41	0.67	0.61	0.77	1.07	1.38	0.41	4.58	0.60
IL10:c.[-854C]	0.05	0.81	0.33	0.52	0.67	0.19	0.44	0.74	0.18	0.27	1.22	2.20	0.69	7.05	0.18
IL10:c.[-1117AA]	0.09	0.63	0.46	0.53	0.54	0.37	0.44	0.66	0.45	0.47	1.17	1.47	0.54	3.97	0.45
IL10:c.[-1117AG]	-0.04	0.37	0.59	0.50	0.41	0.63	0.37	0.59	0.72	0.80	0.89	0.83	0.31	2.25	0.72
IL10:c.[-1117GG]	-0.05	0.00	0.95	0.57	0.05	1.00	0.00	0.59	0.25	0.51	0.00	NA	NA	NA	NA
IL10:c.[-1117A]	0.07	1.00	0.05	0.43	0.95	0.00	0.41	1.00	0.25	0.51	1.05	NA	NA	NA	NA
IL10:c.[-1117G]	-0.07	0.37	0.54	0.47	0.46	0.63	0.34	0.56	0.45	0.47	0.80	0.68	0.25	1.84	0.45
IL12B:c.[*159AA]	-0.08	0.30	0.62	0.49	0.38	0.70	0.33	0.58	0.47	0.61	0.78	0.68	0.24	1.93	0.47
IL12B:c.[*159AC]	0.14	0.59	0.55	0.57	0.45	0.41	0.46	0.68	0.26	0.33	1.31	1.76	0.66	4.69	0.26
IL12B:c.[*159CC]	-0.06	0.11	0.83	0.55	0.17	0.89	0.30	0.59	0.53	0.73	0.67	0.63	0.15	2.66	0.52
IL12B:c.[*159A]	-0.01	0.89	0.17	0.45	0.83	0.11	0.41	0.70	0.53	0.73	1.07	1.60	0.38	6.81	0.52
IL12B:c.[*159C]	0.01	0.70	0.38	0.51	0.62	0.30	0.42	0.67	0.47	0.61	1.14	1.46	0.52	4.11	0.47
TNF:c.[-488GG]	0.08	0.96	0.12	0.46	0.88	0.04	0.42	0.83	0.23	0.39	1.10	3.61	0.40	32.77	0.25
TNF:c.[-488GA]	-0.08	0.04	0.88	0.54	0.12	0.96	0.17	0.58	0.23	0.39	0.30	0.28	0.03	2.51	0.25
TNF:c.[-488AA]	0.00	0.00	1.00	0.60	0.00	1.00	NA	0.60	1.00	NA	NA	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488G]	0.04	1.00	0.00	0.40	1.00	0.00	0.40	NA	1.00	NA	1.00	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488A]	-0.04	0.04	0.88	0.54	0.12	0.96	0.17	0.58	0.23	0.39	0.30	0.28	0.03	2.51	0.25
LTA:c.[131+90AA]	0.15	0.63	0.52	0.57	0.48	0.37	0.46	0.69	0.22	0.23	1.32	1.87	0.70	5.02	0.21
LTA:c.[131+90AG]	-0.18	0.30	0.52	0.43	0.48	0.70	0.29	0.54	0.14	0.21	0.62	0.46	0.17	1.29	0.14
LTA:c.[131+90GG]	0.03	0.07	0.95	0.61	0.05	0.93	0.50	0.62	0.65	0.64	1.56	1.60	0.21	12.09	0.65
LTA:c.[131+90A]	0.06	0.93	0.05	0.39	0.95	0.07	0.38	0.50	0.65	0.64	0.97	0.63	0.08	4.72	0.65
LTA:c.[131+90G]	-0.06	0.37	0.48	0.43	0.52	0.63	0.31	0.54	0.22	0.23	0.71	0.53	0.20	1.44	0.21

Los recuadros punteados señalan a los alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados para ser considerados en los análisis posteriores en base a su cumplimiento con los criterios de selección en la comparación entre estos 2 grupos de estudio en particular. Los datos sombreados dentro de dichos recuadros destacan los datos específicos que fueron considerados en la selección. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental (PAG) y el grupo control (SP). **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios. **NA:** no aplica.

**Tabla 4c.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales de las 8 variaciones genéticas evaluadas, comparando los grupos PAG ( $n=27$ ) y PCG ( $n=58$ ).

	$D_{max}$	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )
IL6:c.[-237CC]	-0.02	0.00	0.98	0.67	0.02	1.00	0.00	0.67	0.49	1.00	0.00	NA	NA	NA
IL6:c.[-237CG]	0.01	0.22	0.79	0.61	0.21	0.78	0.33	0.68	0.90	1.00	1.06	1.07	0.35	3.25
IL6:c.[-237GG]	0.01	0.78	0.23	0.40	0.77	0.22	0.32	0.68	0.95	1.00	1.01	1.03	0.35	3.10
IL6:c.[-237C]	-0.01	0.22	0.77	0.60	0.23	0.78	0.32	0.68	0.95	1.00	0.97	0.97	0.32	2.90
IL6:c.[-237G]	0.01	1.00	0.02	0.33	0.98	0.00	0.33	1.00	0.49	1.00	1.02	NA	NA	NA
IL8:c.[-352AA]	-0.22	0.11	0.67	0.49	0.33	0.89	0.14	0.62	0.03	0.04	0.34	0.26	0.07	0.96
IL8:c.[-352AT]	0.12	0.44	0.67	0.60	0.33	0.56	0.39	0.72	0.30	0.34	1.36	1.64	0.64	4.19
IL8:c.[-352TT]	0.10	0.44	0.66	0.59	0.34	0.56	0.38	0.72	0.38	0.47	1.29	1.52	0.60	3.86
IL8:c.[-352A]	-0.16	0.56	0.34	0.41	0.66	0.44	0.28	0.63	0.38	0.47	0.85	0.66	0.26	1.67
IL8:c.[-352T]	0.16	0.89	0.33	0.51	0.67	0.11	0.38	0.86	0.03	0.04	1.32	3.90	1.04	14.58
IL10:c.[-627TT]	-0.05	0.04	0.91	0.64	0.09	0.96	0.17	0.67	0.41	0.66	0.43	0.41	0.05	3.67
IL10:c.[-627TG]	0.08	0.67	0.41	0.49	0.59	0.33	0.35	0.73	0.48	0.63	1.14	1.41	0.54	3.67
IL10:c.[-627GG]	-0.03	0.30	0.67	0.55	0.33	0.70	0.30	0.67	0.77	0.81	0.90	0.86	0.32	2.33
IL10:c.[-627T]	-0.01	0.70	0.33	0.45	0.67	0.30	0.33	0.70	0.77	0.81	1.05	1.16	0.43	3.12
IL10:c.[-627G]	0.01	0.96	0.09	0.36	0.91	0.04	0.33	0.83	0.41	0.66	1.05	2.45	0.27	22.09
IL10:c.[-854TT]	0.05	0.19	0.86	0.65	0.14	0.81	0.38	0.69	0.58	0.75	1.34	1.42	0.42	4.83
IL10:c.[-854TC]	0.04	0.63	0.41	0.48	0.59	0.37	0.33	0.71	0.71	0.81	1.07	1.20	0.47	3.07
IL10:c.[-854CC]	-0.09	0.19	0.72	0.55	0.28	0.81	0.24	0.66	0.37	0.43	0.67	0.60	0.19	1.85
IL10:c.[-854T]	0.07	0.81	0.28	0.45	0.72	0.19	0.34	0.76	0.37	0.43	1.13	1.68	0.54	5.18
IL10:c.[-854C]	-0.07	0.81	0.14	0.35	0.86	0.19	0.31	0.62	0.58	0.75	0.95	0.70	0.21	2.40
IL10:c.[-1117AA]	0.10	0.63	0.47	0.52	0.53	0.37	0.35	0.73	0.41	0.48	1.18	1.48	0.58	3.78
IL10:c.[-1117AG]	-0.08	0.37	0.55	0.49	0.45	0.63	0.28	0.65	0.50	0.64	0.83	0.72	0.28	1.85
IL10:c.[-1117GG]	-0.02	0.00	0.98	0.67	0.02	1.00	0.00	0.68	0.50	1.00	0.00	NA	NA	NA
IL10:c.[-1117A]	0.06	1.00	0.02	0.33	0.98	0.00	0.32	1.00	0.50	1.00	1.02	NA	NA	NA
IL10:c.[-1117G]	-0.06	0.37	0.53	0.48	0.47	0.63	0.27	0.65	0.41	0.48	0.80	0.68	0.27	1.72
IL12B:c.[*159AA]	0.00	0.30	0.71	0.58	0.29	0.70	0.32	0.68	0.98	1.00	1.01	1.02	0.37	2.76
IL12B:c.[*159AC]	0.08	0.59	0.48	0.52	0.52	0.41	0.35	0.72	0.52	0.64	1.15	1.36	0.54	3.42
IL12B:c.[*159CC]	-0.08	0.11	0.81	0.59	0.19	0.89	0.21	0.66	0.37	0.53	0.59	0.53	0.14	2.10
IL12B:c.[*159A]	0.04	0.89	0.19	0.41	0.81	0.11	0.34	0.79	0.37	0.53	1.10	1.87	0.48	7.35
IL12B:c.[*159C]	-0.04	0.70	0.29	0.42	0.71	0.30	0.32	0.68	0.98	1.00	1.00	0.98	0.36	2.68
TNF:c.[-488GG]	0.07	0.96	0.11	0.38	0.89	0.04	0.34	0.86	0.29	0.42	1.08	3.06	0.35	26.77
TNF:c.[-488GA]	-0.05	0.04	0.91	0.63	0.09	0.96	0.17	0.67	0.40	0.66	0.42	0.40	0.04	3.60
TNF:c.[-488AA]	-0.02	0.00	0.98	0.67	0.02	1.00	0.00	0.67	0.49	1.00	0.00	NA	NA	NA
TNF:c.[-488G]	0.04	1.00	0.02	0.33	0.98	0.00	0.33	1.00	0.49	1.00	1.02	NA	NA	NA
TNF:c.[-488A]	-0.04	0.04	0.89	0.62	0.11	0.96	0.14	0.66	0.29	0.42	0.35	0.33	0.04	2.86
LTA:c.[131+90AA]	0.15	0.63	0.52	0.55	0.48	0.37	0.38	0.75	0.21	0.25	1.30	1.82	0.72	4.64
LTA:c.[131+90AG]	-0.05	0.30	0.66	0.54	0.34	0.70	0.29	0.67	0.66	0.81	0.86	0.80	0.30	2.15
LTA:c.[131+90GG]	-0.10	0.07	0.83	0.59	0.17	0.93	0.17	0.66	0.23	0.32	0.43	0.38	0.08	1.89
LTA:c.[131+90A]	0.12	0.93	0.17	0.41	0.83	0.07	0.34	0.83	0.23	0.32	1.12	2.60	0.53	12.81
LTA:c.[131+90G]	-0.12	0.37	0.48	0.45	0.52	0.63	0.25	0.62	0.21	0.25	0.72	0.55	0.22	1.40

Los recuadros punteados señalan a los alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados para ser considerados en los análisis posteriores en base a su cumplimiento con los criterios de selección en la comparación entre estos 2 grupos de estudio en particular. Los datos sombreados dentro de dichos recuadros destacan los datos específicos que fueron considerados en la selección. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **PCG:** periodontitis crónica generalizada.  $D_{max}$ : diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental (PAG) y el grupo control (PCG). **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios. **NA:** no aplica.

**Tabla 4d.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales de las 8 variaciones genéticas evaluadas, comparando los grupos EP ( $n=85$ ) y SP ( $n=42$ ).

	$D_{max}$	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
IL6:c.[-237CC]	-0.01	0.01	0.98	0.33	0.02	0.99	0.50	0.33	0.60	0.55	0.49	0.48	0.03	7.90	0.61
IL6:c.[-237CG]	-0.03	0.21	0.76	0.39	0.24	0.79	0.64	0.32	0.71	0.82	0.88	0.85	0.35	2.04	0.71
IL6:c.[-237GG]	0.04	0.77	0.27	0.61	0.73	0.23	0.68	0.37	0.61	0.66	1.06	1.25	0.53	2.96	0.61
IL6:c.[-237C]	-0.03	0.23	0.73	0.39	0.27	0.77	0.63	0.32	0.61	0.66	0.84	0.80	0.34	1.88	0.61
IL6:c.[-237G]	0.03	0.99	0.02	<b>0.67</b>	0.98	<b>0.01</b>	0.67	0.50	0.60	0.55	1.01	<b>2.08</b>	0.13	34.03	0.61
IL8:c.[-352AA]	0.01	0.26	0.76	0.42	0.24	0.74	0.69	0.33	0.86	1.00	1.06	1.08	0.46	2.56	0.86
IL8:c.[-352AT]	-0.03	0.36	0.61	0.44	0.39	0.64	0.66	0.32	0.78	0.85	0.93	0.90	0.42	1.93	0.78
IL8:c.[-352TT]	0.01	0.38	0.63	0.46	0.37	0.62	0.68	0.33	0.91	1.00	1.03	1.05	0.48	2.27	0.91
IL8:c.[-352A]	0.00	0.62	0.37	0.54	0.63	0.38	0.67	0.32	0.91	1.00	0.98	0.96	0.44	2.07	0.91
IL8:c.[-352T]	0.00	0.74	0.24	0.58	0.76	0.26	0.67	0.31	0.86	1.00	0.98	0.92	0.39	2.19	0.86
IL10:c.[-627TT]	-0.07	0.07	0.86	0.33	0.14	0.93	0.50	0.31	0.19	0.21	0.49	0.46	0.14	1.51	0.20
IL10:c.[-627TG]	0.09	0.61	0.48	0.57	0.52	0.39	0.70	0.38	0.35	0.44	1.17	1.43	0.68	3.02	0.35
IL10:c.[-627GG]	-0.02	0.32	0.67	0.43	0.33	0.68	0.66	0.33	0.86	1.00	0.95	0.93	0.42	2.05	0.86
IL10:c.[-627T]	-0.03	0.68	0.33	0.57	0.67	0.32	0.67	0.34	0.86	1.00	1.02	1.07	0.49	2.36	0.86
IL10:c.[-627G]	0.03	0.93	0.14	<b>0.67</b>	0.86	<b>0.07</b>	0.69	0.50	0.19	0.21	1.08	<b>2.19</b>	0.66	7.27	0.20
IL10:c.[-854TT]	-0.18	0.15	0.67	0.32	0.33	0.85	0.48	0.28	0.02	0.04	0.46	0.36	0.15	0.86	0.02
IL10:c.[-854TC]	0.17	0.60	0.57	<b>0.59</b>	0.43	<b>0.40</b>	0.74	0.41	0.07	0.09	1.40	<b>2.00</b>	0.95	4.23	0.07
IL10:c.[-854CC]	0.01	0.25	0.76	0.42	0.24	0.75	0.68	0.33	0.91	1.00	1.04	1.05	0.44	2.49	0.91
IL10:c.[-854T]	-0.09	0.75	0.24	0.58	0.76	0.25	0.67	0.32	0.91	1.00	0.99	0.95	0.40	1.26	0.91
IL10:c.[-854C]	0.09	0.85	0.33	<b>0.68</b>	0.67	<b>0.15</b>	0.72	0.52	0.02	0.04	1.27	<b>2.77</b>	1.16	6.62	0.02
IL10:c.[-1117AA]	0.03	0.56	0.46	0.53	0.54	0.44	0.69	0.34	0.77	0.85	1.05	1.12	0.53	2.37	0.77
IL10:c.[-1117AG]	0.01	0.42	0.59	0.48	0.41	0.58	0.68	0.33	0.92	1.00	1.02	1.04	0.49	2.21	0.92
IL10:c.[-1117GG]	-0.04	0.01	0.95	0.32	0.05	0.99	0.33	0.32	0.20	0.25	0.24	0.23	0.02	2.64	0.24
IL10:c.[-1117A]	0.03	0.99	0.05	<b>0.68</b>	0.95	<b>0.01</b>	0.68	0.67	0.20	0.25	1.04	<b>4.31</b>	0.38	48.95	0.24
IL10:c.[-1117G]	-0.03	0.44	0.54	0.47	0.46	0.56	0.66	0.31	0.77	0.85	0.94	0.89	0.42	1.89	0.77
IL12B:c.[*159AA]	-0.09	0.29	0.62	0.40	0.38	0.71	0.61	0.30	0.33	0.42	0.77	0.68	0.31	1.47	0.33
IL12B:c.[*159AC]	0.09	0.54	0.55	0.54	0.45	0.46	0.71	0.37	0.35	0.45	1.20	1.43	0.68	3.00	0.35
IL12B:c.[*159CC]	0.00	0.16	0.83	0.39	0.17	0.84	0.67	0.33	0.98	1.00	0.99	0.99	0.37	2.66	0.98
IL12B:c.[*159A]	-0.04	0.84	0.17	0.61	0.83	0.16	0.67	0.33	0.98	1.00	1.00	1.01	0.38	2.74	0.98
IL12B:c.[*159C]	0.04	0.71	0.38	0.60	0.62	0.29	0.70	0.39	0.33	0.42	1.14	1.48	0.68	3.22	0.33
TNF:c.[-488GG]	0.04	0.92	0.12	<b>0.66</b>	0.88	<b>0.08</b>	0.68	0.42	0.49	0.53	1.04	<b>1.53</b>	0.45	5.14	0.49
TNF:c.[-488GA]	-0.05	0.07	0.88	0.34	0.12	0.93	0.55	0.32	0.35	0.50	0.59	0.55	0.16	1.94	0.35
TNF:c.[-488AA]	0.01	0.01	1.00	0.34	0.00	0.99	1.00	0.33	0.48	1.00	NA	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488G]	0.01	0.99	0.00	0.66	1.00	0.01	0.67	0.00	0.48	1.00	0.99	NA	NA	NA	NA
TNF:c.[-488A]	-0.01	0.08	0.88	0.34	0.12	0.92	0.58	0.32	0.49	0.53	0.68	0.65	0.19	2.20	0.49
LTA:c.[131+90AA]	0.05	0.53	0.52	0.53	0.48	0.47	0.69	0.35	0.57	0.71	1.11	1.24	0.59	2.60	0.57
LTA:c.[131+90AG]	-0.15	0.33	0.52	0.39	0.48	0.67	0.58	0.28	0.11	0.12	0.69	0.54	0.25	1.15	0.11
LTA:c.[131+90GG]	0.09	0.14	0.95	0.41	0.05	0.86	0.86	0.35	0.11	0.14	2.96	3.29	0.70	15.43	0.13
LTA:c.[131+90A]	-0.02	0.86	0.05	0.59	0.95	0.14	0.65	0.14	0.11	0.14	0.90	0.30	0.07	1.43	0.13
LTA:c.[131+90G]	0.02	0.47	0.48	0.47	0.52	0.53	0.65	0.31	0.57	0.71	0.90	0.81	0.39	1.69	0.57

Los recuadros punteados señalan a los alelos y genotipos individuales que fueron seleccionados para ser considerados en los análisis posteriores en base a su cumplimiento con los criterios de selección en la comparación entre estos 2 grupos de estudio en particular. Los datos sombreados dentro de dichos recuadros destacan los datos específicos que fueron considerados en la selección. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos de periodontitis crónica y agresiva generalizada). **SP:** salud periodontal.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental (EP) y el grupo control (SP). **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios. **NA:** no aplica.

**Tabla 5.** Descripción general de la comparación de alelos y genotipos combinados entre grupos de estudio.

	PCG vs. SP (n=21)				PAG vs. SP (n=240)				PAG vs. PCG (n=135)				EP vs. SP (n=57)			
	Media ± DE	Moda	Mediana	Rango	Media ± DE	Moda	Mediana	Rango	Media ± DE	Moda	Mediana	Rango	Media ± DE	Moda	Mediana	Rango
% <i>i</i> =1 exp	0.65 ± 0.16	0.53	0.53	0.47 - 0.86	0.46 ± 0.14	0.52	0.48	0.19 - 0.93	0.50 ± 0.16	0.37	0.48	0.26 - 0.89	0.51 ± 0.19	0.37	0.49	0.18 - 0.84
% <i>i</i> =1 con	0.44 ± 0.17	0.29	0.33	0.27 - 0.66	0.19 ± 0.12	0.10	0.17	0.02 - 0.73	0.22 ± 0.15	0.12	0.18	0.05 - 0.66	0.31 ± 0.18	0.29	0.27	0.05 - 0.66
<i>D</i> <sub>max</sub>	0.20 ± 0.01	0.21	0.21	0.18 - 0.22	0.27 ± 0.05	0.27	0.27	0.16 - 0.38	0.28 ± 0.05	0.30	0.28	0.19 - 0.36	0.19 ± 0.02	0.22	0.20	0.13 - 0.22
EXC	0.61 ± 0.03	0.59	0.59	0.58 - 0.65	0.67 ± 0.03	0.66	0.68	0.53 - 0.72	0.69 ± 0.06	0.70	0.70	0.52 - 0.75	0.57 ± 0.07	0.53	0.57	0.43 - 0.68
IFN	0.35 ± 0.16	0.47	0.47	0.14 - 0.53	0.54 ± 0.14	0.48	0.52	0.07 - 0.81	0.50 ± 0.16	0.63	0.52	0.11 - 0.74	0.49 ± 0.19	0.63	0.51	0.16 - 0.82
M-W ( <i>p</i> =)	0.04 ± 0.01	0.04	0.04	0.01 - 0.05	0.02 ± 0.01	0.01	0.02	0.00 - 0.05	0.01 ± 0.01	0.00	0.01	0.00 - 0.05	0.03 ± 0.01	0.02	0.03	0.01 - 0.05
F ( <i>p</i> =)	0.05 ± 0.02	0.06	0.05	0.02 - 0.07	0.02 ± 0.02	0.01	0.02	0.00 - 0.07	0.01 ± 0.01	0.00	0.01	0.00 - 0.08	0.03 ± 0.01	0.02	0.03	0.00 - 0.05
RM	2.61 ± 0.33	2.39	2.45	2.30 - 3.47	4.59 ± 1.41	5.44	4.44	2.82 - 9.09	4.45 ± 1.13	5.84	4.32	2.60 - 7.15	2.70 ± 0.44	2.53	2.59	2.19 - 4.24
M-H ( <i>p</i> =)	0.04 ± 0.01	0.04	0.04	0.01 - 0.05	0.06 ± 0.37	0.01	0.02	0.00 - 4.05	0.01 ± 0.01	0.00	0.01	0.00 - 0.05	0.03 ± 0.01	0.02	0.02	0.00 - 0.05

Se presenta la media, desviación estándar (DE), moda, mediana y rango de los resultados de 9 pruebas estadísticas utilizadas para comparar la frecuencia de las 565 combinaciones generadas entre los grupos de estudio. Dentro de cada comparación, los valores que se presentan fueron calculados incluyendo únicamente a las combinaciones cuyas frecuencias en los grupos experimental y control fueron significativamente diferentes (*n*=) utilizando la prueba *U* de Mann-Whitney (MW). Cabe señalar que el total de combinaciones (considerando las 4 comparaciones entre grupos) incluidas en el análisis que se presenta fue 275 y no 453 que se esperarían al sumar los valores de *n*=, esto fue debido a que algunas combinaciones presentaron diferencias significativas en más de una comparación. **PCG**: periodontitis crónica generalizada. **PAG**: periodontitis agresiva generalizada. **EP**: enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP**: salud periodontal. **DE**: desviación estándar. **% *i*=1 exp**: porcentaje de portadores en el grupo experimental. **% *i*=1 con**: porcentaje de portadores en el grupo control. ***D*<sub>max</sub>**: diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental y el grupo control. **EXC**: exactitud. **IFN**: índice de falsos negativos. **M-W**: prueba U de Mann-Whitney. **F**: prueba exacta de Fisher. **RM**: razón de momios. **M-H**: prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios.

**Tabla 6.** Ejemplo del método utilizado en la fase 2 de selección de combinaciones (en base a redundancias).

Combinaciones que presentan variación IL12B:c.[*159AC]	No. de variaciones en combinación	IL12B:c. [*159AC]	IL8:c. [-352T]	TNF:c. [-488GG]	IL10:c. [-1117A]	IL6:c. [-237G]	LTA:c. [131+90AA]	IL10:c. [-627G]	IL10:c. [-854C]	IL10:c. [-627TG]	IL10:c. [-854TC]
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL8:c.[-352T]	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	4	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	4	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	5	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0

Todas las combinaciones que contenían el genotipo individual IL12B:c.[\*159AC] fueron agrupadas. En el presente ejemplo el grupo está formado por 4 combinaciones (columna 1), de las cuales, una se compone por 3 alelos y/o genotipos individuales, dos están formadas por 4 alelos y/o genotipos individuales y la última por 5 (columna 2). Las columnas 3 a 12, muestran la ocurrencia de cada una de los 10 alelos y genotipos individuales seleccionados dentro de cada combinación incluida en este grupo de combinaciones en particular (0=ausencia, 1=presencia). La cuarta combinación de la tabla, marcada con el recuadro punteado, fue seleccionada debido a que los alelos y genotipos individuales incorporados a las combinaciones de 3 y 4, se encontraron también en la combinación con el mayor número de alelos y genotipos (5). En todos los casos, la selección de combinaciones en base a redundancias se realizó de la misma manera, conservando las combinaciones conformadas por el mayor número de alelos y genotipos.

**Tabla 7a.** Resumen de la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas reportadas en diversas poblaciones del mundo para las variaciones IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G e IL10:c.-854T>C.

Referencia	Población	Características	IL6:c.-237C>G					IL8:c.-352A>T					IL10:c.-627T>G					IL10:c.-854T>C				
			[CC]	[CG]	[GG]	[C]	[G]	[AA]	[AT]	[TT]	[A]	[T]	[TT]	[TG]	[GG]	[T]	[G]	[TT]	[TC]	[CC]	[T]	[C]
(Mohlig <i>et al.</i> 2004)	Alemania	DMT2	17.0%	54.8%	28.2%	44.4%	55.6%															
	Alemania	SS	18.9%	55.3%	25.8%	46.5%	53.5%															
(Schotte <i>et al.</i> 2001)	Alemania	LES	17.0%	47.0%	36.0%	40.0%	60.0%															
	Alemania	SS	22.0%	48.0%	30%	46.0%	54.0%															
(Greisenegger <i>et al.</i> 2003)	Austria	ECVA	17.0%	45.0%	38.0%	40.0%	60.0%															
	Austria	SS	14.0%	50.0%	36.0%	39.0%	61.0%															
(Moreira <i>et al.</i> 2007)	Brasil	Periodontitis moderada	6.8%	27.3%	65.9%	20.5%	79.5%															
	Brasil	Periodontitis severa	4.5%	35.8%	59.7%	22.4%	77.6%															
	Brasil	SP	11.1%	33.3%	55.6%	27.8%	72.2%															
(Scarel-Caminaga <i>et al.</i> 2004)	Brasil	PCG										3.0%	68.6%	28.4%	37.3%	62.7%	13.4%	62.7%	23.9%	44.8%	55.2%	
	Brasil	SP										11.7%	39.5%	48.8%	31.4%	68.6%	14.0%	37.2%	48.8%	32.6%	67.4%	
(Cozen <i>et al.</i> 2004)	E.U.	Caucásicos con LHAJ	9.3%	43.0%	47.7%	30.8%	69.2%															
	E.U.	Caucásicos SS	17.9%	50.0%	32.1%	42.9%	57.1%															
(Jenny <i>et al.</i> 2002)	E.U.	Afro-Americanos	0%	15.0%	85.0%	8.0%	92.0%															
	E.U.	Blancos	16.0%	44.0%	40.0%	38.0%	62.0%															
(Basso <i>et al.</i> 2002)	Escocia	EC	15.7%	52.0%	32.3%	41.7%	58.3%															
	Escocia	SS	16.7%	49.5%	33.8%	41.4%	58.6%															
(Fernandez <i>et al.</i> 2005)	España	Colitis ulcerativa															8.3%	28.9%	62.8%	22.7%	77.3%	
	España	Enfermedad de Crohn															5.7%	39.0%	55.3%	25.2%	74.8%	
	España	SS															8.1%	35.6%	56.3%	25.9%	74.1%	
(Landi <i>et al.</i> 2003)	España	Cáncer colorectal	13.3%	49.9%	36.8%	38.2%	61.8%	19.3%	47.4%	33.2%	43.0%	57.0%										
	España	SS	10.6%	42.8%	46.6%	32.0%	68.0%	17.9%	55.2%	26.9%	45.5%	54.5%										
(Hulkkonen <i>et al.</i> 2001)	Finlandia	S. Sjögren P.	32.8%	50.8%	16.4%	58.2%	41.8%															
	Finlandia	SS	29.5%	50.3%	20.3%	54.6%	45.4%															
(Pola <i>et al.</i> 2003)	Italia	ECl	12.6%	40.3%	47.1%	32.8%	67.2%															
	Italia	SS	35.3%	43.6%	21.1%	57.1%	42.9%															

**Tabla 7a.** continuación.

Referencia	Población	Características	IL6:c.-237C>G					IL8:c.-352A>T					IL10:c.-627T>G					IL10:c.-854T>C				
			[CC]	[CG]	[GG]	[C]	[G]	[AA]	[AT]	[TT]	[A]	[T]	[TT]	[TG]	[GG]	[T]	[G]	[TT]	[TC]	[CC]	[T]	[C]
(Scapoli <i>et al.</i> 2007)	Italia	SS	10.4%	37.5%	52.1%	29.2%	70.8%															
(Parra-Rojas <i>et al.</i> 2006)	México	SS	0%	23.0%	77.0%	11.5%	88.5%															
Presente estudio	México	PAG	0%	22.2%	77.8%	11.1%	88.9%	11.1%	44.5%	44.4%	33.3%	66.7%	3.7%	66.7%	29.6%	37.0%	63.0%	18.5%	63.0%	18.5%	50%	50%
	México	PCG	1.8%	21.1%	77.2%	12.3%	87.7%	32.8%	32.8%	34.5%	49.1%	50.9%	8.6%	58.6%	32.8%	37.9%	62.1%	13.8%	58.6%	27.6%	43.1%	56.9%
	México	SP	2.4%	24.4%	73.2%	14.6%	85.4%	24.4%	39.0%	36.6%	43.9%	56.1%	14.3%	52.4%	33.3%	40.5%	59.5%	33.3%	42.9%	23.8%	54.8%	45.2%
(Fishman <i>et al.</i> 1998)	Reino Unido	Caucásicos con ACJ-S	10.9%	58.7%	30.4%	40.2%	59.8%															
	Reino Unido	Caucásicos SS	18.3%	44.1%	37.6%	40.3%	59.7%															
	Reino Unido	Asiáticos con EP	2.4%	17.6%	80.0%	11.2%	88.8%															
	Reino Unido	Asiáticos con SP	3.4%	20.7%	75.9%	13.8%	86.2%															
(Nibali <i>et al.</i> 2009)	Reino Unido	Caucásicos con EP	16.4%	44.7%	39.0%	38.7%	61.3%															
	Reino Unido	Caucásicos con SP	19.4%	51.4%	29.2%	45.1%	54.9%															
	Reino Unido	Negros con EP	0%	10.0%	90.0%	5.0%	95.0%															
	Reino Unido	Negros con SP	0%	15.6%	84.4%	7.8%	92.2%															
(Pantelidis <i>et al.</i> 2001)	Reino Unido	FPI	NA	NA	NA	44.6%	55.4%															
	Reino Unido	SS	NA	NA	NA	46.0%	54.0%															
(Karahan <i>et al.</i> 2005)	Turquía	ECP	9.3%	27.9%	62.8%	23.3%	76.7%															
	Turquía	SS	7.2%	26.5%	66.3%	20.5%	79.5%															

**ACJ-S:** artritis crónica juvenil sistémica. **DMT2:** diabetes mellitus tipo 2. **EC:** enfermedad coronaria. **ECI:** embolia cerebral isquémica. **ECP:** embolia cerebral pediátrica. **ECVA:** eventos cerebrovasculares agudos. **EHA:** enfermedad hepática alcohólica. **EP:** enfermedad periodontal (incluye PCG y PAG). **E.U.:** Estados Unidos de Norteamérica. **FPI:** fibrosis pulmonar idiopática. **ICV:** inmunodeficiencia común variable. **LES:** lupus eritematoso sistémico. **LHAJ:** linfoma de Hodgkin del adulto joven. **NA:** no aparece el dato. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **Rep. Checa:** República Checa. **SP:** salud periodontal. **SS:** sistémicamente sanos. **S. Sjögren P.:** síndrome de Sjögren primario.

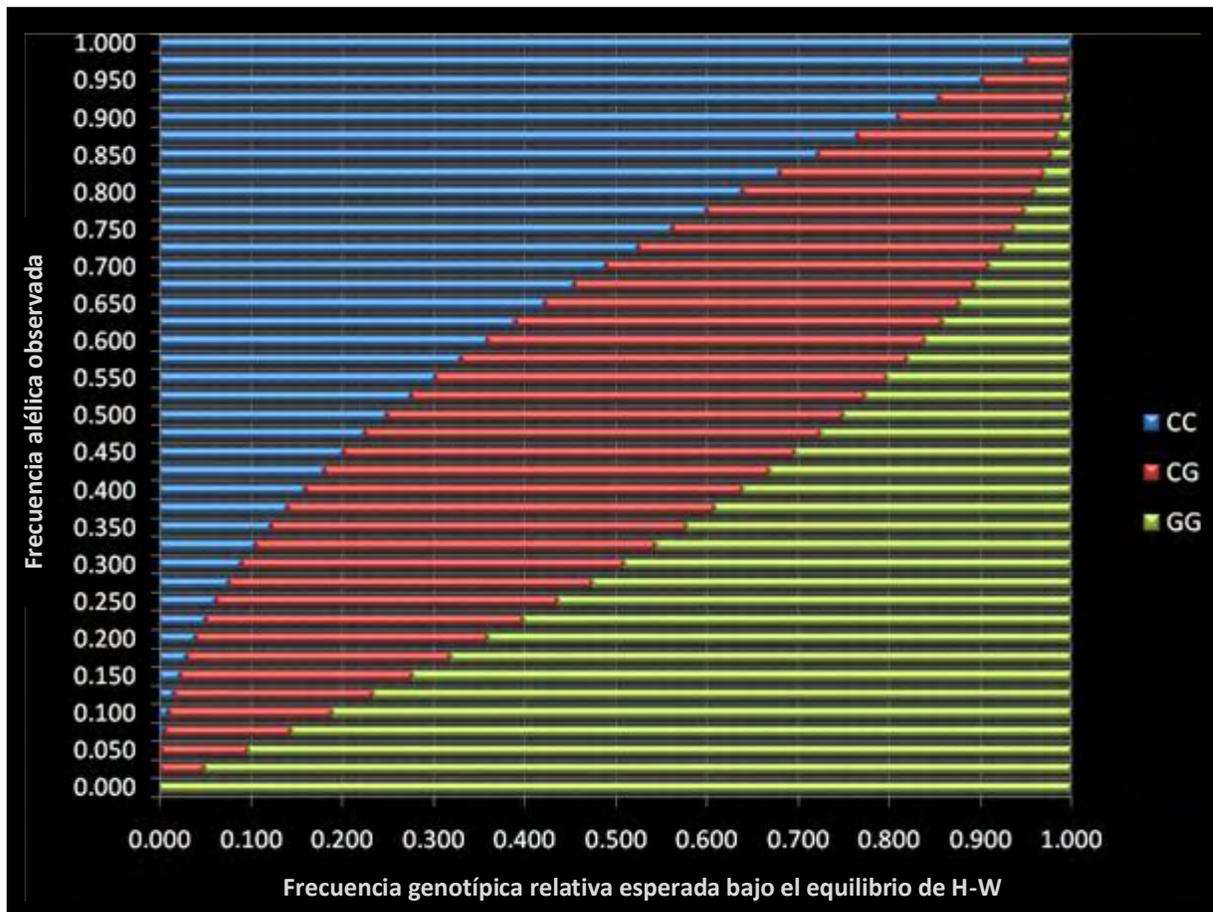


**Tabla 7b.** continuación.

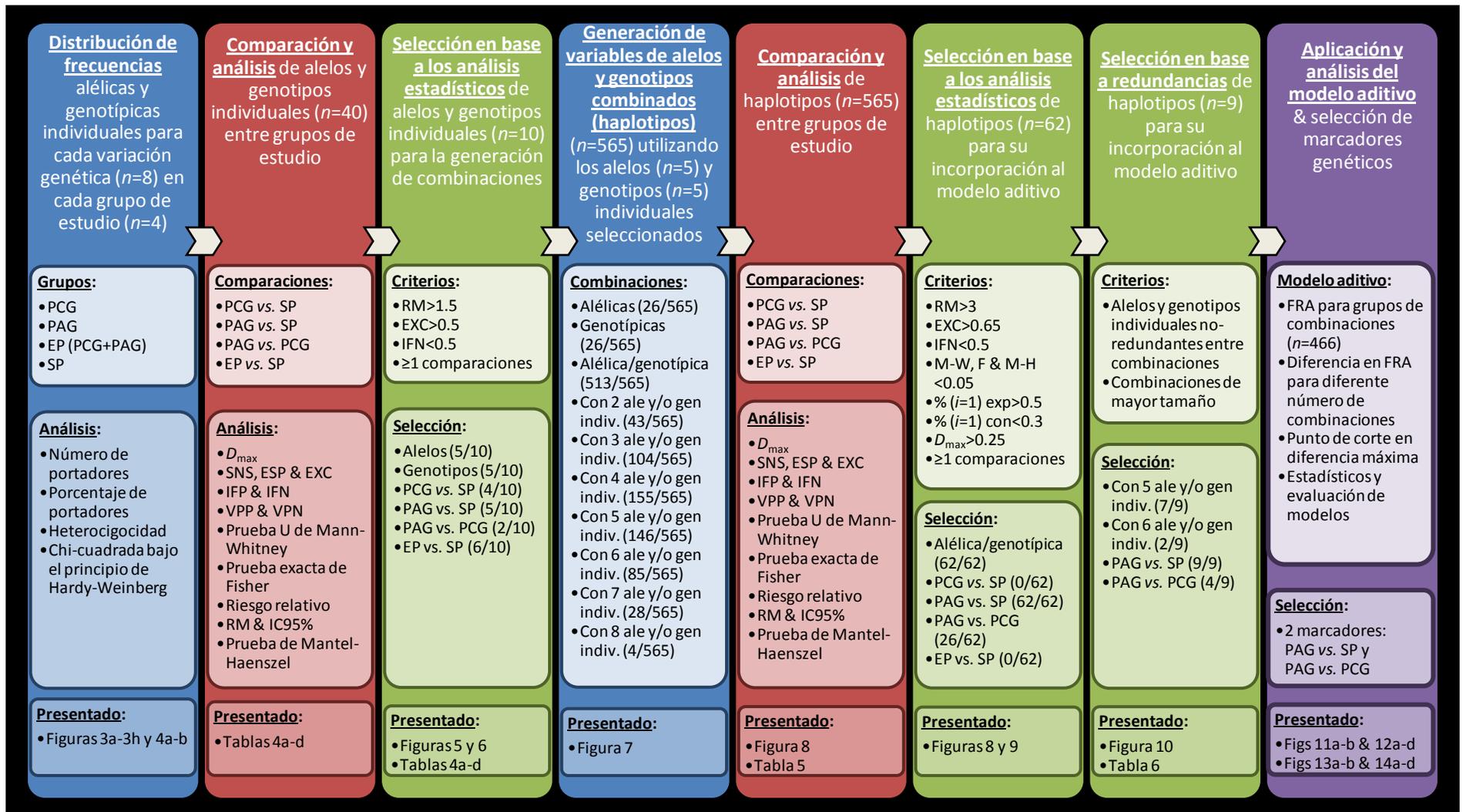
Referencia	Población	Características	IL10:c.-1117A>G					IL12B:c.*159A>C					TNF:c.-488G>A					LTA:c.131+90A>G				
			[AA]	[AG]	[GG]	[A]	[G]	[AA]	[AC]	[CC]	[A]	[C]	[GG]	[GA]	[AA]	[G]	[A]	[AA]	[AG]	[GG]	[A]	[G]
(Um & Kim 2003)	Corea	SS																				
(Parra-Rojas <i>et al.</i> 2006)	México	SS																				
Presente estudio	México	PAG	63.0%	37.0%	0%	81.5%	18.5%	29.6%	59.3%	11.1%	59.3%	40.7%	96.3%	3.7%	0%	98.1%	1.9%	63.0%	29.6%	7.4%	77.8%	22.2%
	México	PCG	53.4%	44.8%	1.8%	75.9%	24.1%	29.3%	51.7%	19.0%	55.2%	44.8%	89.5%	8.8%	1.8%	93.9%	6.1%	48.3%	34.5%	17.2%	65.5%	34.5%
	México	SP	53.7%	41.4%	4.9%	74.4%	25.6%	38.1%	45.2%	16.7%	60.7%	39.3%	87.8%	12.2%	0%	93.9%	6.1%	47.6%	47.6%	4.8%	71.4%	28.6%
(Wu <i>et al.</i> 2007)	México	Niños asmáticos																				
(Grove <i>et al.</i> 1997)	Reino Unido	EHA																				
	Reino Unido	SS																				
(Pantelidis <i>et al.</i> 2001)	Reino Unido	FPI											NA	NA	NA	82.6%	17.4%	NA	NA	NA	60.1%	39.9%
	Reino Unido	SS											NA	NA	NA	79.1%	20.9%	NA	NA	NA	65.4%	34.6%
(Fassmann <i>et al.</i> 2003)	Rep. Checa	Caucásicos con PCG																				
	Rep. Checa	Caucásicos con SP																				
(Corbett <i>et al.</i> 2002)	Sudáfrica	Silicosis moderada																				
	Sudáfrica	SS																				
(Karahán <i>et al.</i> 2005)	Turquía	ECP																				
	Turquía	SS																				

**ACJ-S:** artritis crónica juvenil sistémica. **DMT2:** diabetes mellitus tipo 2. **EC:** enfermedad coronaria. **ECI:** embolia cerebral isquémica. **ECP:** embolia cerebral pediátrica. **ECVA:** eventos cerebrovasculares agudos. **EHA:** enfermedad hepática alcohólica. **EP:** enfermedad periodontal (incluye PCG y PAG). **E.U.:** Estados Unidos de Norteamérica. **FPI:** fibrosis pulmonar idiopática. **ICV:** inmunodeficiencia común variable. **LES:** lupus eritematoso sistémico. **LHAJ:** linfoma de Hodgkin del adulto joven. **NA:** no aparece el dato. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **Rep. Checa:** República Checa. **SP:** salud periodontal. **SS:** sistémicamente sanos. **S. Sjögren P.:** síndrome de Sjögren primario.

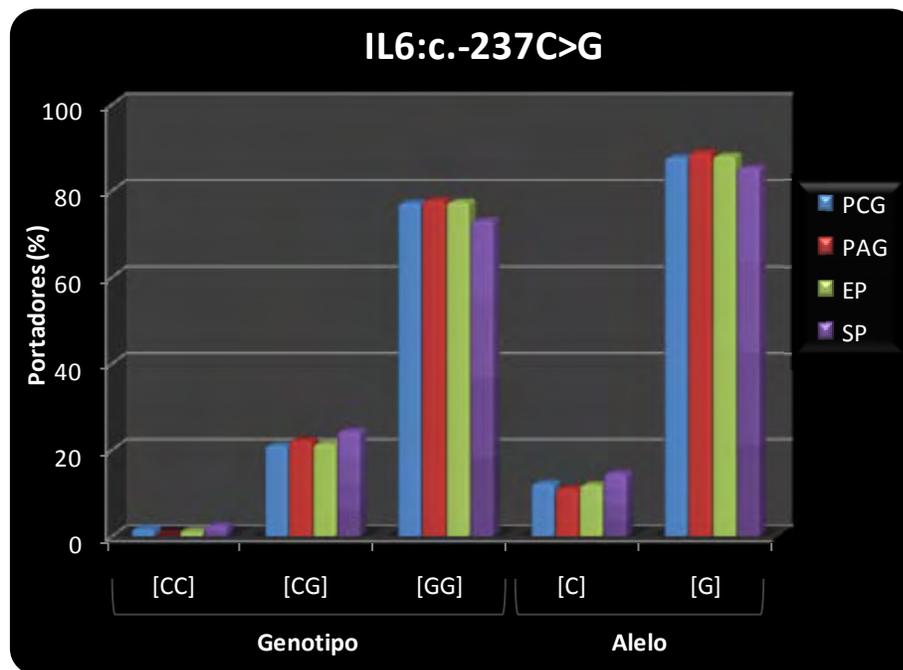
## FIGURAS



**Figura 1.** Principio de Hardy-Weinberg. Distribución esperada de frecuencias genotípicas en base a las frecuencias alélicas observadas de acuerdo con el principio de Hardy-Weinberg (H-W), también conocido como equilibrio de Hardy-Weinberg o ley de Hardy-Weinberg. Este principio establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras que no actúe la selección natural ni algún otro factor ambiental capaz de producir mutaciones. El principio de H-W establece que bajo ciertas condiciones, tras una generación de apareamiento al azar, las frecuencias de los genotipos de un locus individual se fijarán en un valor de equilibrio particular. También especifica que esas frecuencias de equilibrio se pueden representar como una función sencilla de las frecuencias alélicas en ese locus. Por ejemplo, considerando un locus con dos alelos A y a, con frecuencias alélicas de  $p$  y  $q$  respectivamente, el principio de H-W predice que la frecuencia genotípica para el homocigoto dominante AA es  $p^2$ , la del heterocigoto Aa es  $2pq$  y la del homocigoto recesivo aa es  $q^2$ . Por lo tanto, el principio de Hardy-Weinberg es una expresión de la noción de una población que está en "equilibrio genético" y es un principio básico de la genética de poblaciones.

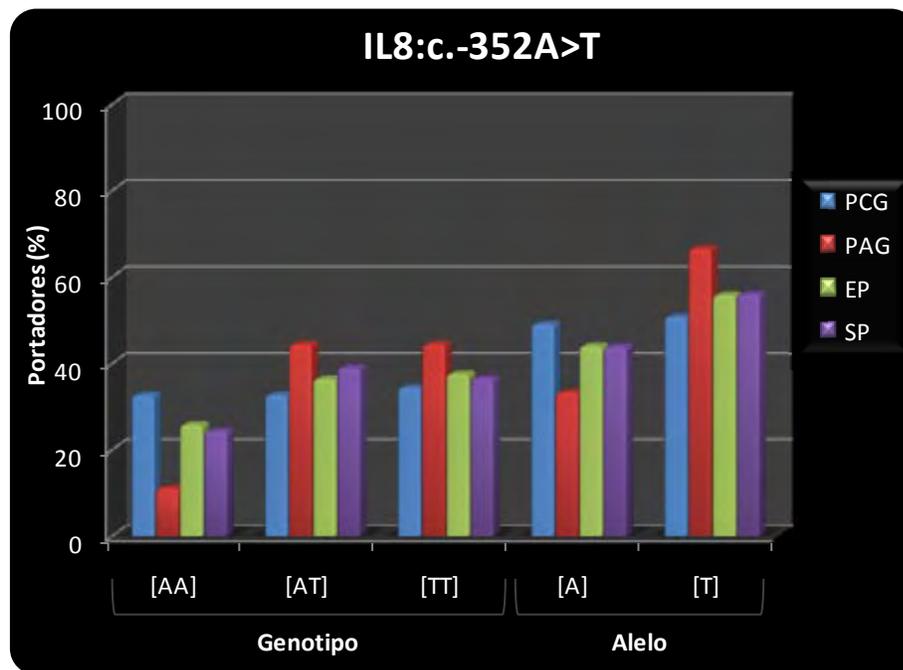


**Figura 2.** Diagrama de flujo del modelo matemático-estadístico diseñado para el análisis de los datos del estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental y control. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios.  **$\geq 1$  comparaciones:** en una o más de las 4 comparaciones entre grupos. **ale y/o gen indiv.:** alelos y/o genotipos individuales. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **F:** prueba exacta de Fisher. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios. **% ( $i=1$ ) exp:** porcentaje de portadores en el grupo experimental. **% ( $i=1$ ) con:** porcentaje de portadores en el grupo control. **FRA:** frecuencia relativa acumulada.



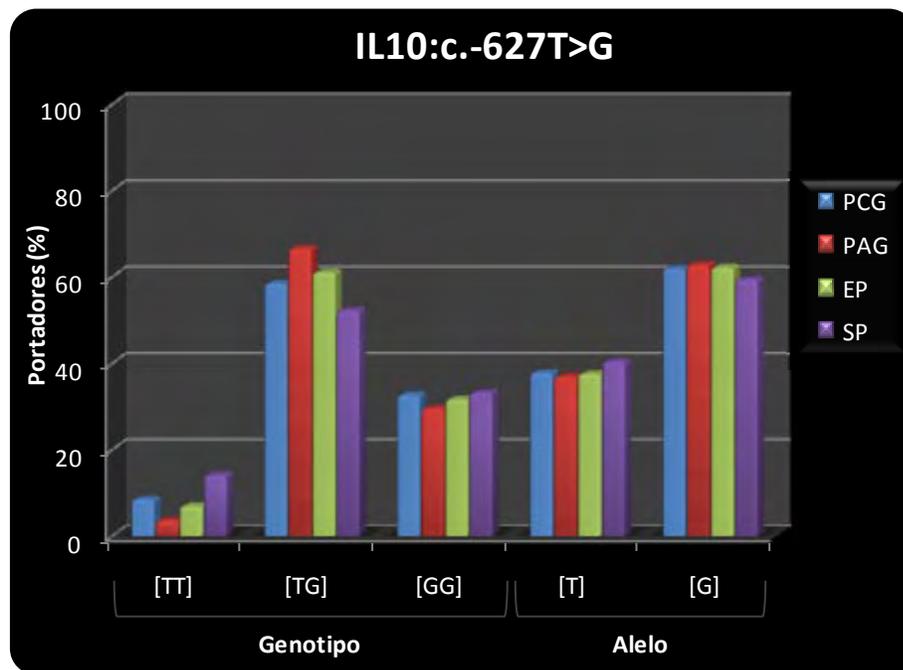
Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución	
		[CC]	[CG]	[GG]	[C]	[G]	Htr	H-W $\chi^2$
		i= %	i= %	i= %	i= %	i= %		
PCG	57	1 (1.8)	12 (21.1)	44 (77.2)	14 (12.3)	100 (87.7)	0.21	0.03
PAG	27	0 (0.0)	6 (22.2)	21 (77.8)	6 (11.1)	48 (88.9)	0.22	0.42
EP	84	1 (1.2)	18 (21.4)	65 (77.4)	20 (11.9)	148 (88.1)	0.21	0.04
SP	41	1 (2.4)	10 (24.4)	30 (73.2)	12 (14.6)	70 (85.4)	0.24	0.02

**Figura 3a.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL6:c.-237C>G en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



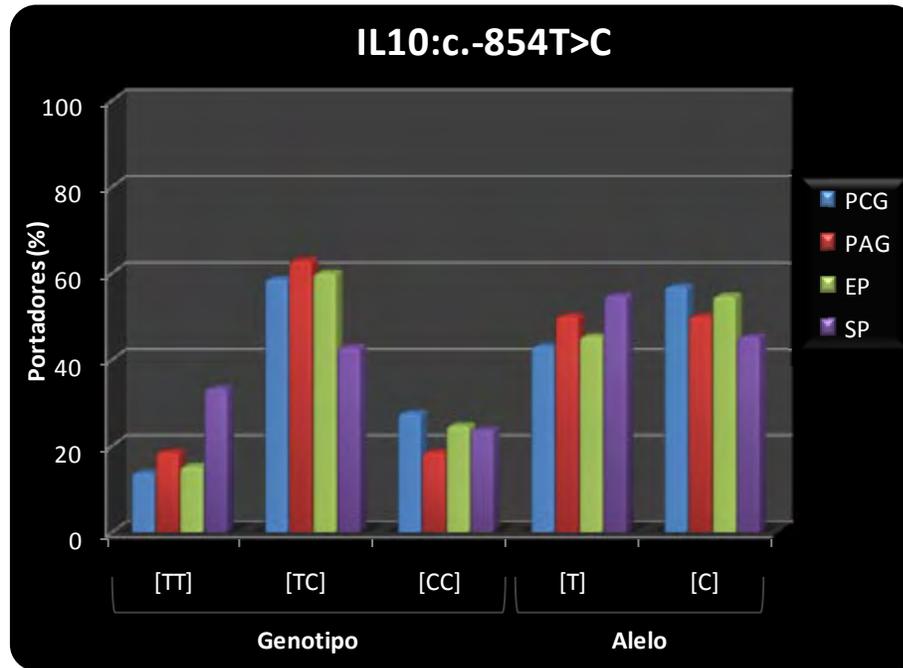
	Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución	
			[AA]	[AT]	[TT]	[A]	[T]	Htr	H-W $\chi^2$
			i= %						
	PCG	58	19 (32.8)	19 (32.8)	20 (34.5)	57 (49.1)	59 (50.9)	0.33	6.89
	PAG	27	3 (11.1)	12 (44.4)	12 (44.4)	18 (33.3)	36 (66.7)	0.44	0.00
	EP	85	22 (25.9)	31 (36.5)	32 (37.6)	75 (44.1)	95 (55.9)	0.36	5.76
	SP	41	10 (24.4)	16 (39.0)	15 (36.6)	36 (43.9)	46 (56.1)	0.39	1.77

**Figura 3b.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL8:c.-352A>T en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. Las celdas sombreadas señalan a los grupos de estudio en los que la distribución de genotipos se encontró fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



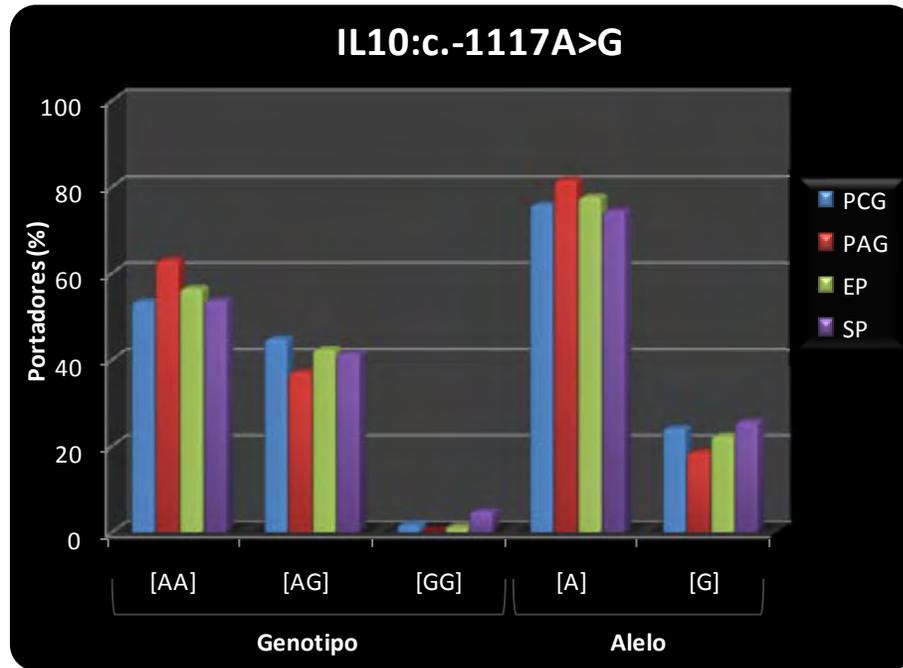
Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución	
		[TT]	[TG]	[GG]	[T]	[G]	Htr	H-W $\chi^2$
PCG	58	5 (8.6)	34 (58.6)	19 (32.8)	44 (37.9)	72 (62.1)	0.59	3.48
PAG	27	1 (3.7)	18 (66.7)	8 (29.6)	20 (37.0)	34 (63.0)	0.67	4.98
EP	85	6 (7.1)	52 (61.2)	27 (31.8)	64 (37.6)	106 (62.4)	0.61	7.81
SP	42	6 (14.3)	22 (52.4)	14 (33.3)	34 (40.5)	50 (59.5)	0.52	0.32

**Figura 3c.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL10:c.-627T>G en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. Las celdas sombreadas señalan a los grupos de estudio en los que la distribución de genotipos se encontró fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. **PCG**: periodontitis crónica generalizada. **PAG**: periodontitis agresiva generalizada. **EP**: enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP**: salud periodontal. **N=**: número total de sujetos evaluados. **n=**: número de portadores. **%=**: porcentaje de portadores. **Htr**: heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$** : chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



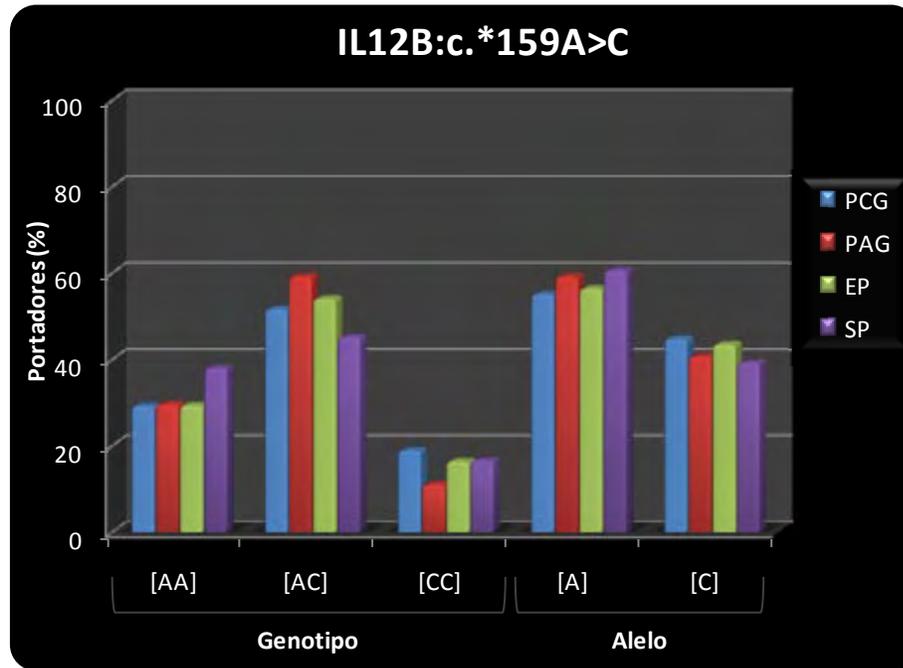
Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución	
		[TT]	[TC]	[CC]	[T]	[C]	Htr	H-W $\chi^2$
PCG	58	i= 8 (13.8)	i= 34 (58.6)	i= 16 (27.6)	i= 50 (43.1)	i= 66 (56.9)	0.59	2.21
PAG	27	i= 5 (18.5)	i= 17 (63.0)	i= 5 (18.5)	i= 27 (50.0)	i= 27 (50.0)	0.63	1.81
EP	85	i= 13 (15.3)	i= 51 (60.0)	i= 21 (24.7)	i= 77 (45.3)	i= 93 (54.7)	0.60	3.77
SP	42	i= 14 (33.3)	i= 18 (42.9)	i= 10 (23.8)	i= 46 (54.8)	i= 38 (45.2)	0.43	0.77

**Figura 3d.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL10:c.-854T>C en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigicidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



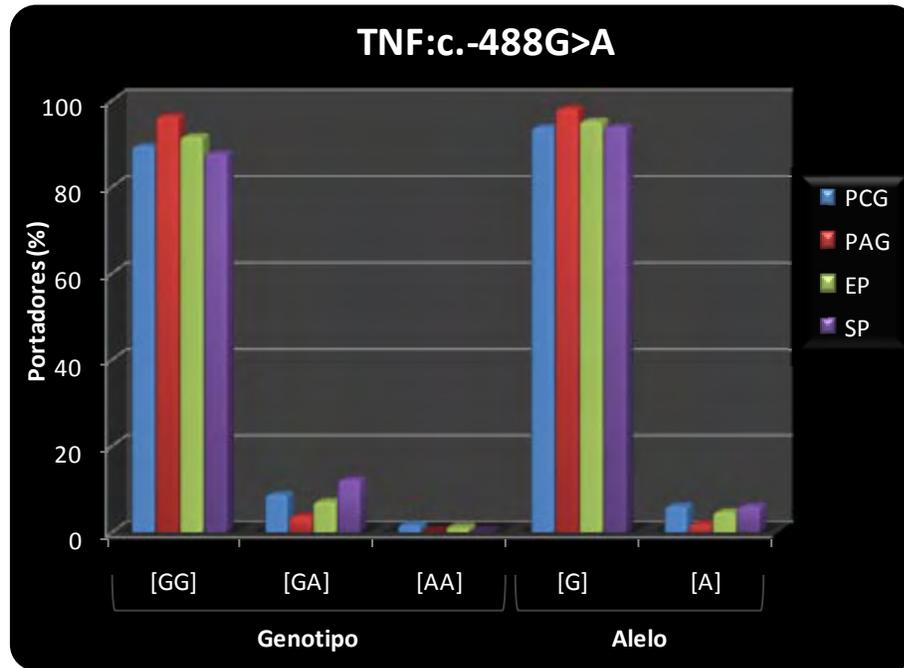
Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución	
		[AA]	[AG]	[GG]	[A]	[G]	Htr	H-W $\chi^2$
PCG	58	i= 31 (53.4)	i= 26 (44.8)	i= 1 (1.7)	i= 88 (75.9)	i= 28 (24.1)	0.45	2.91
PAG	27	i= 17 (63.0)	i= 10 (37.0)	i= 0 (0.0)	i= 44 (81.5)	i= 10 (18.5)	0.37	1.39
EP	85	i= 48 (56.5)	i= 36 (42.4)	i= 1 (1.2)	i= 132 (77.6)	i= 38 (22.4)	0.42	4.12
SP	41	i= 22 (53.7)	i= 17 (41.5)	i= 2 (4.9)	i= 61 (74.4)	i= 21 (25.6)	0.41	0.32

**Figura 3e.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL10:c.-1117A>G en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. La celda sombreada señala al grupo de estudio en el que la distribución de genotipos se encontró fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. **PCG**: periodontitis crónica generalizada. **PAG**: periodontitis agresiva generalizada. **EP**: enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP**: salud periodontal. **N=**: número total de sujetos evaluados. **n=**: número de portadores. **%=**: porcentaje de portadores. **Htr**: heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$** : chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



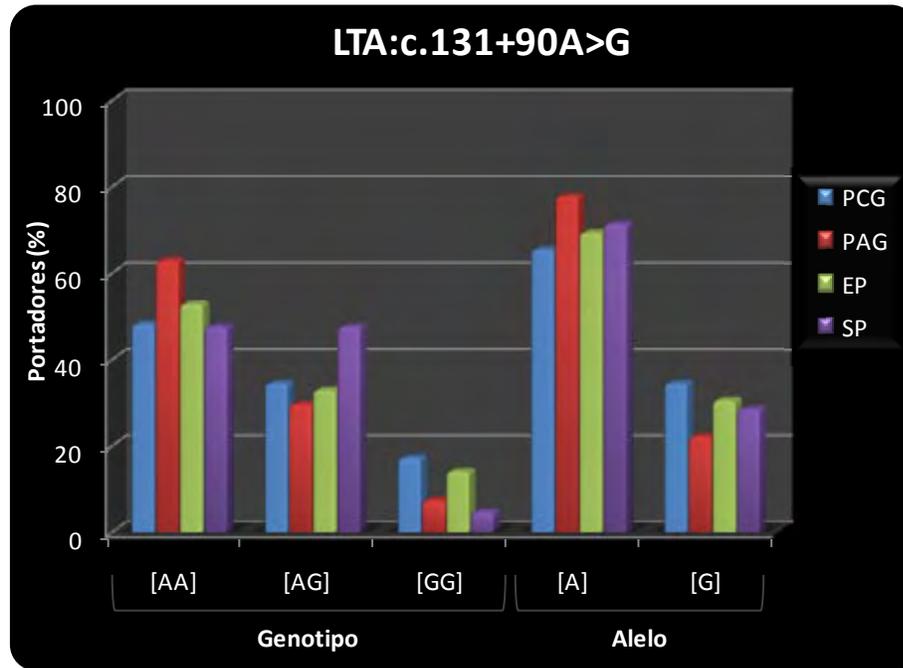
	Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución				
			[AA]	[AC]	[CC]	[A]	[C]	Htr	H-W $\chi^2$			
			i=	%	i=	%	i=	%	i=	%		
PCG	58	17 (29.3)	30 (51.7)	11 (19.0)	64 (55.2)	52 (44.8)	0.52	0.12				
PAG	27	8 (29.6)	16 (59.3)	3 (11.1)	32 (59.3)	22 (40.7)	0.59	1.39				
EP	85	25 (29.4)	46 (54.1)	14 (16.5)	96 (56.5)	74 (43.5)	0.54	0.86				
SP	42	16 (38.1)	19 (45.2)	7 (16.7)	51 (60.7)	33 (39.3)	0.45	0.11				

**Figura 3f.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación IL12:c.\*159A>C en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigicidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



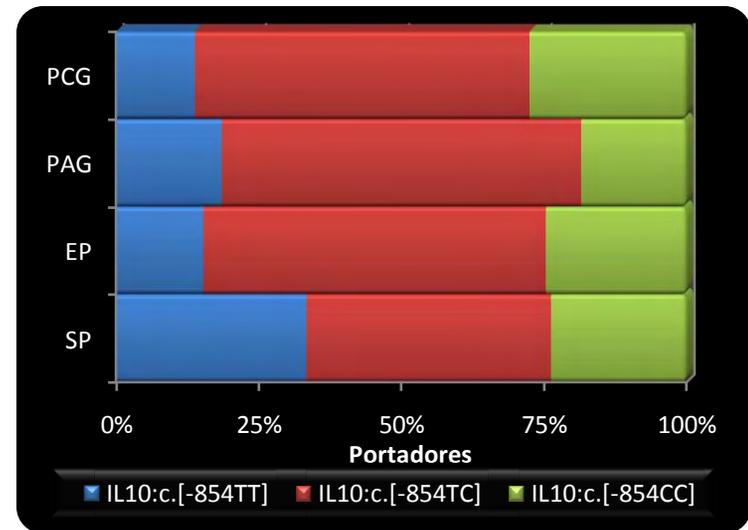
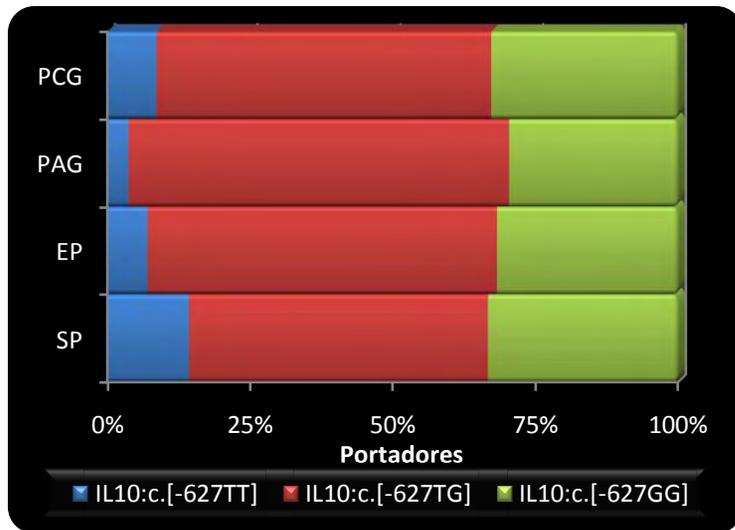
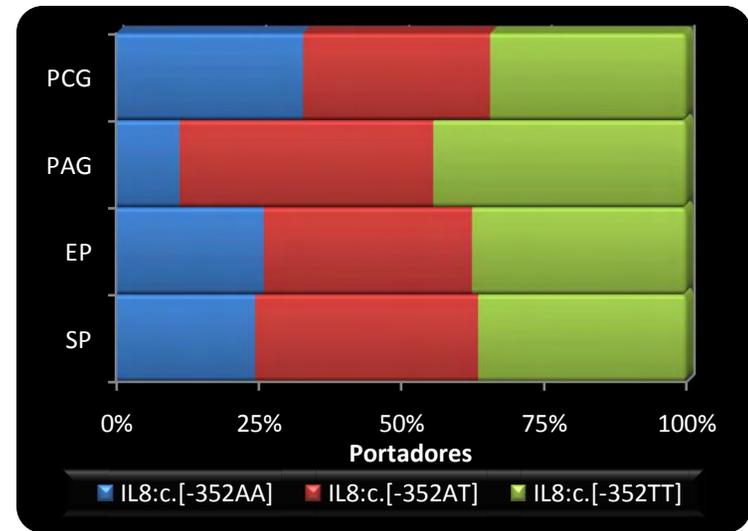
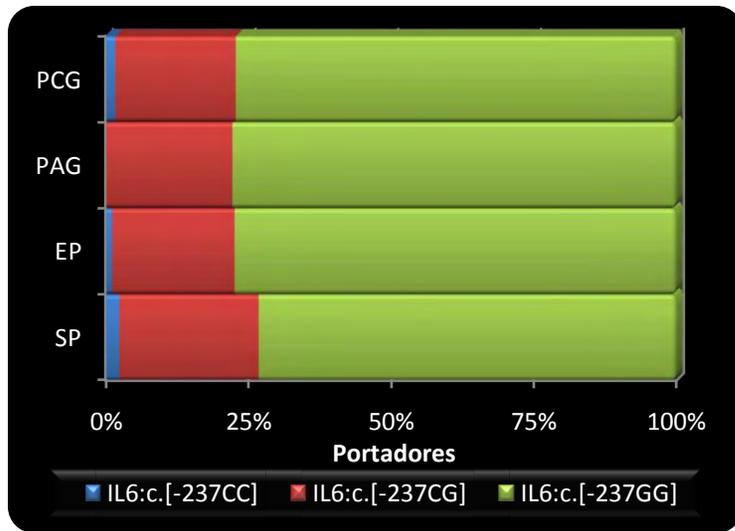
	Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución						
			[GG]	[GA]	[AA]	[G]	[A]	Htr	H-W $\chi^2$					
			i=	%	i=	%	i=	%	i=	%				
	PCG	57	51	(89.5)	5	(8.8)	1	(1.8)	107	(93.9)	7	(6.1)	0.09	3.26
	PAG	27	26	(96.3)	1	(3.7)	0	(0.0)	53	(98.1)	1	(1.9)	0.04	0.01
	EP	84	77	(91.7)	6	(7.1)	1	(1.2)	160	(95.2)	8	(4.8)	0.07	3.79
	SP	41	36	(87.8)	5	(12.2)	0	(0.0)	77	(93.9)	5	(6.1)	0.12	0.17

**Figura 3g.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación TNF:c.-488G>A en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.

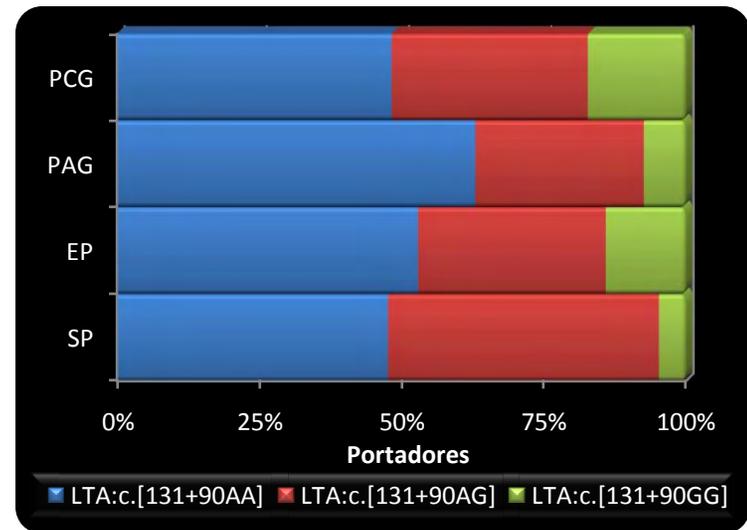
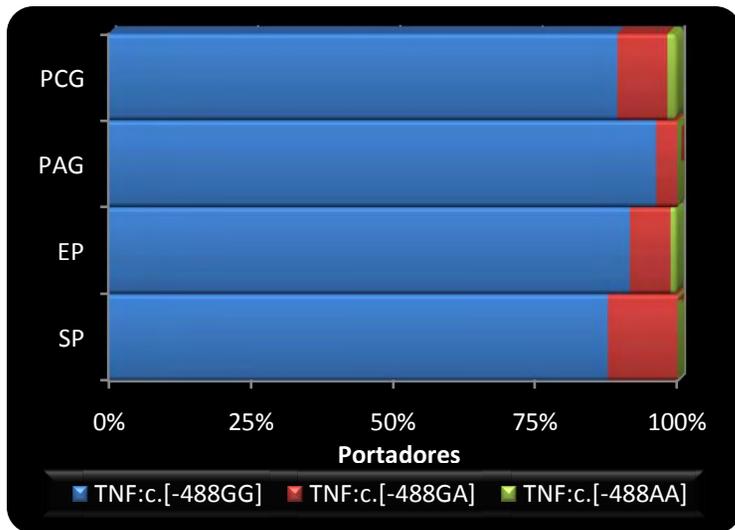
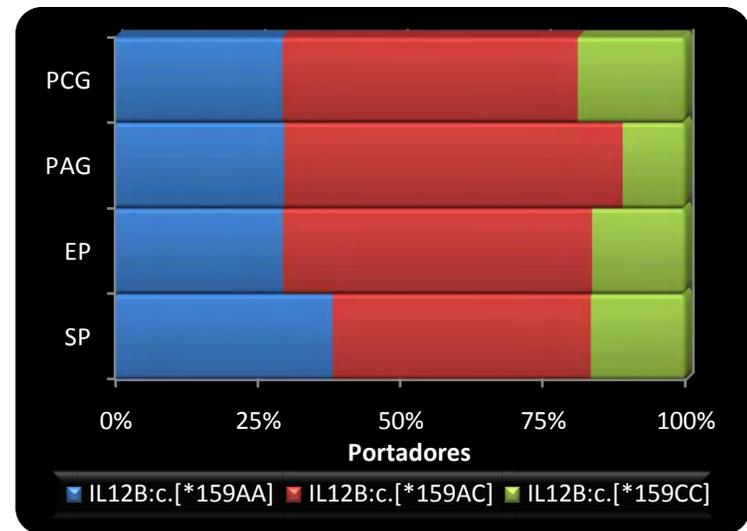
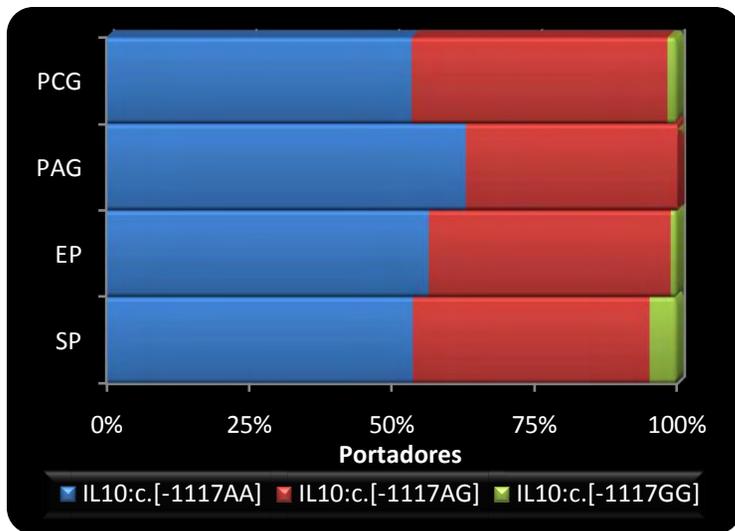


	Grupo	n =	Genotipo			Alelo		Distribución				
			[AA]	[AG]	[GG]	[A]	[G]	Htr	H-W $\chi^2$			
			i=	%	i=	%	i=	%	i=	%		
PCG	58	28 (48.3)	20 (34.5)	10 (17.2)	76 (65.5)	40 (34.5)	0.34	3.25				
PAG	27	17 (63.0)	8 (29.6)	2 (7.4)	42 (77.8)	12 (22.2)	0.30	0.55				
EP	85	45 (52.9)	28 (32.9)	12 (14.1)	118 (69.4)	52 (30.6)	0.33	4.27				
SP	42	20 (47.6)	20 (47.6)	2 (4.8)	60 (71.4)	24 (28.6)	0.48	1.17				

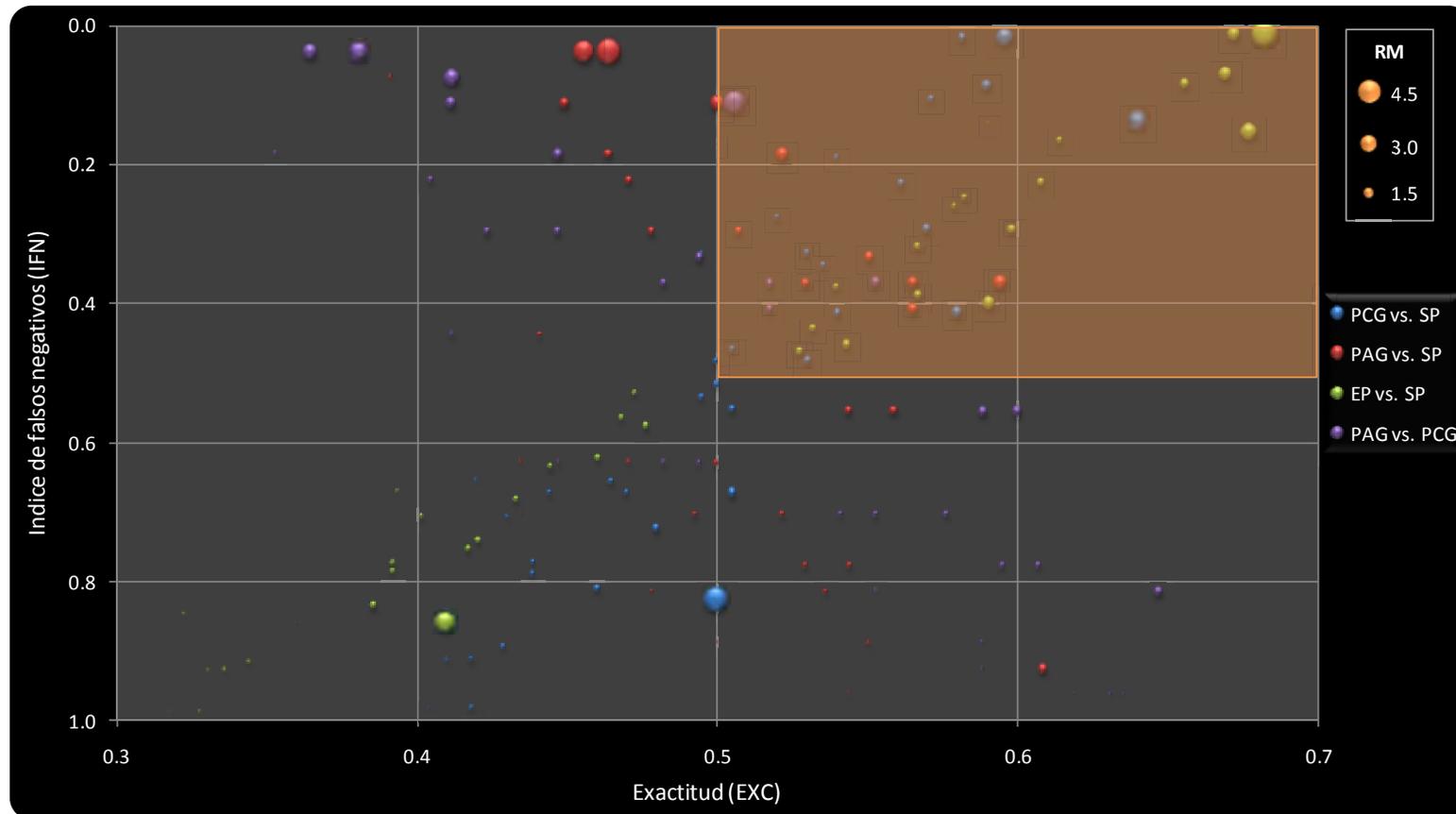
**Figura 3h.** Distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de la variación LTA:c.131+90A>G en sujetos mexicanos ( $n=125$ ) con diferente condición periodontal. La celda sombreada señala al grupo de estudio en el que la distribución de genotipos se encontró fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores. **Htr:** heterocigocidad. **H-W  $\chi^2$ :** chi-cuadrada bajo el principio de Hardy-Weinberg.



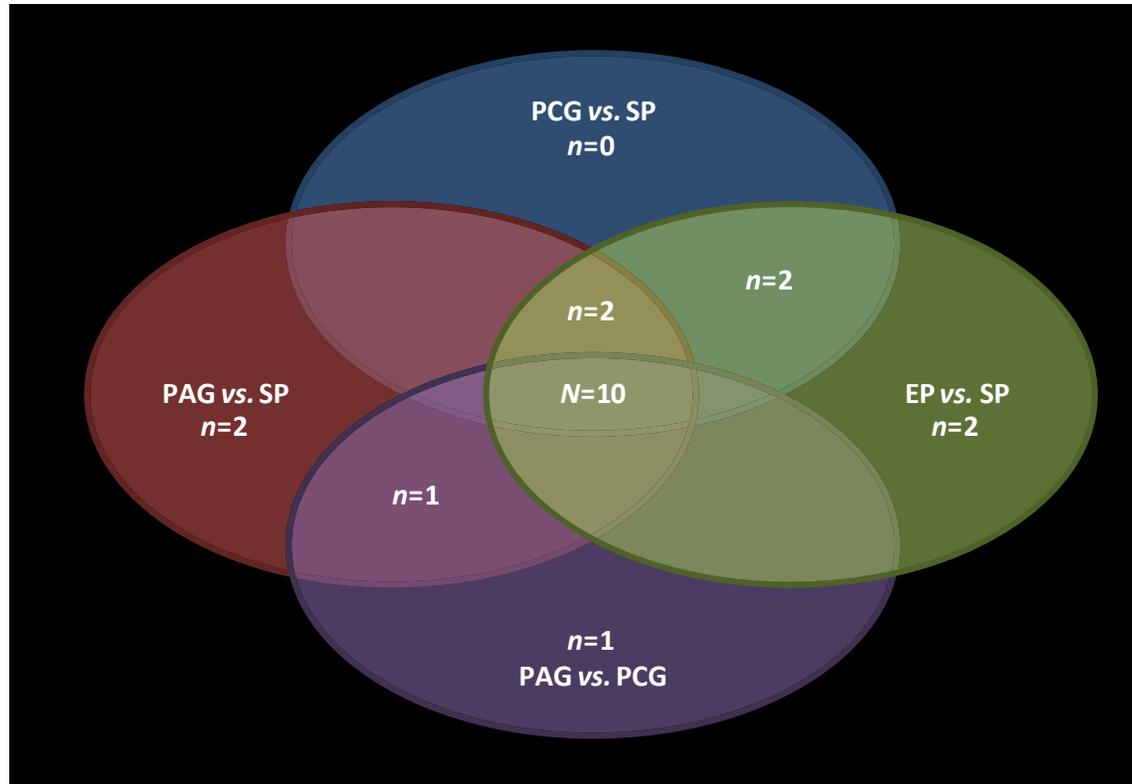
**Figura 4a.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en la proporción de portadores de los diferentes genotipos (homocigotos y heterocigoto) entre cada grupo de estudio para las variaciones genéticas IL6:c.-237C>G, IL8:c.-352A>T, IL10:c.-627T>G e IL10:c.-854T>C.



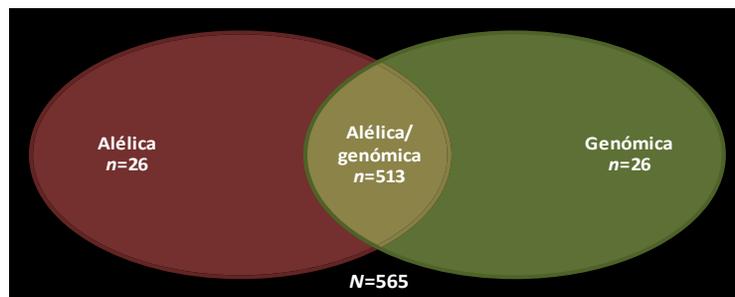
**Figura 4b.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en la proporción de portadores de los diferentes genotipos (homocigotos y heterocigoto) entre cada grupo de estudio para las variaciones genéticas IL10:c.-1117A>G, IL12B:c.\*159A>C, TNF:c.-488A>G y LTA:c.131+90A>G en los 4 grupos de estudio.



**Figura 5.** Gráfica de burbuja de los alelos y genotipos individuales de las 8 variaciones genéticas evaluadas ( $n=40$ ) en el espacio de “exactitud (EXC) para marcar correctamente a los grupos experimental y control vs. índice de falsos negativos (IFN) en el grupo experimental”. El tamaño de las burbujas representa la razón de momios (RM, probabilidad de riesgo de padecer la condición del grupo experimental y no la del grupo control cuando se es portador del alelo o genotipo individual en cuestión). Los diferentes colores de las burbujas señalan los valores obtenidos para alelos y genotipos individuales en cada una de las 4 comparaciones entre grupos: PCG vs. SP (azul), PAG vs. SP (rojo), EP vs. SP (verde) y PAG vs. PCG (morado). El recuadro sombreado en el extremo superior derecho, delimita los puntos de corte establecidos en cuanto a EXC ( $>0.5$ ) e IFN ( $<0.5$ ) para la selección de alelos y genotipos individuales. Además, los criterios de selección consideraron únicamente alelos y genotipos individuales que además de estar dentro de los 2 puntos de corte anteriores presentaran una  $RM>1.5$ , en una o más de las 4 comparaciones entre grupos. De los 40 alelos y genotipos individuales analizados, únicamente los 10 (5 alelos y 5 genotipos) que cumplieron con los 3 criterios de selección fueron incluidos en los análisis posteriores (**Tablas 4a-d**). **PCG**: periodontitis crónica generalizada. **PAG**: periodontitis agresiva generalizada. **EP**: enfermedad periodontal (incluye PCG y PAG). **SP**: salud periodontal. **RM**: razón de momios.



**Figura 6.** Diagrama de Venn que presenta el universo de los 10 alelos y genotipos seleccionados en base a su relevancia para marcar y separar a grupos experimentales específicos dentro de las 4 comparaciones analizadas. Ninguno de los alelos o genotipos individuales seleccionados mostró capacidad para marcar de manera exclusiva al grupo PCG en la comparación PCG vs. SP. Sin embargo, 2 de ellos mostraron relevancia para marcar tanto al grupo anterior como al grupo EP en la comparación EP vs. SP (intersección azul-verde), y 2 diferentes, adicionalmente fueron relevantes para marcar tanto a los 2 grupos anteriores como al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP (intersección azul-verde-roja). 2 de los alelos y genotipos individuales seleccionados fueron relevantes para marcar exclusivamente al grupo PAG en la comparación PAG vs. SP (elipse roja), mientras que uno de ellos mostró capacidad conjunta para marcar al grupo experimental mencionado tanto en la comparación anterior, como en la comparación PAG vs. PCG (intersección roja-morada). Un alelo seleccionado marcó exclusivamente al grupo PAG en la comparación PAG vs. PCG (elipse morada) y 2 exclusivamente al grupo EP en la comparación EP vs. SP (elipse verde). **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **RM:** razón de momios.

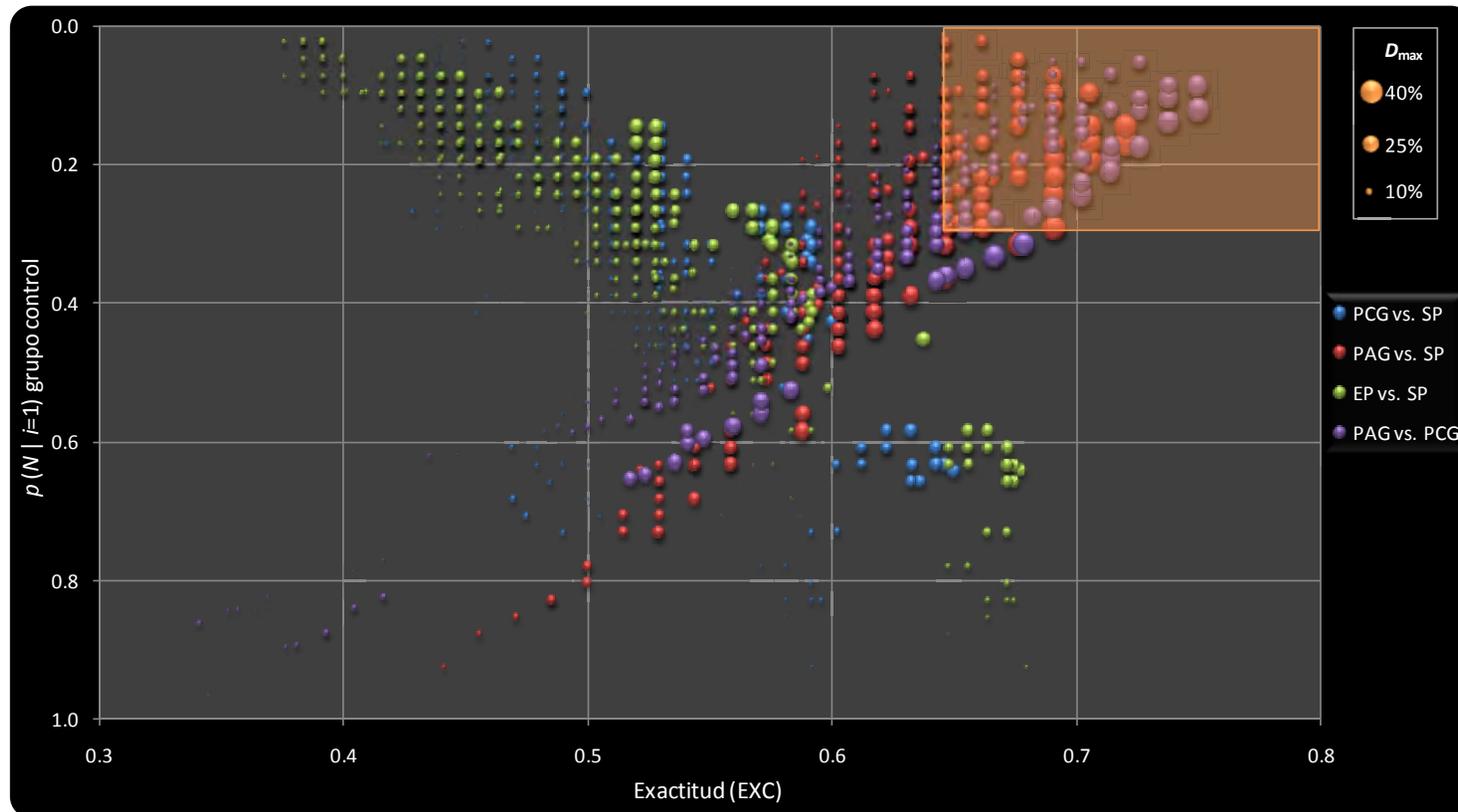


Tipo de combinación	No. de alelos y/o genotipos individuales	No. de combinaciones
Alélica	2 a 5	26
Genotípica	2 a 5	26
Alélica/genotípica	2 a 8	513
<b>Total</b>		<b>565</b>

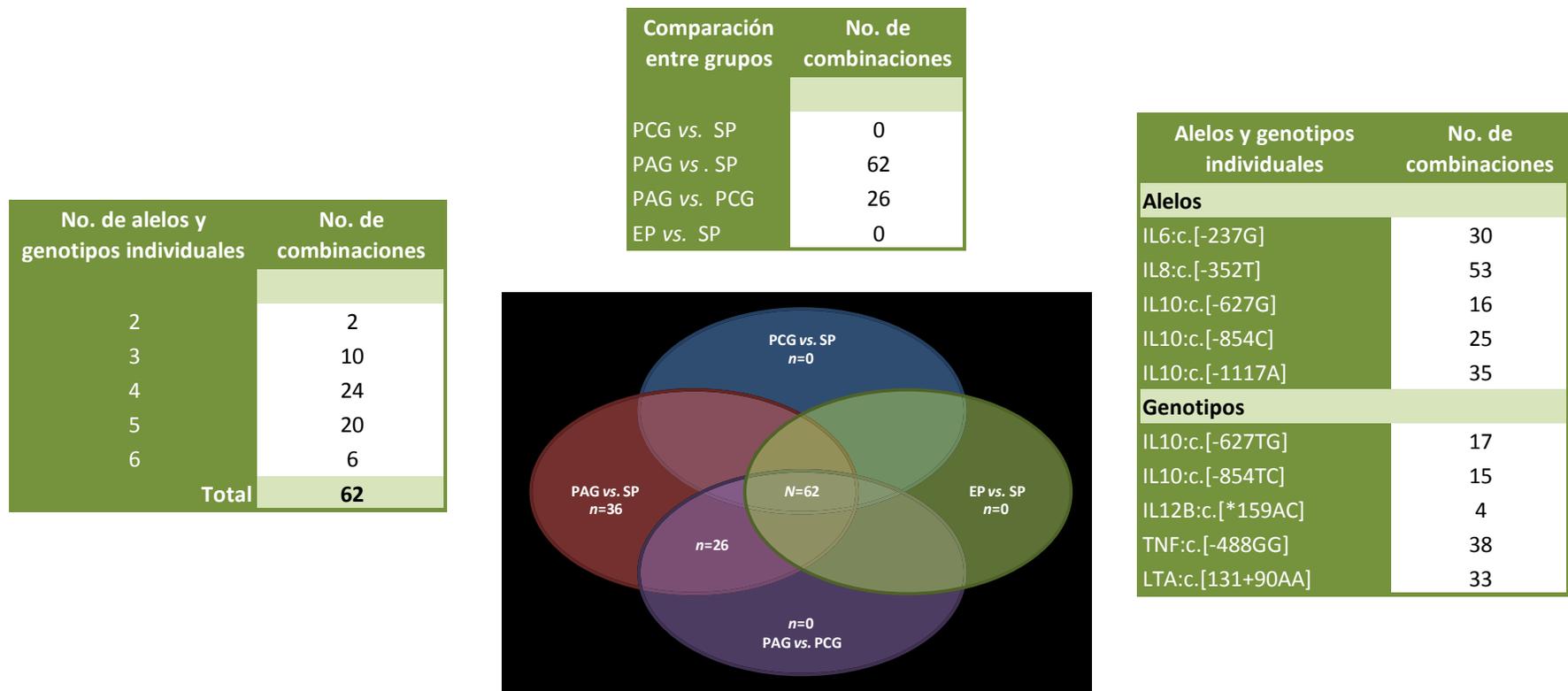
No. de alelos y/o genotipos individuales	No. de combinaciones
2	43
3	104
4	155
5	146
6	85
7	28
8	4
<b>Total</b>	<b>565</b>

Alelos y genotipos individuales	No. de combinaciones
<b>Alelos</b>	
IL6:c.[-237G]	286
IL8:c.[-352T]	286
IL10:c.[-627G]	190
IL10:c.[-854C]	190
IL10:c.[-1117A]	286
<b>Genotipos</b>	
IL10:c.[-627TG]	190
IL10:c.[-854TC]	190
IL12B:c.[*159AC]	286
TNF:c.[-488GG]	286
LTA:c.[131+90AA]	286

**Figura 7.** Descripción de las 565 variables generadas de alelos y genotipos combinados empleando los 10 alelos y genotipos individuales seleccionados en el análisis anterior (Tablas 4a-d y Figura 5). El diagrama de Venn y el cuadro del lado izquierdo describen los 3 tipos de combinaciones generadas: alélica ( $n=26$ , compuestas exclusivamente por los 5 alelos individuales seleccionados), genotípica ( $n=26$ , compuestas exclusivamente por los 5 genotipos individuales seleccionados) y alélica/genotípica ( $n=513$ , compuestas tanto por los 5 alelos como por los 5 genotipos individuales seleccionados). Adicionalmente, el cuadro muestra el número de alelos y/o genotipos individuales incorporados a cada tipo de combinación. El cuadro central presenta el número de combinaciones que incluyeron de 2 a 8 alelos y/o genotipos individuales. El número de ocasiones en las que cada uno de los alelos y genotipos individuales seleccionados fueron incluidos en alguna de las 565 combinaciones generadas se describe en el cuadro del lado derecho.



**Figura 8.** Gráfica de burbuja de las combinaciones alélicas, genotípicas y alélica/genotípica generadas ( $n=565$ ) en el espacio de “exactitud (EXC) para marcar correctamente a los grupos experimental y control vs. porcentaje de portadores en el grupo control”. El tamaño de las burbujas representa la diferencia entre el grupo experimental y control en el porcentaje de portadores ( $D_{\max}$ ). Los diferentes colores de las burbujas señalan los valores obtenidos para las combinaciones en cada una de las 4 comparaciones entre grupos: PCG vs. SP (azul), PAG vs. SP (rojo), EP vs. SP (verde) y PAG vs. PCG (morado). El recuadro sombreado en el extremo superior derecho, delimita los puntos de corte establecidos para la selección de combinaciones en cuanto a EXC ( $>0.65$ ) y % portadores en el grupo control ( $<0.3$ ). Además, los criterios de selección consideraron únicamente a las combinaciones que presentaran  $D_{\max} > 0.25$ , RM  $> 3$ , prueba U de Mann-Whitney  $p < 0.05$ , prueba exacta de Fisher  $p < 0.05$ , prueba de Mantel-Haenszel  $p < 0.05$ , porcentaje de portadores en el grupo experimental  $> 0.5$ , y un índice de falsos negativos en el grupo experimental  $< 0.5$ . Las combinaciones seleccionadas en esta fase fueron aquellas que cumplieron con los 9 criterios mencionados en una o más de las 4 comparaciones entre grupos. 62 combinaciones fueron seleccionadas en esa fase, todas ellas del tipo alélica/genómica. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **RM:** razón de momios.  **$p(N | i=1)$ :** porcentaje de portadores.



**Figura 9.** Descripción de las 62 combinaciones alélicas/genotípicas seleccionadas en la primera fase de discriminación (en base a los análisis estadísticos) (**Figura 8**). El cuadro del lado izquierdo indica el número de combinaciones seleccionadas constituidas por 2 hasta 6 alelos y genotipos individuales. En el cuadro central se presenta el total de las combinaciones que fueron seleccionadas en base al cumplimiento de los 9 puntos de corte en cada una de las 4 comparaciones entre grupos de estudio. Así mismo, el diagrama de Venn presenta el universo de las 62 combinaciones seleccionadas, 36 de las cuales fueron relevantes para separar a los grupos PAG y SP, y 26 de ellas mostraron capacidad para separar tanto a los grupos PAG y SP como a PAG y PCG. El número de veces que cada uno de los alelos y genotipos individuales fueron incluidos en alguna de las 62 combinaciones seleccionadas, se describe en el cuadro del lado derecho. **PCG**: periodontitis crónica generalizada. **PAG**: periodontitis agresiva generalizada. **EP**: enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP**: salud periodontal.

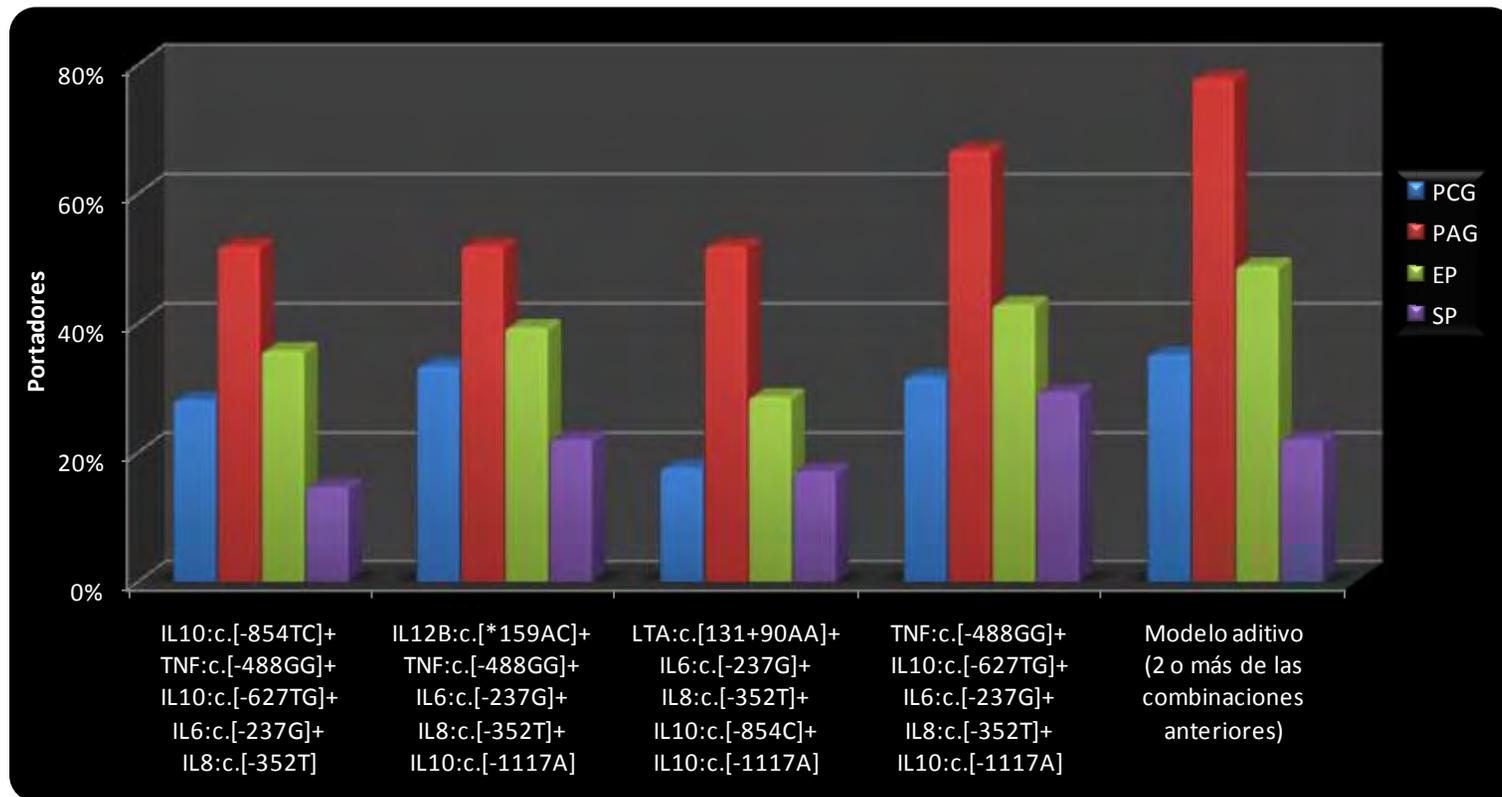
Combinaciones seleccionadas (n=9)	
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+LTA:c.[131+90AA]+IL10:c.[-627G]+IL10:c.[-854C]*+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]	
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-627G]+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL10:c.[-627G]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	
TNF:c.[-488GG]+LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	

No. de alelos y genotipos individuales	No. de combinaciones
5	7
6	2
<b>Total</b>	<b>9</b>

Comparación entre grupos	No. de combinaciones
PCG vs. SP	0
PAG vs. SP	9
PAG vs. PCG	4
EP vs. SP	0

Alelos y genotipos individuales	No. de combinaciones
<b>Alelos</b>	
IL6:c.[-237G]	8
IL8:c.[-352T]	7
IL10:c.[-627G]	3
IL10:c.[-854C]	4
IL10:c.[-1117A]	7
<b>Genotipos</b>	
IL10:c.[-627TG]	3
IL10:c.[-854TC]	1
IL12B:c.[*159AC]	1
TNF:c.[-488GG]	8
LTA:c.[131+90AA]	5

**Figura 10.** Descripción de las 9 combinaciones alélicas/genotípicas seleccionadas en la segunda fase de discriminación (en base a redundancias) (Tabla 6). El cuadro superior presenta la lista de las 9 combinaciones seleccionadas. El cuadro inferior izquierdo indica el número de combinaciones seleccionadas constituidas por 5 o 6 alelos y genotipos individuales. En el cuadro central se presenta el total de las combinaciones relevantes para cada una de las 4 comparaciones entre grupos de estudio. El número de veces que cada uno de los alelos y genotipos individuales fueron incluidos en alguna de las 9 combinaciones seleccionadas, se describe en el cuadro del lado derecho. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal.



**Figura 11a.** Distribución de frecuencias de las 4 combinaciones detectadas capaces de marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP, así como del conjunto de combinaciones incorporadas al modelo aditivo propuesto utilizando 2 o más combinaciones como punto de corte en el nivel de exigencia. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal.

PCG vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	57	16	28.1%	41	6	14.6%	13.4%	0.118	0.144	1.918	2.276	0.804	6.447	0.121
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	57	19	33.3%	41	9	22.0%	11.4%	0.221	0.261	1.519	1.778	0.707	4.470	0.221
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	57	10	17.5%	41	7	17.1%	0.5%	0.952	1.000	1.028	1.033	0.357	2.989	0.952
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	57	18	31.6%	41	12	29.3%	2.3%	0.808	0.828	1.079	1.115	0.465	2.674	0.807
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	57	20	35.1%	41	9	22.0%	13.1%	0.162	0.184	1.598	1.922	0.767	4.813	0.163

PAG vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	27	14	51.9%	41	6	14.6%	37.2%	0.001	0.002	3.543	6.282	1.991	19.817	0.002
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	41	9	22.0%	29.9%	0.011	0.018	2.362	3.829	1.331	11.016	0.013
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	41	7	17.1%	34.8%	0.003	0.003	3.037	5.231	1.724	15.869	0.003
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	18	66.7%	41	12	29.3%	37.4%	0.003	0.003	2.278	4.833	1.699	13.748	0.003
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	27	21	77.8%	41	9	22.0%	55.8%	0.000	0.000	3.543	12.444	3.860	40.116	0.000

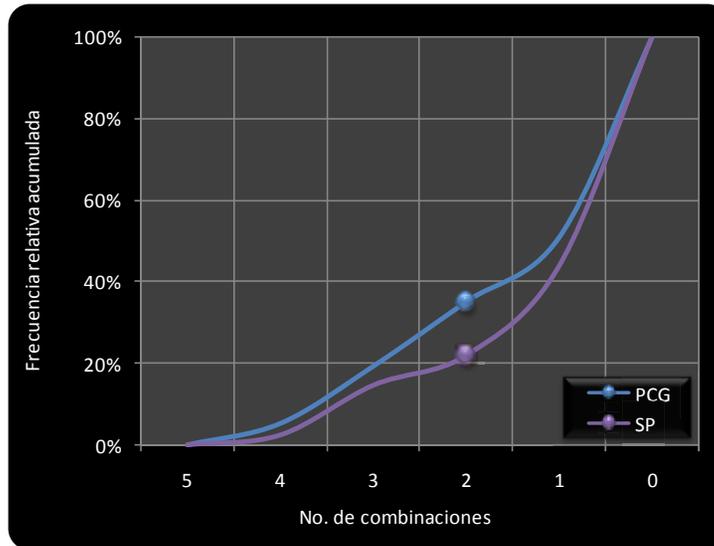
  

PAG vs. PCG	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	27	14	51.9%	57	16	28.1%	23.8%	0.035	0.051	1.847	2.760	1.067	7.140	0.036
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	57	19	33.3%	18.5%	0.107	0.151	1.556	2.154	0.846	5.483	0.108
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	57	10	17.5%	34.3%	0.001	0.002	2.956	5.062	1.829	14.005	0.002
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	18	66.7%	57	18	31.6%	35.1%	0.003	0.004	2.111	4.333	1.633	11.497	0.003
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	27	21	77.8%	57	20	35.1%	42.7%	0.000	0.000	2.217	6.475	2.248	18.649	0.001

EP vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	84	30	35.7%	41	6	14.6%	21.1%	0.015	0.020	2.440	3.241	1.223	8.585	0.018
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	84	33	39.3%	41	9	22.0%	17.3%	0.055	0.070	1.790	2.301	0.974	5.434	0.057
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	84	24	28.6%	41	7	17.1%	11.5%	0.164	0.191	1.673	1.943	0.758	4.980	0.167
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	84	36	42.9%	41	12	29.3%	13.6%	0.144	0.172	1.464	1.813	0.815	4.032	0.145
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	84	41	48.8%	41	9	22.0%	26.9%	0.004	0.006	2.224	3.390	1.443	7.966	0.005

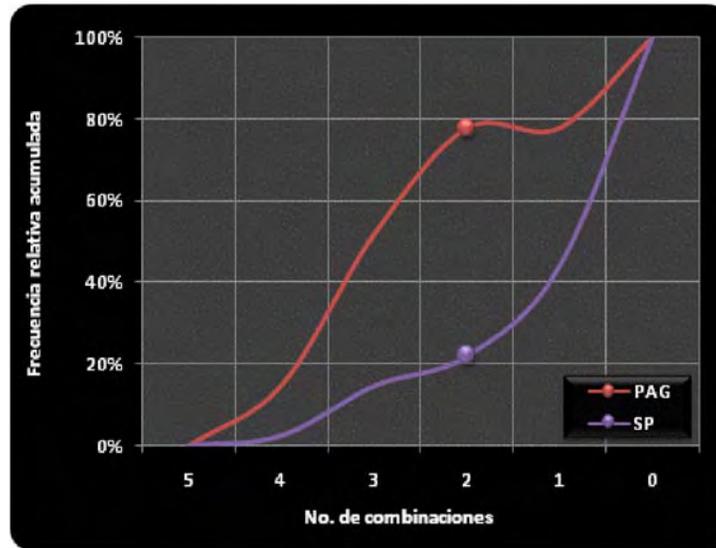
**Figura 11b.** Distribución de frecuencias y estadísticas comparativas de las 4 combinaciones detectadas capaces de marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP (recuadros punteados), así como del conjunto de combinaciones incorporadas al modelo aditivo propuesto utilizando 2 o más combinaciones como punto de corte en el nivel de exigencia. Los diferentes cuadros presentan los datos para cada una de las 4 comparaciones entre grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental y control. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios común.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PCG	SP	
5	0.000	0.000	0.000
4	0.053	0.024	0.028
3	0.193	0.146	0.047
2	0.351	0.220	0.131
1	0.509	0.439	0.070
0	1.000	1.000	0.000

PCG vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
	IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	0.281	0.854	0.520	0.146	0.719	0.727
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.333	0.780	0.520	0.220	0.667	0.679	0.457
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.175	0.829	0.449	0.171	0.825	0.588	0.420
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.316	0.707	0.480	0.293	0.684	0.600	0.426
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	0.351	0.780	0.531	0.220	0.649	0.690	0.464

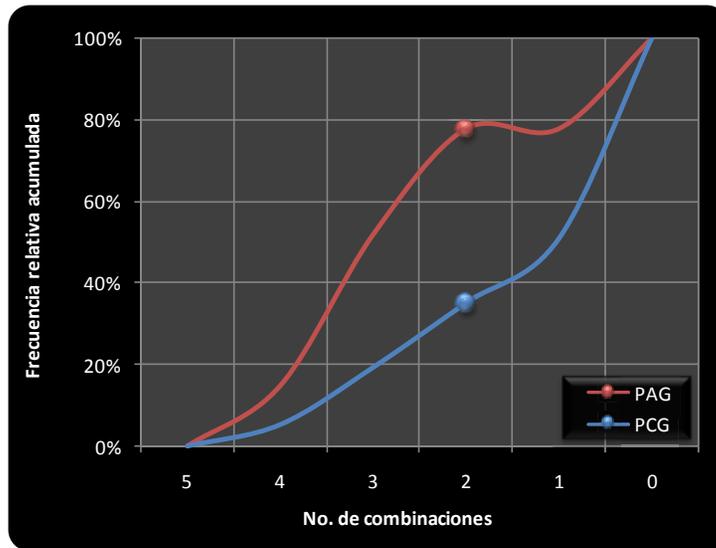
**Figura 12a.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PCG vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP. Puede observarse que la respuesta es pobre y la separación que se produce entre los grupos es poco significativa (13%) cuando el modelo se aplica a estos 2 grupos de estudio en particular. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 4 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PCG y SP se logra un acierto muy bajo del 35% con un nivel de error del 22%. Lo anterior indica que el modelo carece de una potencia aceptable para marcar a dichos grupos de estudio. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 4 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PAG	SP	
5	0.000	0.000	0.000
4	0.148	0.024	0.124
3	0.519	0.146	0.372
2	0.778	0.220	0.558
1	0.778	0.439	0.339
0	1.000	1.000	0.000

PAG vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	0.519	0.854	0.721	0.146	0.481	0.700	0.729
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.780	0.676	0.220	0.481	0.609	0.711
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.829	0.706	0.171	0.481	0.667	0.723
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.667	0.707	0.691	0.293	0.333	0.600	0.763
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	0.778	0.780	0.779	0.220	0.222	0.700	0.842

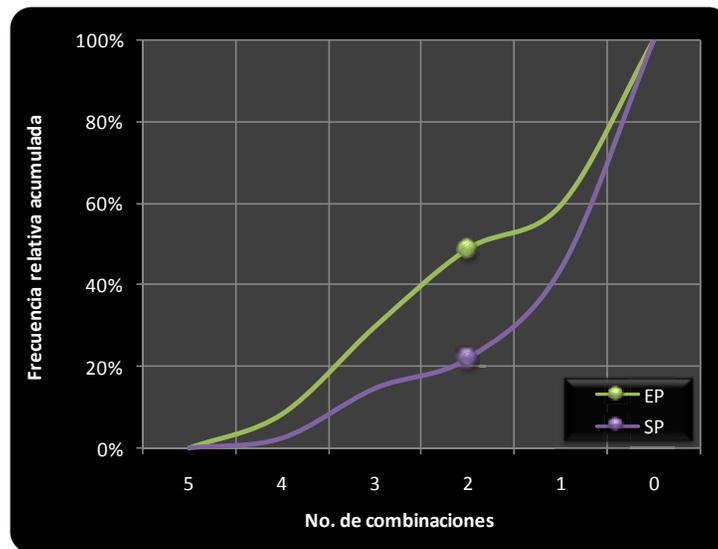
**Figura 12b.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PAG vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP. Puede observarse que la respuesta es muy buena, y se produce una amplia separación (56%) entre los grupos de estudio, resultado de la habilidad del modelo aditivo propuesto para marcar al grupo PAG. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 4 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PAG y SP se logra un acierto muy alto del 78% con un nivel de error del 22%. Lo anterior indica que el modelo cuenta con una potencia alta para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 4 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PAG	PCG	
5	0.000	0.000	0.000
4	0.148	0.053	0.096
3	0.519	0.193	0.326
2	0.778	0.351	0.427
1	0.778	0.509	0.269
0	1.000	1.000	0.000

PAG vs. PCG	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
	IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	0.519	0.719	0.655	0.281	0.481	0.467
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.667	0.619	0.333	0.481	0.424	0.745
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.825	0.726	0.175	0.481	0.583	0.783
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.667	0.684	0.679	0.316	0.333	0.500	0.813
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	0.778	0.649	0.690	0.351	0.222	0.512	0.860

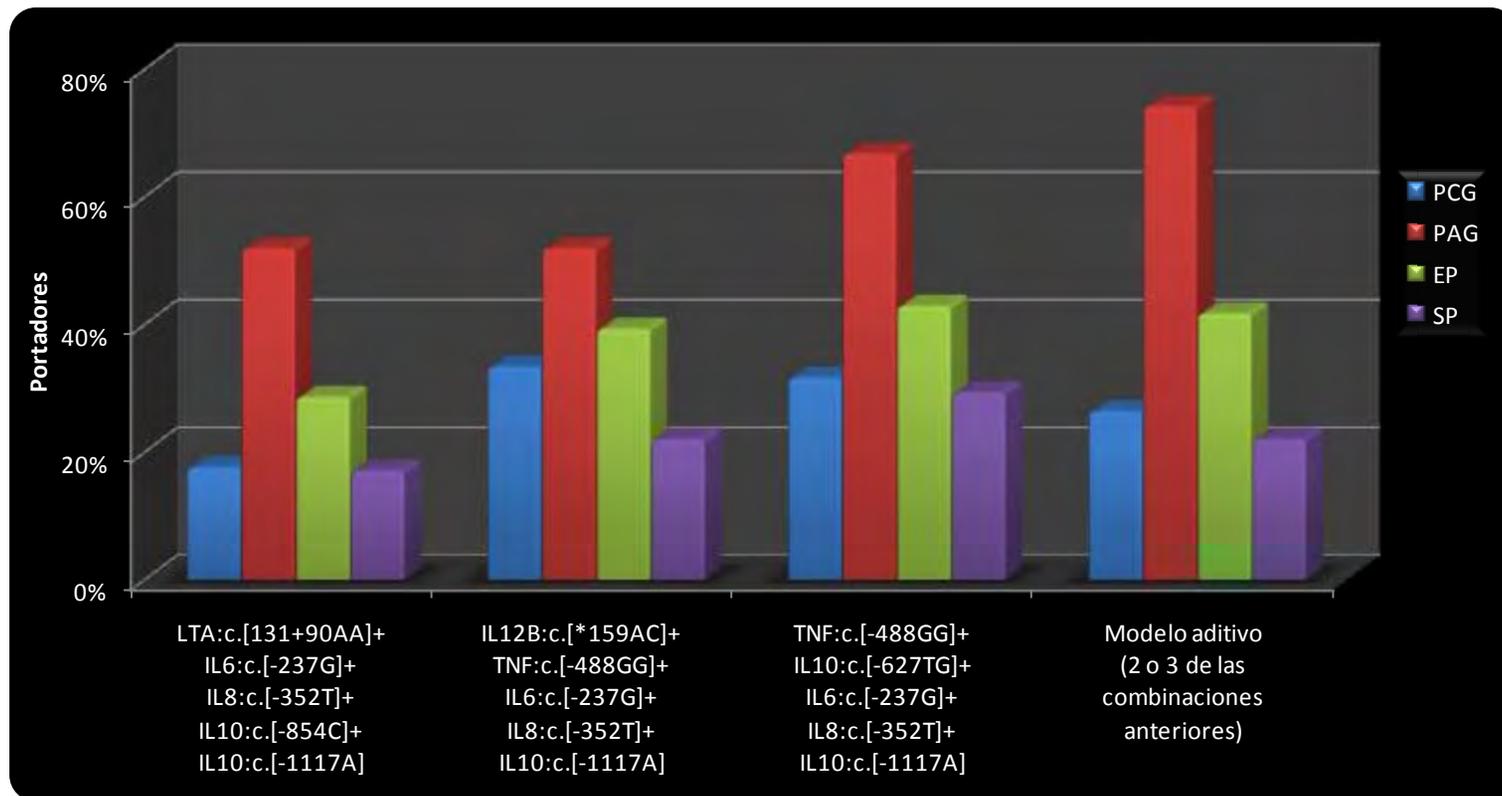
**Figura 12c.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PAG vs. PCG), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP. Puede observarse que la respuesta es aceptable, y se produce una buena separación (43%) entre los grupos de estudio, resultado de la habilidad del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 4 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PAG y PCG se logra un acierto muy alto del 78% con un nivel de error del 35%. Lo anterior indica que el modelo cuenta con una potencia aceptable para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 4 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	EP	SP	
5	0.000	0.000	0.000
4	0.083	0.024	0.059
3	0.298	0.146	0.151
2	0.488	0.220	0.269
1	0.595	0.439	0.156
0	1.000	1.000	0.000

EP vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
IL10:c.[-854TC]+TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]	0.357	0.854	0.520	0.146	0.643	0.833	0.393
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.393	0.780	0.520	0.220	0.607	0.786	0.386
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.286	0.829	0.464	0.171	0.714	0.774	0.362
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.429	0.707	0.520	0.293	0.571	0.750	0.377
Modelo aditivo utilizando 2 o más de las combinaciones anteriores	0.488	0.780	0.584	0.220	0.512	0.820	0.427

**Figura 12d.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (EP vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a SP. Puede observarse que la respuesta es pobre y la separación que se produce entre los grupos es poco significativa (27%) cuando el modelo se aplica a estos 2 grupos de estudio en particular. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 4 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos EP y SP se logra un acierto bajo del 49% con un nivel de error del 22%. Lo anterior indica que el modelo carece de una potencia aceptable para marcar a dichos grupos de estudio. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 4 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **EP:** enfermedad periodontal, incluye a los sujetos de los grupos de periodontitis crónica generalizada y periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



**Figura 13a.** Distribución de frecuencias de las 3 combinaciones detectadas capaces de marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG, así como del conjunto de combinaciones incorporadas al modelo aditivo propuesto utilizando 2 o más combinaciones como punto de corte en el nivel de exigencia. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal.

PCG vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	57	10	17.5%	41	7	17.1%	0.5%	0.952	1.000	1.028	1.033	0.357	2.989	0.952
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	57	19	33.3%	41	9	22.0%	11.4%	0.221	0.261	1.519	1.778	0.707	4.470	0.221
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	57	18	31.6%	41	12	29.3%	2.3%	0.808	0.828	1.079	1.115	0.465	2.674	0.807
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	57	15	26.3%	41	9	22.0%	4.4%	0.622	0.644	1.199	1.270	0.493	3.270	0.621

PAG vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	41	7	17.1%	34.8%	0.003	0.003	3.037	5.231	1.724	15.869	0.003
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	41	9	22.0%	29.9%	0.011	0.018	2.362	3.829	1.331	11.016	0.013
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	18	66.7%	41	12	29.3%	37.4%	0.003	0.003	2.278	4.833	1.699	13.748	0.003
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	27	20	74.1%	41	9	22.0%	52.1%	0.000	0.000	3.374	10.159	3.266	31.599	0.000

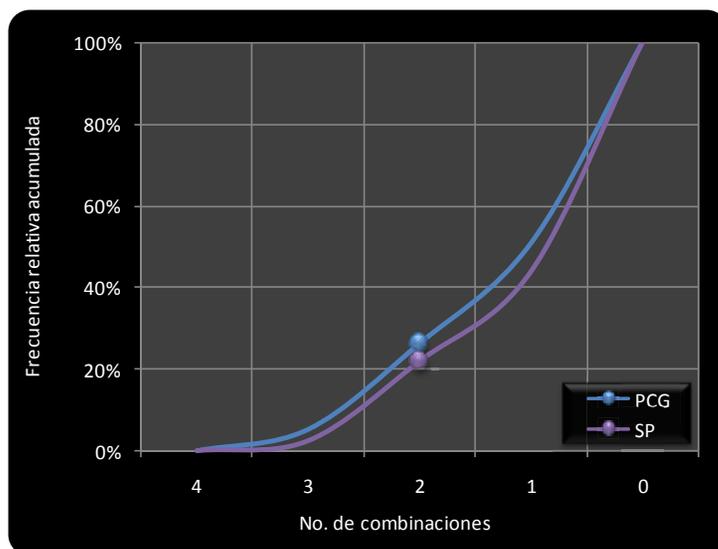
  

PAG vs. PCG	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	57	10	17.5%	34.3%	0.001	0.002	2.956	5.062	1.829	14.005	0.002
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	14	51.9%	57	19	33.3%	18.5%	0.107	0.151	1.556	2.154	0.846	5.483	0.108
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	27	18	66.7%	57	18	31.6%	35.1%	0.003	0.004	2.111	4.333	1.633	11.497	0.003
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	27	20	74.1%	57	15	26.3%	47.8%	0.000	0.000	2.815	8.000	2.818	22.708	0.000

EP vs. SP	Experimental			Control			$D_{max}$	M-W ( $p=$ )	Fisher ( $p=$ )	RR	RM	IC95%	M-H ( $p=$ )	
	N =	n =	%	N =	n =	%								
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	84	24	28.6%	41	7	17.1%	11.5%	0.164	0.191	1.673	1.943	0.758	4.980	0.167
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	84	33	39.3%	41	9	22.0%	17.3%	0.055	0.070	1.790	2.301	0.974	5.434	0.057
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	84	36	42.9%	41	12	29.3%	13.6%	0.144	0.172	1.464	1.813	0.815	4.032	0.145
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	84	35	41.7%	41	9	22.0%	19.7%	0.031	0.045	1.898	2.540	1.078	5.986	0.033

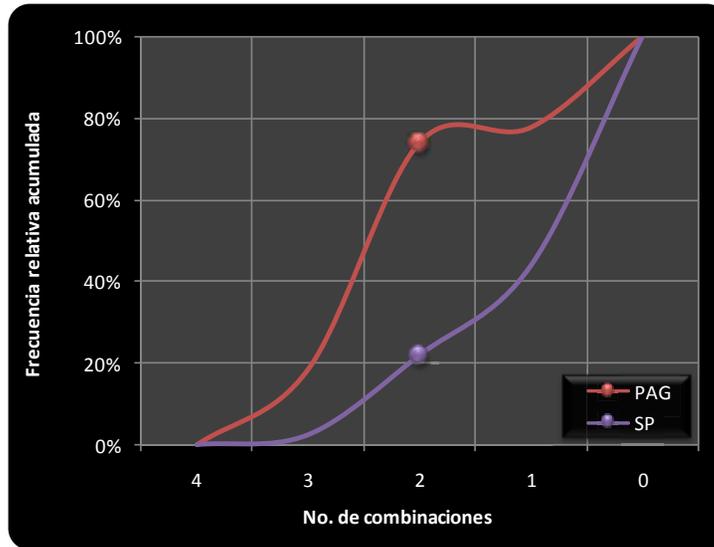
**Figura 13b.** Distribución de frecuencias y estadísticas comparativas de las 3 combinaciones detectadas capaces de marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG (recuadros punteados), así como del conjunto de combinaciones incorporadas al modelo aditivo propuesto utilizando 2 o más combinaciones como punto de corte en el nivel de exigencia. Los diferentes cuadros presentan los datos para cada una de las 4 comparaciones entre grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **EP:** enfermedad periodontal (incluye grupos PCG y PAG). **SP:** salud periodontal. **N=:** número total de sujetos evaluados. **n=:** número de portadores. **%=:** porcentaje de portadores.  **$D_{max}$ :** diferencia en el porcentaje de portadores entre el grupo experimental y control. **M-W:** prueba U de Mann-Whitney. **Fisher:** prueba exacta de Fisher. **RR:** riesgo relativo. **RM:** razón de momios. **IC95%:** intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. **M-H:** prueba de Mantel-Haenszel para la razón de momios común.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PCG	SP	
4	0.000	0.000	0.000
3	0.053	0.024	0.028
2	0.263	0.220	0.044
1	0.509	0.439	0.070
0	1.000	1.000	0.000

PCG vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.175	0.829	0.449	0.171	0.825	0.588	0.420
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.333	0.780	0.520	0.220	0.667	0.679	0.457
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.316	0.707	0.480	0.293	0.684	0.600	0.426
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	0.263	0.780	0.480	0.220	0.737	0.625	0.432

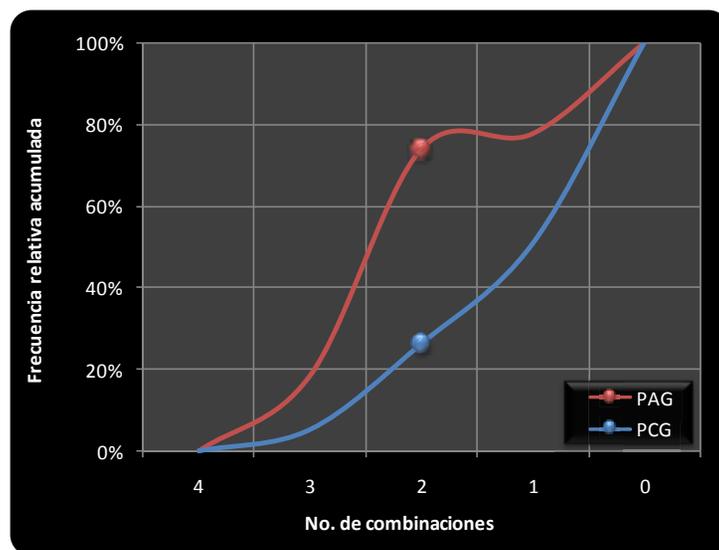
**Figura 14a.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PCG vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG. Puede observarse que la respuesta es nula y prácticamente no se produce separación entre los grupos (4%) cuando el modelo se aplica a estos 2 grupos de estudio en particular. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 4 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 1 combinación (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PCG y SP se logra un acierto moderado del 51% con un nivel de error alto del 44%. Lo anterior indica que el modelo carece de potencia para marcar a dichos grupos de estudio. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 3 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PAG	SP	
4	0.000	0.000	0.000
3	0.185	0.024	0.161
2	0.741	0.220	0.521
1	0.778	0.439	0.339
0	1.000	1.000	0.000

PAG vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.829	0.706	0.171	0.481	0.667	0.723
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.780	0.676	0.220	0.481	0.609	0.711
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.667	0.707	0.691	0.293	0.333	0.600	0.763
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	0.741	0.780	0.765	0.220	0.259	0.690	0.821

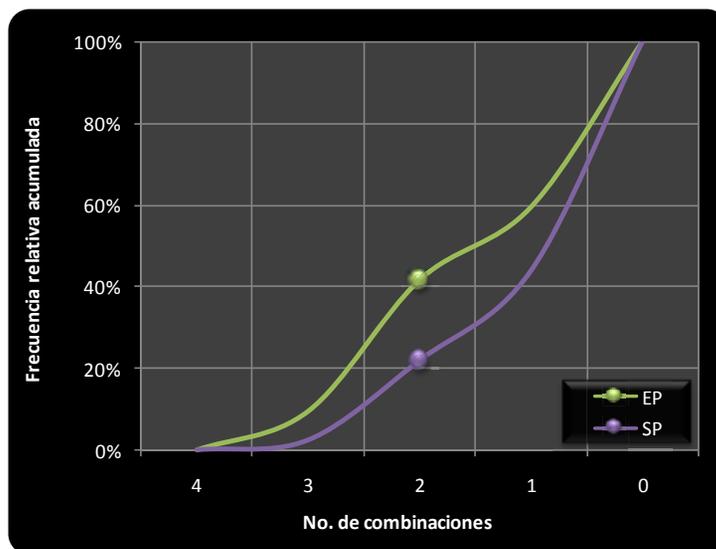
**Figura 14b.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PAG vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG. Puede observarse que la respuesta es buena, y se produce una amplia separación (52%) entre los grupos de estudio, resultado de la habilidad del modelo aditivo propuesto para marcar al grupo PAG. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 3 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PAG y SP se logra un acierto alto del 74% con un nivel de error del 22%. Lo anterior indica que el modelo cuenta con una potencia alta para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 3 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	PAG	PCG	
4	0.000	0.000	0.000
3	0.185	0.053	0.133
2	0.741	0.263	0.478
1	0.778	0.509	0.269
0	1.000	1.000	0.000

PAG vs. PCG	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
	LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.825	0.726	0.175	0.481	0.583
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.519	0.667	0.619	0.333	0.481	0.424	0.745
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.667	0.684	0.679	0.316	0.333	0.500	0.813
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	0.741	0.737	0.738	0.263	0.259	0.571	0.857

**Figura 14c.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (PAG vs. PCG), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG. Puede observarse que la respuesta es aceptable, y se produce una buena separación (48%) entre los grupos de estudio, resultado de la habilidad del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 3 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos PAG y PCG se logra un acierto muy alto del 74% con un nivel de error del 26%. Lo anterior indica que el modelo cuenta con una potencia aceptable para marcar específicamente al grupo experimental. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 3 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **PCG:** periodontitis crónica generalizada. **PAG:** periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.



No. de combinaciones	FRA		$D_{ks}$
	EP	SP	
4	0.000	0.000	0.000
3	0.095	0.024	0.071
2	0.417	0.220	0.197
1	0.595	0.439	0.156
0	1.000	1.000	0.000

EP vs. SP	SNS	ESP	EXC	IFP	IFN	VPP	VPN
LTA:c.[131+90AA]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-854C]+IL10:c.[-1117A]	0.286	0.829	0.464	0.171	0.714	0.774	0.362
IL12B:c.[*159AC]+TNF:c.[-488GG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.393	0.780	0.520	0.220	0.607	0.786	0.386
TNF:c.[-488GG]+IL10:c.[-627TG]+IL6:c.[-237G]+IL8:c.[-352T]+IL10:c.[-1117A]	0.429	0.707	0.520	0.293	0.571	0.750	0.377
Modelo aditivo utilizando 2 o 3 de las combinaciones anteriores	0.417	0.780	0.536	0.220	0.583	0.795	0.395

**Figura 14d.** Gráfica que muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio (EP vs. SP), resultado de la aplicación del modelo aditivo propuesto para marcar específicamente al grupo PAG en comparación a PCG. Puede observarse que la respuesta es pobre y la separación que se produce entre los grupos es poco significativa (20%) cuando el modelo se aplica a estos 2 grupos de estudio en particular. El cuadro que se presenta en el extremo superior derecho presenta las frecuencias relativas acumuladas (FRA) que se producen al aplicar el modelo aditivo al conjunto de las 3 combinaciones, es decir, las FRA fueron calculadas en función de la cantidad de combinaciones que se van incorporando en cada nivel del modelo. El punto de corte en el nivel de exigencia fue establecido en donde se produjo la máxima diferencia o separación en las FRA entre los grupos ( $D_{ks}$ ), en este caso a nivel de 2 combinaciones (recuadro punteado). Al aplicar el modelo a los grupos EP y SP se logra un acierto bajo del 42% con un nivel de error del 22%. Lo anterior indica que el modelo carece de una potencia aceptable para marcar a dichos grupos de estudio. El cuadro inferior sintetiza las estadísticas de evaluación relativas a cada una de las 3 combinaciones y del modelo aditivo propuesto (recuadro punteado) en cuanto a su habilidad para marcar específicamente a los grupos de estudio. **EP:** enfermedad periodontal, incluye a los sujetos de los grupos de periodontitis crónica generalizada y periodontitis agresiva generalizada. **SP:** salud periodontal. **SNS:** sensibilidad. **ESP:** especificidad. **EXC:** exactitud. **IFP:** índice de falsos positivos. **IFN:** índice de falsos negativos. **VPP:** valor predictivo positivo. **VPN:** valor predictivo negativo.

## ANEXOS

### ANEXO 1. FORMATO 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 atienda 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 la sangre 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  
(Día/mes/año)

---

Nombre del Clínico Responsable

---

Firma del Clínico Responsable

---

Fecha  
(Día/mes/año)