

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**“LA OBESIDAD COMO POTENCIALIZADOR DE LA ENFERMEDAD  
PERIODONTAL UTILIZANDO COMO BASE LOS NIVELES DE  
EXPRESIONES DE MICRO RNA”**

POR

**HÉCTOR IRAM RODRÍGUEZ GUERRA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE  
PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

ENERO, 2018

**APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ DE TESIS**

**“LA OBESIDAD COMO POTENCIALIZADOR DE LA ENFERMEDAD  
PERIODONTAL UTILIZANDO COMO BASE LOS NIVELES DE  
EXPRESIONES DE MICRO RNA”**

COMITÉ DE TESIS

---

Dra. Gloria Martínez Sandoval  
Directora de Tesis

---

Dra. María Gabriela Chapa Arizpe  
Co-Directora de Tesis

---

Dra. Delia Eunice Gutiérrez Rivas  
Asesora interna

---

Dr. Gustavo Israel Martínez González  
Asesor estadístico

**APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA POR COMITÉ ACADÉMICO**

**“LA OBESIDAD COMO POTENCIALIZADOR DE LA ENFERMEDAD  
PERIODONTAL UTILIZANDO COMO BASE LOS NIVELES DE  
EXPRESIONES DE MICRO RNA”**

COMITÉ ACADÉMICO DE MAESTRÍA

---

Dr.

Presidente

---

Dr.

Secretario

---

Dr.

Vocal

## **DEDICATORIA**

A mi familia, por darme la oportunidad de desarrollarme libremente como persona, y tener la seguridad de que siempre estarán allí para respaldarme en cada paso dentro de éste largo proceso.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi padre y madre por luchar tanto por mi educación, y nunca darse por vencidos.

A mis hermanas por estar allí para ayudar y dar un mensaje alentador cuando más lo necesité.

A mis compañeros del posgrado que realmente estuvieron en el molino del día a día sacando la frente en alto y uniendo nuestras mentes.

A mis maestros porque fueron el conducto por el cual el conocimiento llegó a mí, así como el aprendizaje de muchas otras disciplinas.

A todos mis amigos y familiares que detuvieron su agenda para permitir que esto fuera posible y que creyeron en mí.

Al CONACYT por apoyar la investigación científica y permitir construir un México mejor preparado para el futuro.

# ÍNDICE

<b><u>Sección</u></b>	<b><u>Página</u></b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	v
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	ix
<b>LISTA DE TABLAS</b>	x
<b>NOMENCLATURA</b>	xi
<b>RESUMEN</b>	xiii
<b>ABSTRACT</b>	xiv
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. HIPÓTESIS</b>	2
<b>3. OBJETIVOS</b>	
3.1 Objetivo general	3
3.2 Objetivos específicos	3
<b>4. ANTECEDENTES</b>	
4.1 Descripción de la Enfermedad Periodontal	4
4.1.1 Clasificación de la Enfermedad Periodontal	5
4.1.2 Periodontitis Crónica	6
4.1.3 Prevalencia de la Enfermedad Periodontal	7
4.2 Factores de riesgo para la Enfermedad Periodontal	8
4.2.1 Factores Locales	9
4.2.2 Factores Sistémicos	10
4.2.3 Factores Genéticos	11
4.3 Obesidad	11
4.4 Sobrepeso y Obesidad	12
4.4.1 Obesidad mórbida	12
4.5 Genética	13
4.5.1 Cromosomas	14
4.5.2 Locus y Alelo	16

4.5.3	ARN	17
4.5.4	Tipos de ARN	17
4.5.5	miARN	18
4.6	Base Genética de la Periodoncia	19
4.7	miARN y su relación con la Enfermedad Periodontal y la Obesidad	20
4.7.1	Relación entre la Obesidad y la Periodontitis	20
4.7.2	miARNs, Obesidad y Periodontitis	20
4.8	Interleucinas	21
4.9	Clonación Acelular: Reacción en Cadena Polimerasa (PCR)	23
4.9.3	Principios del método	23
<b>5.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
5.1	Diseño del estudio	25
5.2	Universo de estudio	25
5.3	Tamaño de muestra	25
5.4	Criterios de selección	
5.4.1	Criterios de Inclusión	26
5.4.2	Criterios de Exclusión	26
5.4.3	Criterios de eliminación	26
5.5	Descripción de procedimientos	26
5.5.1	Secuencia de procedimientos realizados	26
5.5.2	Historia Médica	27
5.5.3	Índice de masa corporal	27
5.5.4	Diagnóstico Periodontal	28
5.5.5	Estudio radiográfico periapical	28
5.5.6	Pasos para el RT-PCR	29
5.6	Consideraciones éticas	34

6.	<b>RESULTADOS</b>	35
	6.1 Demografía de la población de estudio	35
	6.1 Expresión diferencial de miARN por IMC entre los participantes con periodontitis	35
	6.3 Expresión diferencial de miARN en periodontitis enre participantes obesos	36
	6.4 Predicción de dianas de miARN	37
7.	<b>DISCUSIÓN</b>	41
8.	<b>CONCLUSIONES</b>	45
9.	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	46
10.	<b>ANEXOS</b>	
	10.1 Hoja de consentimiento informado	53
	10.2 Historia clínica	56
	10.3 Hoja de captura de datos por grupos	64
	10.3 Hoja de captura de datos por grupos	65
11.	<b>RESUMEN BIOGRÁFICO</b>	67



## LISTA DE FIGURAS

<b><u>Figura</u></b>		<b><u>Página</u></b>
1.	Factores que intervienen en la etiología de la enfermedad periodontal.	9
2.	ADN (la doble hélice).	14
3.	Célula diploide humana.	16
4.	Alelo y Loci.	16
5.	Vías de señalización que proporcionan una posible relación entre la obesidad, la inflamación, y la periodontitis.	21
6.	Objetivo básico del PCR.	23

## LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>	<u>Página</u>
1. Clasificación de índice de masa corporal.	27
2. Diferencia de expresión en doblaje de miARN en biopsias obtenidas en pacientes sanos, obesos, con y sin enfermedad periodontal.	36
3. miARN asociado a la categoría de términos GO (mirbase.rg).	37
4. Relación completa comparativa de miARN entre los 4 grupos estudiados	39
5. Expresión diferencial de miARN por IMC entre los participantes con periodontitis	39
6. Expresión diferencial de miARN en periodontitis entre participantes obesos	40

## NOMENCLATURA

AAP	Academia Americana de Periodontología
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMFEO	Asociación Mexicana de Facultades y Escuelas de Odontología
ARN	Ácido Ribonucleico
mARN	Ácido Ribonucleico mensajero
tARN	Ácido Ribonucleico transferente
rARN	Ácido Ribonucleico ribosómico
hnARN	Ácido Ribonucleico nuclear heterogéneo
snARN	Ácido Ribonucleico nuclear pequeño
scARN	Ácido Ribonucleico citoplasmático pequeño
TNF	Factor de necrosis tumoral
IMC	Índice de masa corporal
CPTIN	Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la Comunidad
ISE	Índice de severidad y extensión
IL- 1 $\alpha$	Interleucina-1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
Kg/m <sup>2</sup>	Kilogramo/metro cuadrado
miARN	Micro Ácido Ribonucleico
OMS	Organización mundial de la salud
SyO	Prevalencia de sobrepeso y obesidad

BMP7	Proteína morfogenética ósea 7
PCR	Reacción de polimeraza en cadena
RT-PCR	PCR en tiempo real
SNG	Secuenciación de nueva generación
SSA	Secretaría de Salubridad y Asistencia
UV	Ultravioleta

## RESUMEN

**Introducción:** El estudio y la comprensión de la transcripción genética como el miARN en patologías de alta prevalencia es de gran ayuda con el fin encontrar células diana de alta sensibilidad para un manejo terapéutico específico. **Objetivo:** El objetivo de la presente investigación fue evaluar la relación de los cambios en la expresión de miARN en pacientes sanos y con enfermedad periodontal (leve, moderada o avanzada) y en presencia o ausencia de obesidad, mediante biopsias de tejido gingival. **Materiales y métodos:** Se incluyó un total de 40 pacientes en un rango de edad entre 18 y 65 años, los cuales asistieron a la clínica del Posgrado de Periodoncia de la UANL, con el fin de recibir tratamiento periodontal, y los cuales cumplían con los criterios de inclusión y exclusión establecidos. La población del estudio se dividió en 4 grupos, incluyendo 10 pacientes en cada uno: A: pacientes obesos con periodontitis crónica (IMC  $>30 \text{ kg/m}^2$ ), B: pacientes obesos sin enfermedad periodontal (IMC  $>30 \text{ kg/m}^2$ ), C: pacientes sin obesidad con periodontitis crónica (IMC  $18.50\text{-}24.99 \text{ kg/m}^2$ ), D: pacientes sin obesidad y periodontalmente sanos (IMC  $18.50\text{-}24.9930 \text{ kg/m}^2$ ) (Grupo control). Los patrones de expresión de miARNs se valoraron con PCR en tiempo real (RT-PCR). Se utilizaron bases de datos para identificar las dianas potenciales de relevancia de miARNs expresados. **Resultados:** En presencia de enfermedad periodontal y obesidad, 39 de 41 miRNA se expresaron con un doblaje positivo. Dos especies de miRNA (hsa-miR-21-5p y hsa-miR-7-5p) tuvieron las regulaciones positivas más altas, presentando también una única regulación negativa (miR-196b-5p) en pacientes con obesidad y sin enfermedad periodontal. **Conclusiones:** Los miARN que se encontraron en ambas enfermedades crónicas, son aquellos que comparten vías de la inflamación, que pueden aumentar e incluso modificar la patogenia de ambas. Las especies de miARN presentadas con regulación positiva en enfermedad periodontal, pueden conformar la lista dorada de genes a utilizar como dianas, y así ofrecer tratamiento genómico con resultados favorables y predecibles.

## ABSTRACT

**Background:** The study and comprehension of genetic transcription such as miRNA in high prevalence pathologies can help us to find high sensitivity targets for a specific therapeutic management. **Objective:** The aim of the present investigation was to evaluate the relationship of changes in the expression of miRNA in healthy patients with periodontal disease (mild, moderate or advanced) and in the presence or absence of obesity, by means of biopsies of gingival tissue. **Materials and methods:** A total of 40 patients who ranged between 18 and 65 years old, who attended Posgrado de Periodoncia UANL clinic to receive periodontal treatment and which met the criteria inclusion and exclusion, were included. The study population was divided into 4 groups, including 10 patients in each one: A: obese patients with chronic periodontitis (BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>), B: obese patients without periodontal disease (BMI > 30kg / m<sup>2</sup>), C: patients without obesity with chronic periodontitis (BMI 18.50-24.99 kg/m<sup>2</sup>), D: patients without obesity and periodontally healthy (BMI 18.50-24.9930 kg/m<sup>2</sup>) (Control group). The expression patterns of miRNAs were assessed with real-time PCR (RT-PCR). Data bases were used to identify the potential targets of relevance of miRNAs expressed. **Results:** In the presence of periodontal disease and obesity, 39 of 41 miRNAs were expressed with a positive doubling. Two species of miRNA (hsa-miR-21-5p and hsa-miR-7-5p) had the highest positive regulation, also presenting a single negative regulation (miR-196b-5p) in patients with obesity and without periodontal disease. **Conclusions:** The miRNAs found in both chronic diseases, are those that share inflammation pathways, which can increase and even modify the pathogenesis of both. The miRNA species presented with positive regulation in periodontal disease, can make up the golden list of genes to be used as targets, and thus offer genomic treatment with favorable and predictable results.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los polimorfismos genéticos específicos se han asociado con una alta susceptibilidad para aumentar de peso. Las expresiones de estos genes de riesgo pueden estar influenciados por factores genéticos y su vez ambientales. Los factores de transcripción y los microRNA (miARN) son grandes reguladores del homeostasis, modificados por el estado nutricional.

La evidencia científica *in vitro* más reciente en humanos, ha identificado miRNAs específicos que se encuentran asociados y compartiendo las mismas vías de expresión que la obesidad. Es posible que los miARN que son inducidos por el estrés nutricional crónico que conduce a la obesidad, también puedan regular las vías de inflamación en relación a los tejidos periodontales y afecten directamente la expresión de la misma.

La obesidad es un factor de riesgo establecido para la periodontitis, pero nuestra comprensión de cómo la obesidad modifica la patogénesis de la enfermedad periodontal a nivel molecular es aún desconocida. Recientemente, algunas de estas especies de miARN también se han identificado como posibles modificadores de las vías inflamatorias. Por ejemplo, la inhibición de miR-22 provocó la regulación al alza de PPAR $\alpha$  y la proteína morfogenética ósea 7 (BMP7), bloqueó el proceso inflamatorio a través de la inhibición de IL-1B y promovió la reparación en condrocitos osteoartrotríticos. Actualmente, solo existe un estudio piloto en humanos que indica ciertas especies de miARN que se expresan diferencialmente en tejidos enfermos periodontalmente en presencia o ausencia de obesidad lo que modifico la expresión de miARN.

La meta es encontrar los genes que se relacionan directamente con la inflamación o el metabolismo en la enfermedad periodontal, y usarlos como marcadores terapéuticos en el tratamiento o prevención de la enfermedad periodontal.

## **2. HIPÓTESIS**

Los niveles de expresión de microARN se mostrarán aumentados en pacientes con Obesidad y Enfermedad Periodontal, en comparación con pacientes sin obesidad y Enfermedad Periodontal.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar la relación de los cambios en la expresión de miARN en pacientes sanos y con enfermedad periodontal (leve, moderada o avanzada) y en presencia o ausencia de obesidad, mediante la recolección de biopsias de tejido gingival.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

3.2.1 Diagnosticar Enfermedad Periodontal en pacientes clasificados con obesidad (IMC  $>30\text{kg/m}^2$ ).

3.2.2 Obtener tejido del epitelio bucal y tejido conectivo para el procesamiento de muestras de microARN, por medio de PCR.

3.2.3 Determinar los niveles de expresión de microARN en pacientes con obesidad y enfermedad periodontal.

3.2.4 Determinar los niveles de expresión de microARN en pacientes con obesidad y sin enfermedad periodontal.

3.2.5 Determinar los niveles de expresión de microARN en pacientes sin obesidad y con enfermedad periodontal.

3.2.6 Determinar los niveles de expresión de microARN en pacientes sin obesidad y sin enfermedad periodontal.

3.2.7 Comparar los niveles de microARN obtenido en cada uno de los grupos y evaluar las diferencias entre ellos.

## 4. ANTECEDENTES

Las enfermedades bucales de mayor prevalencia, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) son la caries dental y la enfermedad periodontal; las de frecuencia media son las anomalias cráneo-faciales-dentales y maloclusiones; las de frecuencia variable son la de cáncer oral, alteraciones de los tejidos dentales, traumatismos maxilofaciales y fluorosis dental (OMS *et al*, 2013).

Las enfermedades bucales, por su alta morbilidad se encuentran entre las cinco con mayor demanda de atención en los servicios de la salud del país, situación por la cual, se condiciona el incremento en el ausentismo escolar y laboral, así como la necesidad de grandes gastos económicos que rebasan la capacidad del sistema de salud y de la misma población (WHO *et al*, 2014).

### 4.1 Descripción de la Enfermedad Periodontal

La enfermedad periodontal es una infección de origen bacteriano, que cursa con un proceso inflamatorio de carácter crónico. Este proceso inflamatorio está desencadenado por un conjunto de bacterias periodontopatógenas presentes en la cavidad oral. La presencia de estas comunidades bacterianas, las cuales se encuentran adheridas a los tejidos duros, como es el caso de los dientes, recibe el término de biopelícula (Costeron JW *et al*, 1999) (Armitage GC *et al*, 2009).

Estudios clásicos, han puesto en evidencia por primera vez, que la acumulación de las bacterias en la superficie limpia de los dientes, induce una respuesta inflamatoria en los tejidos gingivales asociados (Loe H *et al*, 1965). Esta inflamación local se mantiene latente, mientras continúe la presencia de la biopelícula. La eliminación de la placa, conduce a la desaparición de los signos clínicos de la inflamación. Por tanto, la gingivitis es un estado clínico no destructivo de la enfermedad periodontal (Loe H *et al*, 1986) (Loe H *et al*, 1967).

En 1986 se llevó a cabo un estudio en una población de trabajadores de una plantación

de té en Sri Lanka, en el cual, se observó una diferencia en la predisposición de los individuos a padecer enfermedad periodontal. Los trabajadores carecían por completo de una adecuada higiene oral y, además, tampoco se habían preocupado por recibir un correcto tratamiento dental. Por lo general, la población presentaba acúmulos de cálculo y placa dental extremadamente elevados. Los primeros estudios que se realizaron, revelaron que la población en general padecía una periodontitis severa a edades tempranas. Pero cuando se examinó la población de forma minuciosa, se encontraron tres formas distintas del estado de la enfermedad, los cuales se pudieron sistematizar en tres grupos: A) individuos que desarrollaron mínimamente la enfermedad (11% de la población), B) individuos que desarrollaron la enfermedad de forma generalizada y severa (8% de la población) y C) individuos que desarrollaron una periodontitis moderada, similar a la forma clínica más común en los Estados Unidos (81% de la población) (Loe H *et al*, 1986).

#### 4.1.1 Clasificación de la Enfermedad Periodontal

La clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales se presentó y analizó en el Taller Internacional para la Clasificación de Enfermedades Periodontales en 1999, organizado por la Academia Americana de Periodontología (AAP) (Armitage GC *et al*, 1999) (Tabla 1).

<b>I. Enfermedades gingivales</b>
<b>a. Enfermedades gingivales inducidas por placa</b>
II. Periodontitis crónica
a. Localizada
b. Generalizada
III. Periodontitis agresiva
a. Localizada
b. Generalizada
IV. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas
V. Enfermedades Periodontales Necrosantes
VI. Absceso del periodonto
VIII. Malformaciones y lesiones congénitas o adquiridas

**Tabla 1.** Clasificación de Enfermedades Periodontales (AAP, 1999).

#### 4.1.2 Periodontitis Crónica

La periodontitis crónica, antes conocida como periodontitis del adulto, es la forma de periodontitis más prevalente. En general, se considera una enfermedad de progreso lento, sin embargo, en presencia de factores sistémicos o ambientales que modifican la respuesta del huésped a la acumulación de la placa, como son la diabetes, el tabaquismo o el estrés, el progreso de la enfermedad puede volverse más agresivo (Armitage GC y Robertson PB, 2009). A pesar de que la periodontitis crónica se observa con mayor frecuencia en adultos, también se han presentado reportes en niños y adolescentes como respuesta a la acumulación de placa y cálculo. La periodontitis crónica se ha definido como: “una enfermedad infecciosa que causa inflamación dentro de los tejidos de soporte dental, pérdida progresiva de la inserción y pérdida ósea” (Socransky SS *et al*, 2005).

Principales características clínicas y etiológicas de la enfermedad:

1. Formación de placa dentobacteriana.
2. Inflamación periodontal.
3. Pérdida de inserción y hueso alveolar.

Características Clínicas:

Los hallazgos clínicos característicos en los pacientes con periodontitis crónica sin tratamiento, pueden incluir, la acumulación de placa supragingival y subgingival (con frecuencia relacionada a la formación de cálculo), inflamación gingival, formación de bolsas, pérdida de la inserción periodontal, pérdida del hueso alveolar y supuración ocasional (Armitage GC y Robertson PB, 2009)

La periodontitis crónica se considera como una enfermedad específica de un sitio. Se cree que los signos clínicos de la periodontitis crónica (inflamación, formación de bolsas, pérdida de inserción y pérdida ósea) son provocados por los efectos directos y específicos de un sitio a la acumulación subgingival de placa. Además de ser específica de un sitio, la periodontitis crónica se describe como localizada, cuando en pocos sitios

se muestra pérdida ósea o de inserción, o generalizada, cuando muchos sitios alrededor de los dientes se encuentran afectados (Armitage GC *et al*, 1999).

- Periodontitis localizada: Se considera localizada cuando menos del 30% de los sitios valorados en la boca muestran pérdida ósea o de inserción.
- Periodontitis generalizada: Se considera generalizada cuando el 30% o más de los sitios valorados en la boca presentan pérdida ósea o de inserción.

El patrón de pérdida ósea observado en la periodontitis crónica puede ser:

- Vertical: cuando la pérdida ósea o de inserción sobre una superficie dental es mayor a la que se da en una superficie adyacente.
- Horizontal: cuando la pérdida ósea o de inserción se da a una velocidad uniforme en casi todas las superficies dentales.

La gravedad de la enfermedad puede clasificarse como leve, moderada o avanzada.

- Periodontitis leve: La destrucción periodontal suele considerarse leve cuando no hay más de 1-2 mm de pérdida de inserción clínica.
- Periodontitis moderada: La destrucción periodontal suele considerarse moderada cuando no hay más de 3-4 mm de pérdida de inserción clínica.
- Periodontitis avanzada: La destrucción periodontal se considera grave cuando hay 5 mm o más de pérdida de inserción clínica.

Los pacientes pueden darse cuenta de que tienen periodontitis crónica debido a que su encía sangra cuando se cepillan los dientes o cuando comen, comienzan a notar que presentan espacios entre sus dientes porque estos se mueven, o presentan movilidad dental. Sin embargo, como la periodontitis crónica es indolora, es probable que los pacientes no se den cuenta que la enfermedad se encuentra presente (Armitage GC *et al*, 1999).

#### **4.1.3 Prevalencia de la Enfermedad Periodontal**

Los informes disponibles sobre prevalencia de enfermedad periodontal en el sector salud de México corresponde a: SSA (Secretaría de Salubridad y Asistencia) 1982,

IMSS (Instituto Mexicana de Seguro Social) 1984, AMFEO (Asociación Mexicana de Facultades y Escuelas de Odontología) 1994. Desgraciadamente éstos usaron los denominados índices de dudosa validez, por ejemplo, SSA y el IMSS el índice periodontal y la AMFEO el CPTIN (índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la Comunidad.) Actualmente, los estudios sobre prevalencia de periodontitis deben emplear un índice que utilice un indicador válido, como el nivel de pérdida de inserción y que sólo califique para esta enfermedad.

El índice que cumple tales requisitos es el de severidad y extensión (ISE) de Carlos y cols (1986), quienes reportaron la severidad y extensión de la periodontitis utilizando el ISE el cual fue aplicado a 369 sujetos varones con un rango de edades entre 17 y 32 años, sus resultados mostraron que el 22% de los sitios examinados evidenciaban enfermedad, con un promedio de severidad de 1.48 mm de pérdida de inserción por sitio enfermo (Rojo Botello NR *et al*, 2011).

En México este índice fue utilizado por el Dr. Gustavo Jiménez y cols (1990), para estimar el estado periodontal en sujetos adultos que acudieron a la clínica de admisión de la División de Estudios de Postgrados e Investigación de la UNAM. Se examinaron 349 sujetos en un rango de edad de 13 a 85 años. La prevalencia fue del 67.2%, en promedio la severidad fue de 2.29 mm y el porcentaje de extensión de sitios afectados fue del 55.70%. Se observaron diferencias significativas en cuanto a la prevalencia con la edad y la escolaridad ( $p < 0.000$ ,  $p < 0.05$  respectivamente). Así mismo, la severidad y extensión mostraron una correlación positiva estadísticamente significativa con la edad ( $p < 0.000$ ,  $p < 0.000$  respectivamente), los varones presentaron un mayor promedio de severidad en comparación con las mujeres ( $p = 0.038$ ), referente a la escolaridad, se demostró que a mayor educación menor severidad y extensión de periodontitis ( $p < 0.009$ ,  $p < 0.002$  respectivamente); presentaron menor severidad los sujetos que recibían un salario mínimo mensual  $p=0.024$ ; el estado civil y la ocupación no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( Carlos JP *et al*, 1986).

## 4.2 Factores de riesgo para la Enfermedad Periodontal

Esta falta de regularidad en la prevalencia, distribución y severidad de la periodontitis, obligó a considerar la etiología de la enfermedad como multifactorial. En ella se puede encontrar un factor etiológico, causal e ineludible en el desarrollo de la patología, las bacterias (Fig. 1).



**Figura 1.** Factores que intervienen en la etiología de la enfermedad periodontal.

Sin embargo, también existen otra serie de factores etiológicos, denominados factores de riesgo, entre los cuales se encuentran los biológicos. Estos, engloban a las enfermedades sistémicas tales como enfermedades cardiovasculares, pulmonares, diabetes, obesidad, enfermedades óseas, embarazo, etc. Un tercer grupo de factores de riesgo, son los basados en el comportamiento humano o ambiental, dentro de los cuales se encuentran: la higiene oral, el estrés y/o el tabaco. Otros factores de riesgo son los genéticos, de crucial importancia, los cuales se relacionan con la susceptibilidad del individuo para desarrollar la enfermedad (Genco RJ *et al*, 2013).

Se ha demostrado ampliamente, que las bacterias tienen un papel etiológico primario en la patogénesis de la periodontitis, participando en la formación de la bolsa periodontal, la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar. Sin embargo, ni la cantidad, ni variedad de las especies, son capaces de ofrecer una explicación a los

diferentes grados de severidad que presenta la periodontitis dentro de la población. Numerosos estudios han presentado una fuerte asociación entre las áreas con enfermedad periodontal destructiva y una mayor concentración de ciertas especies periodontopatógenas (Socransky SS *et al*, 2005) (Rodenburg JP *et al*, 1990).

#### **4.2.1 Factores Locales**

Los factores locales son la acumulación de la placa en los dientes o las superficies gingivales en la unión dentogingival, lo que se considera el agente primario en la etiología de la periodontitis crónica. La pérdida ósea y de inserción se relacionan con un aumento en la proporción de microorganismos gramnegativos en la biopelícula de la placa subgingival, con aumentos específicos en los microorganismos específicos que se sabe son excepcionalmente patógenos y virulentos. *Porphyromonas gingivalis* (antes *Bacteroides gingivalis*), *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, conocidas como el complejo rojo (Socransky SS *et al*, 2005).

La identificación y caracterización de estos y otros microorganismos patogénicos y su relación con la pérdida ósea y de inserción, han llevado a la teoría específica de la placa para el desarrollo de la periodontitis crónica. Esta teoría afirma que una sola especie patogénica es la causal de la enfermedad periodontal (Theilade E *et al*, 1986).

#### **4.2.2 Factores Sistémicos**

El índice de progreso de la periodontitis crónica inducida por placa por lo general se considera lento. Sin embargo, cuando la periodontitis crónica se da en un paciente que también tiene una enfermedad sistémica que tiene influencia en la efectividad de la respuesta del huésped, el índice de destrucción periodontal puede aumentar de forma significativa. Se ha incluido a la Obesidad como un factor de riesgo para muchas enfermedades crónicas, como son la diabetes y la hipertensión (Saito T *et al*, 2001).

En un estudio japonés (2001) se encontró que el riesgo de periodontitis por cada incremento del 5% en la grasa corporal era de 1.3 (p=0.02) después de ajustarse a la edad, género, estado de higiene bucal y los antecedentes de tabaquismo. Se ha evaluado



a la obesidad como un factor de riesgo para la enfermedad periodontal de forma similar a los factores ya mencionados, lo cual se ha confirmado a través de análisis multivariados y de estudios en modelos animales, así como pocos estudios en humanos, siendo estos de naturaleza transversal (Saito T *et al*, 2001).

#### **4.2.3 Factores Genéticos**

La periodontitis se considera una enfermedad multifactorial en la que se altera el balance normal entre la placa microbiana y la respuesta del huésped. Esta alteración, como ya se describió, puede darse a través de cambios en la composición de la placa, cambios en la respuesta del huésped o influencias ambientales o conductuales. Se ha hipotetizado que algunos genes pueden modificar la enfermedad periodontal (Genco RJ *et al*, 2013).

Aunque no se han descrito de forma clara los determinantes genéticos para los pacientes con periodontitis crónica, existe una predisposición genética a una degradación periodontal más agresiva como respuesta a la acumulación de placa y cálculo (Genco RJ *et al*, 2013).

Datos recientes indican que una variación genética o polimorfismo en los genes que codifican interleucina-1 (IL-1 $\alpha$ ) e (IL-1 $\beta$ ), se relaciona con mayor frecuencia a una forma más agresiva de periodontitis crónica en sujetos originarios del norte de Europa (Haffajee AD *et al*, 2009).

Estudios genéticos de la enfermedad periodontal tienen el potencial de dejar un mejor entendimiento en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal y su asociación con otras enfermedades crónicas humanas (Genco RJ *et al*, 2013).

#### **4.3 Obesidad**

Desde 1980, la obesidad se ha multiplicado en todo el mundo. En 2008, 1400 millones de adultos (20 años y más) tenían sobrepeso. Dentro de este grupo, más de 200 millones de hombres y cerca de 300 millones de mujeres eran obesos. El 65% de la población

mundial vive en países en donde el sobrepeso y la obesidad se cobran más vidas humanas que la insuficiencia ponderal. En 2010, alrededor de 40 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso (OMS *et al*, 2013).

En el 2012 la prevalencia de sobrepeso y obesidad (SyO) fue 71.3% (sobrepeso 38.8% y obesidad 32.4%). La prevalencia de obesidad abdominal fue del 74.0%, siendo mayor en mujeres (82.8%) que en hombres (64.5%). En los últimos 12 años se ha observado un incremento promedio anualizado del 1.3%, siendo éste mayor en el periodo 2000-2006 (2.1%) que en el periodo 2006- 2012 (0.3%) (Barqueras S *et al*, 2013).

## **4.4 Sobrepeso y Obesidad**

### **4.4.1 Obesidad mórbida**

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud.

El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

La definición de la OMS es la siguiente:

- Un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso.
- Un IMC igual o superior a 30 determina obesidad.

El IMC proporciona la medida más útil del sobrepeso y la obesidad en la población, puesto que es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. Sin embargo, hay que considerarla a título indicativo porque es posible que no se corresponda con el mismo nivel de grosor en diferentes personas.

El sobreperero y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción en el

mundo. Cada año fallecen por lo menos 2.8 millones de personas adultas a consecuencia del sobrepeso o la obesidad. Además, el 44% de la carga de diabetes, el 23% de la carga de cardiopatías isquémicas y entre el 7% y el 41% de la carga de algunos cánceres son atribuibles al sobrepeso y la obesidad.

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas.

Un IMC elevado es un importante factor de riesgo de enfermedades no transmisibles, como:

- Enfermedades cardiovasculares (principalmente cardiopatías y accidentes cerebrovasculares).
- Diabetes mellitus.
- Trastornos del aparato locomotor (en especial osteoartritis).
- Algunos cánceres (endometrio, mama y colon).

El riesgo de contraer estas enfermedades no transmisibles crece con el aumento del IMC (OMS et al, 2013).

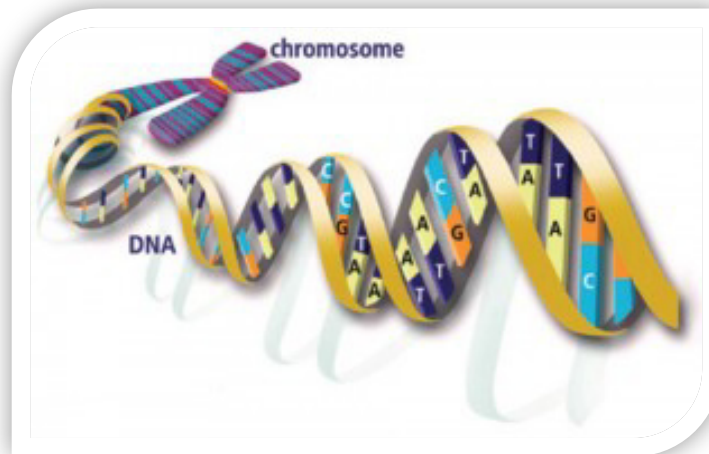
La obesidad es un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas y debido a su asociación con la periodontitis, puede ser un potencial confusor en la asociación entre la periodontitis y mediadores pro inflamatorios como interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Las enfermedades periodontales pueden inducir un elevado estado inflamatorio crónico sistémico, reflejado en un incremento en los niveles séricos de proteína C reactiva, interleucina-6 y fibrinógeno observado frecuentemente en pacientes con periodontitis (D'Aiut F *et al*, 2002) (Al-Zahrani MS *et al*, 2003) (Ylostalo P *et al*, 2008) (Saxlin T *et al*, 2010) (Saxlin T *et al*, 2011).

#### **4.5 Genética**

La genética (del griego antiguo γενετικός /*guennetikós*/, 'genetivo', y este de γένεσις /*guénesis*/, 'origen') es el campo de la biología que busca comprender la herencia

biológica que se transmite de generación en generación (Henry GL *et al*, 2012). El principal objetivo de estudio de la genética son los genes, formados por segmentos de ADN (doble hélice) (Fig. 2) y ARN (una sola hélice) tras la transcripción del ARN mensajero, ARN ribosómico y ARN de transferencia, los cuales se sintetizan a partir del ADN. El ADN, controla la estructura y el funcionamiento de cada célula, con la capacidad de crear copias exactas de sí mismos, tras un proceso llamado replicación, en el cuál el ADN se replica.

En las células, el ADN generalmente no se encuentra en una conformación relajada, si no en un estado no relajado, superenrollado y más compacto (Sanchez AH *et al*, 2012).



**Figura 2.** ADN doble hélice (Adaptación de US Department of Energy Genomic Science Program).

#### 4.5.1 Cromosomas

Cromosoma (del griego χρώμα, -τος *chroma*, color y σώμα, -τος *soma*, cuerpo o elemento) se le llama a cada uno de los pequeños cuerpos en forma de bastoncillos en que se organiza la cromatina del núcleo celular durante las divisiones celulares (mitosis y meiosis). En las células eucariotas y en las arqueas (a diferencia de las bacterias), el ADN siempre se encontrará en forma de cromatina, es decir, asociado fuertemente a proteínas denominadas histonas. Este material se encuentra en el núcleo de las células eucariotas y se visualiza como una maraña de hilos delgados.

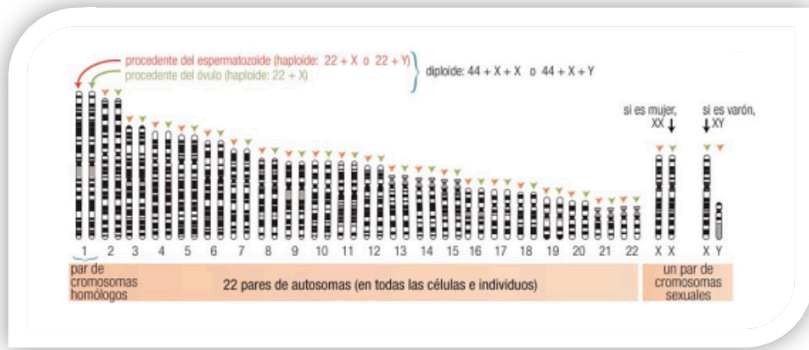
Cuando el núcleo celular comienza el proceso de división (cariocinesis), inicia un fenómeno de condensación progresivo que finaliza en la formación de entidades discretas e independientes: los cromosomas. Por lo tanto, cromatina y cromosoma son dos aspectos morfológicamente distintos de una misma entidad celular (Sheridan WF *et al*, 1969).

Se llama centrómero, constricción primaria o central a la región más estrecha del cromosoma metafásico, por la que permanecen unidas las dos cromátidas hermanas. El centrómero delimita, además, los brazos cromosómicos. Los brazos cortos, se designan con la letra p y los brazos largos con la letra q (Sanchez AH *et al*, 2012).

Cada ser humano normal posee 23 pares de cromosomas, el genoma humano diploide: 22 pares de autosomas y par de cromosomas sexuales (XX para las mujeres y XY para los hombres). De cada par, uno se hereda del padre y otro de la madre. Los cromosomas muestran diferencias de tamaño y tienen series de bandas laterales características (banda G), cada cromosoma puede ser identificado por su tamaño y su patrón de bandeo característico.

Cada cromosoma contiene molécula única de ácido desoxirribonucleico (ADN), muy larga (Barros SP *et al*, 2014) (Fig. 3). El ADN consiste en secuencias de nucleótidos ligados químicamente., contienen siempre una base nitrogenada. Existen cuatro bases nitrogenadas adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Las bases están ligadas a un azúcar (2-desoxirribosa) donde también se agrega un grupo de fosfato.

Las bases complementarias: G-C y A-T. El código genético es leído en grupo de tres nucleótidos, cada secuencia de 3 nucleótidos(triplete) se denomina codón (Sanchez AH *et al*, 2012) (Schork NJ *et al*, 2000).

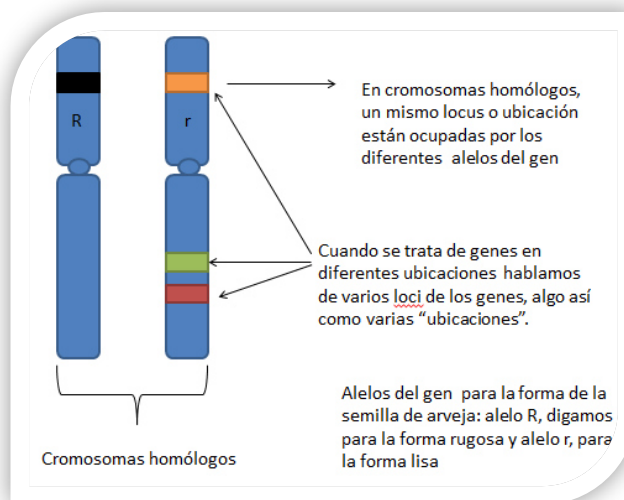


**Figura 3.** Célula diploide humana (Adaptación de Sánchez Á. Elsevier Books, 2012).

#### 4.5.2 Locus y Alelo

En cualquier célula de una misma especie, un gen ocupa siempre el mismo lugar y posición en un cromosoma determinado, y la posición equivalente en su homólogo. Para referirse de forma genérica a esa posición se utiliza el término *locus*. Por tanto, genes distintos ocuparían un *loci* (*plural de locus*), ya sea en el mismo par de cromosomas o en otro. Estos términos también se utilizan para la posición de regiones de ADN que no sean genes. Cada porción de secuencia concreta de ADN (génica o no) situada en un locus se denomina *alelo* (Fig. 4).

Puesto que los cromosomas se presentan en pares, en cada individuo hay dos alelos en el mismo locus, que pueden ser idénticos o diferentes. En general los dos alelos que presentan un individuo en un locus determinado son diferentes de los de otro individuo de la misma especie. (diversidad genética o polimorfismo) (Sanchez AH *et al*, 2012).



**Figura 4.** Alelo y Loci (Adaptación de Sánchez Á. Elsevier Books, 2012).

### 4.5.3 ARN

Es uno de los dos tipos de ácidos nucleicos denominado ácido ribonucleico.

Su localización en células eucariotas es en el núcleo celular (temporalmente), en citosol, en la matriz mitocondrial y en el estroma de los cloroplastos.

En los virus dentro de la cápsida (en otros tipos de virus). Su función es intervenir en la transmisión de la información desde el ADN hasta los productos génicos. Interviene en el control de la expresión génica. Constituye el genoma de algunos virus. El ácido ribonucleico ARN son polirribonucleótidos (polinucleótidos con ribosa, y U (uracilo) en el lugar de T monocatenarios, formados por cadenas lineales de varias decenas o millares de unidades, pero de longitud muy inferior a la del ADN. Su estructura primaria consiste en la existencia de cadenas, generalmente largas, de carácter macromolecular, formadas por la unión de nucleótidos mediante enlaces covalentes 3'-5'fosfodiéster. Por tanto, la unidad monomérica es el nucleótido, o nucleósido monofosfato.

Los ácidos nucleicos son, por lo tanto, polímeros de nucleótidos o polinucleótidos, con un esqueleto lineal formado por unidades alternas de fosfato y pentosa (parte constante de la secuencia), el cual sobresale lateralmente las bases (parte variable, que define la secuencia), unidas al azúcar respectivo por enlaces N-glicósidicos. Por convenio, la secuencia siempre se indica en dirección 5' a 3', es decir con el extremo 5' terminal a la izquierda y el extremo 3' a la derecha. (3'-OH). Presentan propiedades importantes relacionadas con sus funciones de almacenamiento (estructura), transmisión (replicación) y expresión (transcripción y transducción) de la información genética. Se comentan aquí brevemente algunas de ellas, relacionadas con la estructura (Sanchez AH *et al*, 2012).

### 4.5.4 Tipos de ARN

Existen tres tipos principales de ARN: ARN mensajero (mARN), transferente (tARN) y ribosómico (rARN). Además de ellos existen ARN nuclear heterogéneo (hnARN),

nuclear pequeño (snARN) y citoplásmico pequeño (scARN), y (rARN) de orgánulos (mitocondrias y cloroplastos), así como otros ARN pequeños con actividad reguladora (miARN y siARN). Todos ellos tienen en común que sus funciones están relacionadas, directa o indirectamente con la expresión génica (maduración postranscripcional y traducción). Adicionalmente, en algunos virus el genoma está constituido por ARN, que desempeña el papel de portador de la información genética. El miARN se encuentra ubicado en el citoplasma su cantidad es minoritaria, tamaño es de 21 a 25 nucleótidos y regula la expresión genética (Sanchez AH *et al*, 2012).

#### **4.5.5 Micro ARN**

Los microARN son moléculas entre 21 y 25 residuos nucleótidos, monocatenarios en su forma madura, bicatenarios en la precursora, cuya secuencia es complementaria al extremo 3' de un mARN, de modo que se emparejan con él y bloquean su traducción. Desempeñan así un papel regulador en la traducción de algunos genes de proteínas (Saxlin *et al*, 2010) (Stoecklin WC *et al*, 2012) (Xie Y *et al*, 2011).

La transcripción de moléculas de microARNs (mi ARNs) son abundantes sistemas de regularización que son modificadas por el status nutricional, puede regular varios genes. Los efectos de microARNs son generalmente inhibitorio y han sido referidos como la función de silenciamiento de ARN. Más de diez mil microARNs han sido identificados, y pueden regular más de un tercio de los genes codificadores de proteínas (D'Áituto F *et al*, 2012).

El microARNs ha emergido como una clase importante de reguladores post-transcripcionales del metabolismo en diferentes tipos de células, incluyendo células- $\beta$ , células musculares y adipocitos (Lin Q *et al*, 2009).

Cada miARN puede dirigirse a cientos de genes, que se pueden predecir sobre la base de la complementariedad de las regiones específicas de nucleótidos en los genes miARN. Se han propuesto varios algoritmos para predecir el loci de unión putativo en los genes que codifican humanos, resultando en 40.000 o más sitios potenciales (Carthew RW *et al*, 2009).



La pérdida de un miARN específico (miR-14) en *Drosophila* se ha asociado con un aumento de grasa corporal y representado el descubrimiento de su primera función metabólica (McGregor RA *et al*, 2011).

#### **4.6 Base Genética de la Periodoncia**

Es evidente saber que hay una base genética para la mayoría de las enfermedades incluyendo la periodontitis. La aclaración de la base de la genética de la periodontitis permite un mejor entendimiento de la etiología de la enfermedad, permitiendo mejorar la clasificación, el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad periodontal (Sanchez AH *et al*, 2012).

Los genes juegan claramente un papel en la predisposición a y la progresión de las enfermedades periodontales. Se espera que la identificación de los genes específicos que causan susceptibilidad a la enfermedad periodontal puede tener valor diagnóstico y terapéutico. Para entender el potencial de relevancia clínica de la variabilidad genética en la periodontitis es necesario entender cómo diferentes genes pueden contribuir a la enfermedad. Hay estimada mente 20,000-25,000 diferentes genes en el genoma humano. Los genes pueden existir en diferentes formas o estados (Kinane DF *et al*, 2009).

Los genetistas se refieren a las diferentes formas de un gen como variantes alélicas o alelos. Alteraciones genéticas pueden cambiar el nivel de transcripción de una proteína. Las variantes alélicas de un gen difieren en la secuencia de sus nucleótidos. Para apreciar la contribución de la variante genética a la enfermedad es importante entender como los genes contribuyen a la enfermedad (Kinane DF *et al*, 2009).

Los genetistas lo dividen en 2 grupos: enfermedad “simple” y enfermedad “compleja”. En la ausencia de modelos genéticos específicos, la etiología de las enfermedades complejas a menudo se conceptualiza debido a múltiples factores, es decir, varios loci genéticos que interactúan entre sí para producir una susceptibilidad subyacente, que a su vez interactúa con factores ambientales adicionales para producir un estado real de la enfermedad como la obesidad (Kinane DF *et al*, 2009).

## **4.7 microARN y su relación con la Enfermedad Periodontal y la Pbesidad**

### **4.7.1 Relación entre la obesidad y la Periodontitis**

La prevalencia mundial de la obesidad es una fuente considerable de la preocupación por su potencial impacto en la morbilidad, la mortalidad y el costo de la atención médica (Nares S *et al*, 2003).

La asociación de la obesidad con las enfermedades crónicas incluye la enfermedad periodontal, como ha sido hipotetizado de el resultado de una inflamación sistemática crónica asociada con la obesidad, afectando la susceptibilidad de está enfermedad (Genco RJ *et al*, 2013).

La obesidad está aumentando en prevalencia y es un importante contribuyente a la morbilidad en todo el mundo. La obesidad induce la inflamación la cual promueve la destrucción y reabsorción ósea la cuál induce la pérdida dental. Se ha asociado a la obesidad con la enfermedad en diversos estudios (Saito T *et al*, 2001) (AlZahrani MS *et al*, 2003) (Dalla V *et al*, 2005) (Ekuni D *et al*, 2008) (Khader YS *et al*, 2009).

### **4.7.2 microARNs, Obesidad y Periodontitis**

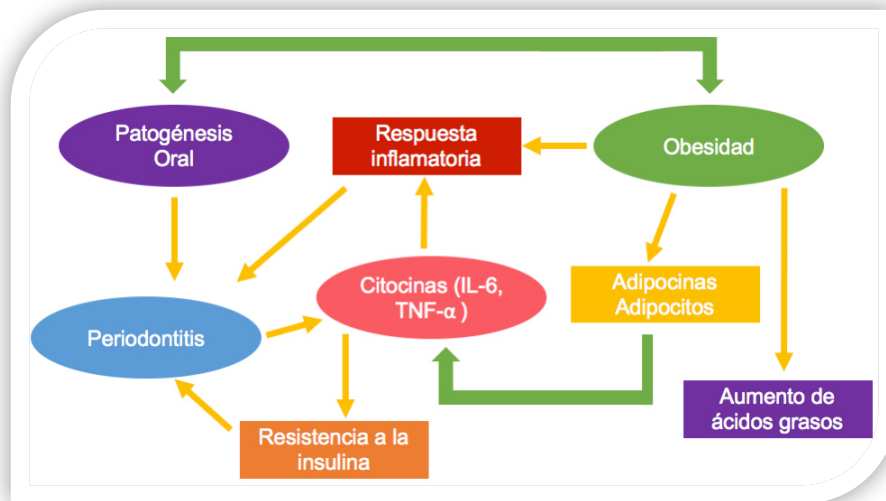
Los mecanismos moleculares que influyen la susceptibilidad individual de la obesidad, incluyendo infecciones orales como la periodontitis. El área de la biología, ha sido transformado y re-interpretado. El avance más significativo ha sido el descubrimiento de las pequeñas (20 a 30 nucleótidos de longitud) moléculas de ARN que no se traducen en proteínas (no codificante). Estos microARNs (miARN) pueden regular varios genes. El estudio de esta maquinaria compleja ha permitido la predicción y, en algunos casos, el control de las vías específicas de las interacciones de genes microARN (Carthew RW *et al*, 2009).

La desregulación de los micro ARNs ya se ha informado en la obesidad humana que implica varios procesos biológicos, incluyendo la diferenciación de adipocitos, la integración metabólica y resistencia a la insulina (McGregor RA *et al*, 2011).

Es posible que los microARN que son inducidos por el estrés nutricional crónico que conduce a la obesidad pueden también modular las vías inflamatorias dentro de los

tejidos periodontales y afectar a la expresión de la enfermedad. Más de 10,000 microARNs han sido identificados y pueden regular aproximadamente un tercio de los genes codificadores de proteínas. Cada microARN puede dirigirse a cientos de genes, que pueden predecir sobre la base de la complementariedad de las regiones específicas de nucleótidos en los genes microARN. Nuevos biomarcadores han sido recientemente encontrados en las enfermedades crónicas más comunes como: cáncer, enfermedades cardiovasculares, y diabetes tipo 2.

En el siguiente esquema se muestran las vías de señalización que proporcionan una posible relación entre la obesidad, la inflamación, y la periodontitis (Fig. 5) (D'Áiuto F *et al*, 2012).



**Figura 5.** Vías de señalización que proporcionan una posible relación entre la obesidad, la inflamación, y la periodontitis.

Los avances en biología molecular podrían resultar útiles en la promoción de nuestra comprensión de los mecanismos que subyacen a la patogénesis de las enfermedades crónicas comunes como la obesidad y la periodontitis y su interrelación (D'Áiuto F *et al*, 2012) (Ekundi D *et al*, 2008).

#### 4.8 Interleucinas

Las citocinas, partes esenciales en la regulación de la inflamación, juegan un papel en la reparación de heridas y en la inflamación transitoria, ya que activan los mecanismos de defensa, pero también pueden dar lugar a considerables daños en los tejidos en la

inflamación más severa (Saxlin T *et al*, 2009). Las citocinas se han sugerido para tener un papel en la patogénesis de varias enfermedades, como la diabetes mellitus (Stumyoll M *et al*, 2005), artritis reumatoide (Park JY *et al*, 2007) y la patogénesis de la periodontitis (Page RC *et al*, 1991).

IL-1: Existe en 2 formas moleculares llamadas IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Hasta la fecha se han encontrado dos genes distintos que codifican IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . La principal función de la IL-1, similar a la del TNF, es actuar como mediador de la respuesta inmunitaria de l huésped frente a infecciones y otros estímulos. Proforma: 271 aminoácidos (IL-1 $\alpha$ ), 269 aminoácidos (IL-1 $\beta$ ). Fuentes celulares: Macrófagos, queratinocitos, células endoteliales, fibroblastos, astrocios, linfocitos D y T. Receptor: Glucoproteína 60-80-kDa. Kd=10<sup>-10</sup> mol/L. 50-5000 sitios/Célula.

IL-1  $\beta$  está asociada a la pérdida de inserción del tejido conectivo periodontal (Masada MP *et al*, 1990).

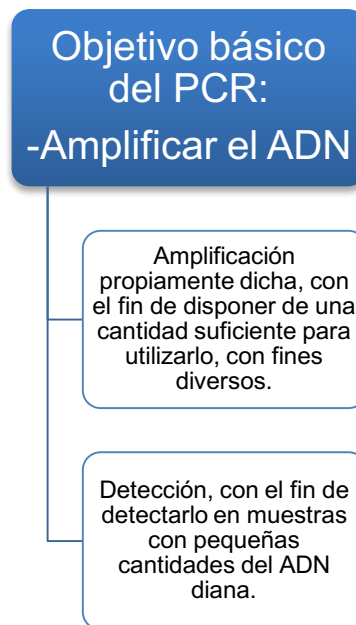
IL-6: Se conocía en un principio como IFNB<sub>2</sub> con base en su posible actividad antiviral. Su tamaño es de 19 a 26kD. Su origen celular es de los macrófagos y otras células. Sus dianas celulares y efectos biológicos esta en el hígado: Síntesis de proteínas de la fase aguda. Linfocitos B: proliferación de los linfocitos productores se anticuerpos (Abbas AK *et al*, 2012).

Las citosinas son piezas esenciales en la regulación de la inflamación, juegan un papel en la reparación de heridas y en inflamaciones transitorias, ya que activan los mecanismos de defensa. La obesidad se caracteriza como un estado de la inflamación sistémica de bajo grado (Chaffee BW *et al*, 2010)). El equilibrio de las citoquinas pro-y anti-inflamatorios puede determinar el grado de daño en el tejido periodontal. Las citosinas pro-inflamatorias derivadas de tejido adiposo pueden actuar sobre los tejidos periodontales directamente y/o sistémicamente mediante el inicio de una respuesta inmune del huésped (Gorman A *et al*, 2012). La inflamación juega un papel importante en el rol de la patogénesis de varias enfermedades crónicas incluyendo la periodontitis (Sanders AE *et al*, 2009).

#### 4.9 Clonación Acelular: Reacción en Cadena Polimerasa (PCR)

Clonación molecular, o clonación de moléculas de ácido nucleico, con la técnica que permite amplificar el ADN (o ARN) sin emplear células. La PCR es hoy en día una herramienta imprescindible en los laboratorios de biología molecular e ingeniería genética. El objetivo de ésta técnica, es la amplificación directa de un gen un fragmento de ADN, presente en muestras muy diversas, sin necesidad de una purificación previa. Cuando el objetivo es un ARN, puede aplicarse la PCR de forma indirecta.

Se pueden emplear como muestra para hacer PCR homogeneados, extractos crudos de tejido, sangre completa, mezclas de fragmentos de ADN obtenidos con enzimas de restricción, muestras resultantes de la extracción y aislamiento de ADN. Sin embargo, debe resaltarse que, es un requisito imprescindible que se conozca la secuencia de una parte de la región del ADN o del ARN que se quiere amplificar.



**Figura 6.** Objetivo básico del PCR.

##### 4.9.1 Principios del método

La PCR no es una técnica analítica per se, sino más bien una metodología, resultante de la aplicación práctica de tres conceptos:

1. Desnaturalización del ADN para dar moléculas monocatenarias
2. Hibridación específica de la molécula monocatenaria con un oligonucleótido.  
Ésta es la etapa que justifica por qué se debe de conocer parte de la secuencia.
3. Replicación de la molécula monocatenaria mediante ADN polimerasa que emplea el oligonucleótido anterior como cebador: también se puede denominar elongación o extensión del cebador, o polimerización.

Mediante la aplicación en forma cíclica de estos tres procesos se consigue un número muy alto de copias del fragmento de ácido nucleico en un corto espacio de tiempo (Sanchez AH *et al*, 2012).

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio comparativo, abierto, experimental, prospectivo, transversal acerca de la obesidad como potencializador de la enfermedad periodontal utilizando como base los niveles de expresiones de micro ARN en pacientes que acudieron a la clínica del posgrado de periodoncia en la facultad de Odontología de la U.A.N.L.

### **5.2 UNIVERSO DE ESTUDIO**

Se trataron pacientes adultos en un rango de edad entre 18-65 años, los cuales eran asistieron a la clínica del posgrado de periodoncia de la Facultad de Odontología, de la UANL, con el fin de recibir tratamiento periodontal. Se incluyó un total de 40 pacientes, divididos en 4 grupos de 10 pacientes cada uno A: pacientes obesos con periodontitis crónica (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), B: pacientes obesos sin enfermedad periodontal (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), C: pacientes sin obesidad con periodontitis crónica (IMC 18.50-24.99 kg/m<sup>2</sup>), D: pacientes sin obesidad y periodontalmente sanos (IMC 18.50-24.9930 kg/m<sup>2</sup>) (Grupo control). Se les explicó el objetivo del estudio y las instrucciones que debían seguir durante el tiempo del estudio, así como también se firmó un consentimiento informado acerca de la participación.

### **5.3 TAMAÑO DE MUESTRA**

Se incluyó un total de 40 pacientes en edades entre 18-65 años, pacientes del Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, los cuales acudieron para recibir tratamiento periodontal. La población del estudio se dividió en 4 grupos, cada uno con 10 pacientes participantes A: pacientes obesos con periodontitis crónica (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), B: pacientes obesos sin enfermedad periodontal (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), C: pacientes sin obesidad con periodontitis crónica (IMC 18.50 - 24.99 kg/m<sup>2</sup>), D: pacientes sin obesidad y periodontalmente sanos (IMC 18.50 - 24.9930 kg/m<sup>2</sup>) (Grupo control).

## **5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### 5.4.1. Criterios de inclusión:

Fueron incluidos pacientes de ambos sexos en un rango de edad entre 18 y 65 años, los cuales fueran pacientes ASA I y II (Maloney WJ y Weinberg MA, 2008) y que presentaron un periodonto sano, así como periodontitis: leve, moderada, avanzada)

### 5.4.2. Criterios de exclusión:

Fueron excluidos pacientes con enfermedades crónicas, que pudieran presentar manifestaciones orales, pacientes tratados con antibióticos para cualquier condición médica o dental dentro de un mes anterior a la prueba de detección, pacientes bajo algún tratamiento crónico (2 semanas o más) con cualquier medicamento que afectara el estado periodontal (fenitoína, antagonistas del calcio, ciclosporina, warfarina, AINES, ácido acetilsalicílico >81mg), pacientes con insuficiencia renal, trastornos de la coagulación, enfermedades infecciosas activas como: Hepatitis, VIH o tuberculosis, así como también se excluyeron pacientes ASA III y IV.

### 5.4.3 Criterios de eliminación:

Fueron eliminados del estudio los pacientes a los cuales se les diagnosticó diabetes al momento del tratamiento, pacientes que desarrollaron alguna enfermedad viral, así como a los pacientes que cumplieron con los requisitos pero que no aceptaron el tratamiento.

## **5.5 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS**

### **5.5.1 Secuencia de procedimientos realizados**

**Primera cita:** Una vez reunida la población del estudio, durante la primera cita, se procederá a realizar la fase diagnóstica en cada uno de los pacientes y la firma de autorización para la participación del mismo.



### 5.5.2 Historia Médica

Se le proporcionó al paciente un cuestionario médico para ser llenado por el mismo, donde se investigó su estado de salud general, antecedentes de enfermedades sistémicas, así como su condición oral (Anexo I: 9.1 Hoja de consentimiento informado y Anexo II: 10.2 Historia Clínica).

### 5.5.3 Índice de masa corporal

Se tomó el índice de masa corporal (IMC) según la OMS:  $\text{Peso} / \text{Estatura}^2$  (Tabla 1)

El resultado se tomó dentro de la siguiente clasificación:

### *Clasificación IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )*

<i>Clasificación</i>	Valores principales	Valores adicionales
<i>Infrapeso</i>	<18.50	<18.50
<i>Delgadez severa</i>	<16.00	<16.00
<i>Delgadez moderada</i>	16.00 – 16.99	16.00 – 16.99
<i>Delgadez aceptable</i>	17.00 – 18.49	17.00 – 18.49
<i>Normal</i>	18.50 – 24.99	18.50 – 22.99
<i>Sobrepeso</i>	$\geq 25.00$	$\geq 25.00$
<i>Preobeso</i>	25.00 – 29.99	25.00 – 27.49
		27.50 – 29.99
<i>Obeso</i>	$\geq 30.00$	$\geq 30.00$
<i>Obeso tipo I</i>	30.00 – 34.99	30.00 – 32.49
		32.50 – 34.99
<i>Obeso tipo II</i>	35.00 – 39.99	35.00 – 37.49
		37.50 – 39.99
<i>Obeso tipo III</i>	$\geq 40.00$	$\geq 40.00$

**Tabla 1.** Clasificación de índice de masa corporal.

#### **5.5.4 Diagnóstico Periodontal**

Se realizó una examinación periodontal en todos los participantes por parte de uno de los dos examinadores calibrados, se tomaron profundidades de sondaje, nivel de inserción clínica y sangrado al sondaje, se registraron 6 sitios por diente. Basándonos en esta información, el diagnóstico periodontal se clasificó de acuerdo a la Clasificación de Enfermedades y Condiciones Periodontales (Armitage GC *et al*, 1999).

#### **5.5.5 Estudio radiográfico periapical**

Se le indicó al paciente tomarse un estudio radiográfico dentoalveolar para complementar el diagnóstico periodontal el cual se revisó en el transcurso de la segunda cita.

**Segunda cita:** Se recibió el estudio radiográfico y de acuerdo al mismo, se ubicó al paciente dentro de uno de los cuatro grupos control.

Nota: Estudios laboratoriales

**Tercera cita (Fase quirúrgica):** Se tomó una biopsia de cada participante.

- Participantes sanos: Se incluyó tejido gingival del área de la col incluyendo tejido epitelial y conectivo, este tejido se recolectó a la hora de un procedimiento de alargamiento de corona. Se seleccionó el sitio durante la planeación del procedimiento con una papila interproximal sana. Todos los sitios sanos debían tener una profundidad al sondaje <4mm, sin sangrado al sondeo y sin evidencia de pérdida ósea radiográfica. Se utilizó un bisturí #15c u 11 para obtener la biopsia con una incisión intrasulcular y de bisel externo. La incisión se extendió desde la zona palatina media de 2 dientes adyacentes, comenzando y terminando intrasulcularmente yendo hacia el hueso, socavando la papila interproximal, quedándose a 1mm del margen gingival libre en la cresta de la papila interproximal, capturando horizontalmente la zona interproximal (col).
- Pacientes con periodontitis crónica: Al momento de realizar el procedimiento

quirúrgico llamado colgajo por debridación se obtuvo una muestra de tejido gingival. Utilizando una hoja de bisturí #15 se obtuvo la muestra de tejido inflamatorio de una de las zonas interproximales donde hubo una profundidad de sondaje >5 mm, además de sangrado evidente y pérdida ósea radiográfica.

Las muestras de biopsia gingival se colocaron inmediatamente en RNAlater® (Promega). Durante la noche a 4°C, se decantó, y se almacenó a -80 ° C. Se colocó en un criovial que contenía una etiqueta de código de barras para la identificación y posterior procesamiento de laboratorio.

**Cuarta cita:** Revisión postoperatoria del paciente, retiro de suturas y se dieron indicaciones ya sea para continuación de tratamiento o para dar de alta al paciente y que así continuara en fase de mantenimiento.

### **5.5.6 Pasos para el RT-PCR**

**Paso 1:** Sistema de Aislamiento del ARN total

La pureza y la integridad del ARN aislado de las células del tejido o cultivadas son críticos para su uso eficaz en aplicaciones tales como la PCR de transcripción inversa (RT-PCR), PCR de transcripción inversa cuantitativa (QRT-PCR), ensayos de protección de ARNasa, análisis de transferencia Northern, oligo (dT) selección de poli (A) + ARN, la traducción in vitro y el análisis de microarrays. A medida que el uso de la amplificación como una herramienta de investigación ha crecido, ha surgido la necesidad de métodos para aislar rápidamente ARN de alta calidad, sustancialmente libres de contaminación de ADN genómico, a partir de pequeñas cantidades de material de partida (células, tejidos y cultivadas). El sistema de aislamiento de ARN total SV ha sido diseñado para responder a estas necesidades.

Cada sistema contiene reactivos suficientes para 50 aislamientos de ARN total de tejido, células o sangre. Incluye:

- 2 paquetes: Tubos de colección (25)
- 2 paquetes: Tubos de elución (25)

- 2 paquetes: Columnas Spin (25)
- 50ml: RNA Lysis Buffer (RLA)
- 20ml: RNA tampón de dilución (RDA) (tampón azul)
- 2ml:  $\beta$ -mercaptoetanol (48,7%)
- 1 viales: DNasa I (lío­filizado)
- 250 $\mu$ l: MnCl<sub>2</sub>, 0.09M
- 2.5ml: Yellow Core Buffer
- 5.3ml: DNasa solución de parada (DSA) (concentrado)
- 58.8ml: RNA Wash Solution (RWA) (concentrado)
- 13ml: Nuclease-Free Water

Secuencia:

1. Homogeneizar las muestras (tejidos, células cultivadas o células blancas de la sangre) en el RNA Lysis Buffer (ARN).

2. Traslado al tubo nuevo y añadir RNA tampón de dilución (RDA), mezclar y centrifugar.

3. Traslado al nuevo tubo, añadir 95% de etanol y mezclar.

4. Traslado al girar la columna.

a. Vacío

Retirar lisado por vacío. Lavar con ARN

Solución de lavado (RWA). El tratamiento DNasa.

Solución de Parada DNasa (DSA). Lavar 2X con ARN

Solución de lavado (RWA).

b. Retirar la vuelta Basket y el lugar en el tubo de colección. Se centrifuga. Colocar vuelta Basket en tubo de elución.

5. Girar: Centrifugar 1 minuto

6. Lavar con ARN. Solución de lavado (RWA).

7. El tratamiento DNasa (Añadir DNasa)

Solución de parada (DSA). Centrifugar durante un minuto.

8. Lavar 2X con Solución de Lavado RNA (RWA).

9. Eluir el ARN en Tubo de elución

**Paso 2:** GoScript™ Sistema de Transcripción Inversa

El Sistema de Transcripción Inversa GoScript™ (a, b) es un kit conveniente que incluye una transcriptasa inversa y un conjunto optimizado de los reactivos diseñados para la síntesis eficiente de los ADNc de primera cadena optimizado en la preparación para la amplificación por PCR. Los componentes del Sistema de Transcripción Inversa GoScript™ se pueden utilizar para transcribir inversamente plantillas de ARN de partida con el ARN total, el poli (A) + mARN o la transcripción de ARN sintéticos.

EL sistema ACH contiene suficientes reactivos para 100 primeras líneas de reacciones de síntesis de cADN de 20µl cada una.

- 100µl: GoScript™ Transcripción Inversa
- 600µl: Goscript 5X tampón de reacción
- 1.2ml: MgCl<sub>2</sub> (25mM)
- 200µl: PCR nucleótidos Mix
- 50µg: Oligo(dT)<sub>15</sub> Primer
- 50µg: Random Primers
- 1.25ml: Nuclease-Free Water
- 2,500u: Recombinante RNasin® inhibidor de la ribonucleasa

Descripción: Este procedimiento describe la síntesis de ADNc para la amplificación subsiguiente mediante PCR o qPCR. Reacciones de transcripción inversa de hasta 5µg de ARN total, el poli (A) + miARN sintético o ARN de transcripción se llevan a cabo en las reacciones de 20µl compuestas de componentes del Sistema de Transcripción

Inversa GoScript™. El ARN experimental se combina con el cebador experimental. La mezcla de cebador con el molde, es térmicamente desnaturado a 70 ° C durante 5 minutos y se enfrió en hielo. Una mezcla de reacción de transcripción inversa se ensambla en hielo para contener agua libre de nucleasa, la transcriptasa inversa, cloruro de magnesio, dNTP (mezcla de nucleótidos de PCR) y el inhibidor de la ribonucleasa. En sistemas experimentales, la adición de 1μ/μl recombinante de RNasin® se recomienda como inhibidor de la ribonucleasa, pero es opcional.

Como paso final, se añade la combinación molde-iniciador a la mezcla de reacción en hielo. Después de un recocido inicial a 25 ° C durante 5 minutos, la reacción se incubaba a 42 ° C durante un período máximo de una hora. Debido a que ningún proceso de limpieza o la dilución es necesario después de la síntesis de ADNc, el producto puede añadirse directamente a las reacciones de amplificación. Este procedimiento describe el método propuesto para amplificar hasta un 5μl del producto de reacción de síntesis de ADNc en 25 μl amplificaciones de PCR.

### **Paso 3:** Acceso al sistema de RT-PCR

Numerosas técnicas han sido desarrolladas para medir la expresión génica en tejidos y células. Estos incluyen transferencias Northern, transcripción reversa acoplada y amplificación por RT-PCR, ensayos de protección de ARNasa, la hibridación *in situ*, transferencias de puntos y los ensayos de nucleasa S1. De estos métodos, el RT-PCR es el más sensible y versátil. Esta técnica se puede utilizar para determinar la presencia o ausencia de una transcripción, los niveles de expresión de estimación y clonar productos de ADNc sin la necesidad de construir y el cribado de una biblioteca de ADNc. La RT-PCR System (a, b, c) de acceso está diseñado para la transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La amplificación de un ARN específico diana de cualquiera de ARN total o ARNm (1). Este sistema de dos enzimas proporciona un análisis sensible, rápido y reproducible de los ARN. El sistema utiliza la transcriptasa inversa AMV (AMV RT) a partir de la mieloblastosis aviar, virus para la primera cadena de síntesis de ADN y el ADN polimerasa termoestable de *Thermus flavus* (Tfl) (2) para la segunda línea de síntesis de ADNc y amplificación de ADN. El sistema RT-PCR incluye un tampón optimizado que permite la detección extremadamente sensible

de transcritos de ARN sin un requisito para las adiciones de amortiguadores entre la transcripción inversa y los pasos de amplificación por PCR. Esto simplifica el procedimiento y reduce el potencial de contaminación de las muestras. Además, la mejora del rendimiento de la transcriptasa inversa AMV a temperaturas elevadas [45° C (b)] en el 5X tampón de reacción AMV / Tfl minimiza los problemas encontrados con las estructuras secundarias de ARN.

#### Análisis

1. Analizar los productos del PCR mediante electroforesis en agar gel, en un 5% del total de la reacción. Los productos serán fácilmente visibles por transiluminación UV (ultravioleta) de un gel teñido con bromuro de etidio. El producto de amplificación será obtenido mediante el uso del ARN de control positivo.
2. Almacenar los productos de reacción a -20°C hasta que se necesite. Los productos de reacción pueden purificarse mediante el coadyuvante para SV® Gel y PCR System Clean-Up (Cat. # A9281, 7).
3. Los patrones de expresión de miARN se evaluaron con un genoma de miRNA RT2 por medio de PCR en matriz humana que contiene sondas para 88 de las secuencias de genes del miARN más abundantemente expresado.

## 5.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS.

“Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud”:

- Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.
- Título tercero. De la investigación de nuevos **recursos profilácticos**, de **diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación**. Capítulo I Artículos 61-64 Cuando se realice investigación en seres humanos sobre nuevos (o se modifiquen) recursos profilácticos, dx, terapéuticos o rehabilitación, además deberán solicitar autorización de la Secretaría presentando documentación requerida.

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León.



## 6. RESULTADOS

### 6.1 Demografía de la población de estudio

El rango de edad de los participantes fue de 18 a 65 años con una edad promedio de 41.5 años sin diferencias significativas entre los cuatro grupos en edad, sexo y raza. Los participantes fueron clasificados dependiendo a su IMC y su presencia o ausencia de enfermedad periodontal. Cada grupo consistió en un total de 10 participantes, siendo estos divididos en 4 grupos: A: pacientes obesos con periodontitis crónica (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), B: pacientes obesos sin enfermedad periodontal (IMC  $>30$  kg/m<sup>2</sup>), C: pacientes sin obesidad con periodontitis crónica (IMC 18.50-24.99 kg/m<sup>2</sup>), D: pacientes sin obesidad y periodontalmente sanos (IMC 18.50-24.9930 kg/m<sup>2</sup>).

### 6.2 Expresión diferencial del miARN por IMC entre los participantes con periodontitis

En la comparación entre los participantes obesos con periodontitis crónica y participantes no obesos con periodontitis, indicaron una regulación positiva de hasta 11 miARN ( $P < 0.05$ ). En general, la regulación positiva varió en un doblaje de 2.0 a 10.9 veces. Todos los miARN del grupo de obesos con periodontitis crónica tuvieron una regulación positiva y el grupo no obesos con periodontitis crónica presentó una regulación negativa con valores estadísticamente significativos en ambos grupos. El miARN 7-5p alcanzó el valor estadísticamente significativo más alto de todos los miARN ( $P < 0.000011$ ) presente en el grupo B, seguidos por el grupo A con un valor estadístico de ( $P < 0.000047$ ), presentando un doblaje de más del doble expresado positivamente en el grupo B (9.5) que en el grupo A (4.5). Lo que sugiere vías asociadas genómicas compartidas entre la obesidad y la enfermedad periodontal siendo en la presencia de un alto IMC el factor que mayores doblajes presenta. No obstante, existió una regulación positiva mayor (doblaje de 10.9) para los participantes que eran obesos (Grupo A) en comparación con una regulación negativa en los participantes no obesos con enfermedad periodontal (Grupo C) (doblaje de 0.3). Lo que concuerda con una expresión mejorada de distintas especies de miARN en la periodontitis cuando hay obesidad. En pacientes con o sin enfermedad periodontal y sin obesidad existió

regulación negativa significativa entre las 11 de las 47 especies de miARN analizadas y solo se presentaron en el grupo 3 y 4.

### 6.3 Expresión diferencial de miARN en periodontitis entre participantes obesos

De la misma manera en que se comparo con los dos grupos anteriores, se realizó una comparación entre individuos obesos entre aquellos con o sin enfermedad periodontal.

En individuos obesos periodontalmente sanos (Grupo B), todas las especies de miARN fueron estadísticamente significativas, presentaron un rango alto de doblaje (de 13.7 a 9.5 veces), fueron 4 (miR-21-5p, miR-7f-5p, miR-29b-3p y miR-7-5p) y fueron las mayores. Aunque aumentó tanto en la salud periodontal como en la enfermedad, la expresión de miR-21-5p entre individuos obesos alcanzó una regulación positiva mayor en obesos sin enfermedad periodontal. En general, 10 miARNs se identificaron, todos alcanzaron valores estadísticos, pero solo se existió regulación positiva en el grupo A y B; obesos con o sin enfermedad periodontal (Tabla 2).

Grupos:		A	B	C	D
		Obesos perio	Obesos no perio	no obeso con perio	No obeso sano
1	hsa-let-7g-5p	2.8285	7.7104	0.0939	0.2612
2	hsa-miR-126-3p	3.6631	4.6583	0.1719	0.2061
3	hsa-miR-146a-5p	4.2317	6.2725	0.3121	0.4492
4	hsa-miR-21-5p	10.9015	13.7924	0.0927	0.1054
5	hsa-miR-26a-5p	2.7333	2.9862	0.1975	0.1954
6	hsa-miR-26b-5p	5.4146	6.0369	0.1366	0.1384
7	hsa-miR-27b-3p	3.2586	5.7739	0.0908	0.1581
8	hsa-miR-28-5p	2.0031	2.3219	0.3055	0.2761
9	hsa-miR-374a-5p	4.5988	6.9405	0.1797	0.2511
10	hsa-miR-7-5p	4.5091	9.5951	0.2028	0.2987

**Tabla 2.** Diferencia de expresión en doblaje de miARN en biopsias obtenidas en pacientes sanos, obesos, con y sin enfermedad periodontal.

## 6.4 Predicción de dianas de miARN

Para comprender la posible función moduladora de estas 16 especies de miARN reguladas positivamente asociadas con la obesidad y la enfermedad periodontal, se determino dianas con prediccion en relación los objetivos; estos incluyen inflamación, regulación inmune y metabolismo óseo, lípidos y glucosa (Tabla 3).

		Inmunidad e inflamación	Met. Oseo	Met.de lípidos	Met. de carbohidratos
1	hsa-let-7f-5p	X	x		
2	hsa-let-7g-5p	x	x	x	
3	hsa-miR-126-3p	x	x	x	x
4	hsa-miR-146a-5p	x	x		x
5	hsa-miR-155-5p	X			
6	hsa-miR-20a-5p	X			
7	hsa-miR-21-5p	x	x		x
8	hsa-miR-26a-5p	x		x	
9	hsa-miR-26b-5p	x			x
10	hsa-miR-27b-3p	x	x	x	
11	hsa-miR-28-5p	x	x	x	
12	hsa-miR-29b-3p	X			x
13	hsa-miR-29c-3p	X	x		
14	hsa-miR-374a-5p	x		x	
15	hsa-miR-424-5p	X			
16	hsa-miR-7-5p	x	x		x

**Tabla 3.** miARN asociado a la categoría de términos GO(mirbase.rg).

Se incluyeron los objetivos validados de las 4 bases de datos y se identificaron 47 dianas en relación a las especies de miARN presentes: interleucinas (IL-1, IL-2, IL-7, IL-11, IL-12), interferones (IFNA16, IFNA21) receptores (IFNAR1, IRF4, IRF5), factor de necrosis tumoral (TNF, TNFAIP3, TNFSF8, , TNFSF10, TNFSF11, TNFSF14); proteínas implicadas en la formación de colágeno (COL5, COL8, COL10); factor de crecimiento fibroblastico (FGF15, FGF18, FGF19); y moléculas del metabolismo óseo (BAMBI, CASP6, MMP2, MMP5, MMP9, MMP11) (Tabla 4).

	<i>Grupos:</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>
	ARN	Obesos perio	Obesos no perio	no obeso con perio	No obeso sano
1	hsa-let-7a-5p	NO	4.2099	0.1798	0.2167
2	hsa-let-7c-5p	NO	3.0974	NO	NO
3	hsa-let-7d-5p	NO	2.9096	0.2837	0.3653
4	hsa-let-7e-5p	NO	3.9677	0.1853	0.2026
5	hsa-let-7f-5p	5.6461	10.7559	0.0856	0.1607
6	hsa-let-7g-5p	2.8285	7.7104	0.0939	0.2612
7	hsa-let-7i-5p	NO	3.1314	NO	NO
8	hsa-miR-101-3p	NO	4.5711	NO	NO
9	hsa-miR-103a-3p	NO	NO	0.3723	NO
10	hsa-miR-126-3p	3.6631	4.6583	0.1719	0.2061
11	hsa-miR-141-3p	NO	2.778	NO	NO
12	hsa-miR-142-3p	NO	4.0266	NO	NO
13	hsa-miR-143-3p	NO	4.1048	NO	NO
14	hsa-miR-146a-5p	4.2317	6.2725	0.3121	0.4492
15	hsa-miR-150-5p	NO	NO	3.6136	2.9668
16	hsa-miR-151a-5p	NO	NO	0.457	0.4034
17	hsa-miR-155-5p	2.5221	2.1083	NO	NO
18	hsa-miR-15a-5p	NO	3.2177	NO	NO
19	hsa-miR-16-5p	NO	3.9369	NO	NO
20	hsa-miR-17-5p	NO	3.6969	NO	0.3
21	hsa-miR-181b-5p	NO	2.0294	0.5303	NO
22	hsa-miR-185-5p	NO	NO	NO	0.2718
23	hsa-miR-195-5p	NO	3.6101	NO	NO
24	hsa-miR-196b-5p	NO	0.3621	NO	NO
25	hsa-miR-19a-3p	NO	7.9754	NO	NO
26	hsa-miR-19b-3p	NO	3.7798	NO	NO
27	hsa-miR-20a-5p	2.4087	4.5012	NO	NO
28	hsa-miR-21-5p	10.9015	13.7924	0.0927	0.1054
29	hsa-miR-23b-3p	NO	NO	0.5218	0.2723
30	hsa-miR-24-3p	NO	2.3139	NO	0.2603
31	hsa-miR-25-3p	NO	NO	0.3904	0.4095
32	hsa-miR-26a-5p	2.7333	2.9862	0.1975	0.1954
33	hsa-miR-26b-5p	5.4146	6.0369	0.1366	0.1384
34	hsa-miR-27a-3p	NO	6.4735	NO	NO
35	hsa-miR-27b-3p	3.2586	5.7739	0.0908	0.1581
36	hsa-miR-28-5p	2.0031	2.3219	0.3055	0.2761
37	hsa-miR-29a-3p	NO	3.0765	NO	NO
38	hsa-miR-29b-3p	5.1453	10.2039	NO	NO

39	hsa-miR-29c-3p	3.3377	8.455	NO	NO
40	hsa-miR-30b-5p	NO	2.0584	NO	NO
41	hsa-miR-30c-5p	NO	1.676	0.477	NO
42	hsa-miR-32-5p	NO	2.8226	NO	NO
43	hsa-miR-374a-5p	4.5988	6.9405	0.1797	0.2511
44	hsa-miR-423-5p	NO	0.5111	NO	NO
45	hsa-miR-424-5p	3.5971	5.489	NO	NO
46	hsa-miR-7-5p	4.5091	9.5951	0.2028	0.2987
47	hsa-miR-93-5p	NO	3.0606	0.347	NO
	Grupos:	1	2	3	4

**Tabla 4.** Relación completa comparativa de miARN entre los 4 grupos estudiados

	Grupo	A	C
	ARN	Obesos perio	no obeso con perio
1	hsa-let-7f-5p	5.6461	0.0856
2	hsa-let-7g-5p	2.8285	0.0939
3	hsa-miR-126-3p	3.6631	0.1719
4	hsa-miR-146a-5p	4.2317	0.3121
5	hsa-miR-21-5p	10.9015	0.0927
6	hsa-miR-26a-5p	2.7333	0.1975
7	hsa-miR-26b-5p	5.4146	0.1366
8	hsa-miR-27b-3p	3.2586	0.0908
9	hsa-miR-28-5p	2.0031	0.3055
10	hsa-miR-374a-5p	4.5988	0.1797
11	hsa-miR-7-5p	4.5091	0.2028

**Figura 5.** Expresión diferencial del miARN por IMC entre los participantes con periodontitis

*Expresión diferencial de miARN en periodontitis entre participantes obesos*

	<b>Grupo</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
	ARN	Obesos perio	Obesos no perio
1	hsa-let-7f-5p	5.6461	10.7559
2	hsa-let-7g-5p	2.8285	7.7104
3	hsa-miR-126-3p	3.6631	4.6583
4	hsa-miR-146a-5p	4.2317	6.2725
5	hsa-miR-155-5p	2.5221	2.1083
6	hsa-miR-20a-5p	2.4087	4.5012
7	hsa-miR-21-5p	10.9015	13.7924
8	hsa-miR-26a-5p	2.7333	2.9862
9	hsa-miR-26b-5p	5.4146	6.0369
10	hsa-miR-27b-3p	3.2586	5.7739
11	hsa-miR-28-5p	2.0031	2.3219
12	hsa-miR-29b-3p	5.1453	10.2039
13	hsa-miR-29c-3p	3.3377	8.455
14	hsa-miR-374a-5p	4.5988	6.9405
15	hsa-miR-424-5p	3.5971	5.489
16	hsa-miR-7-5p	4.5091	9.5951

**Figura 6.** Expresión diferencial de miARN en periodontitis entre participantes obesos

## 7. DISCUSIÓN

La epidemia actual de obesidad representa un gran reto para la prevención de enfermedades crónicas. Impulsada por un estilo de vida cada vez más sedentaria y una transición nutricional a alimentos procesados y dietas altas en calorías en los últimos 30 años, muchos países han presenciado la prevalencia de la obesidad en sus ciudadanos aumentar hasta incluso llegar a aumentar más del doble (Martinez Herrera *et al*, 2017).

Existen suficientes fuentes que encuentran una relación directa en que la obesidad aumenta las probabilidades de causar enfermedades en órganos como el corazón, cerebro o sistema circulatorio entre otros (Hruby A *et al*, 2015). Los resultados muestran que una nutrición deficiente prolongada induce a ciertas especies de miARN que permiten el desbalance crónico que conlleva a la obesidad, y pueden también tener vías simultaneas asociadas a la modulación de inflamación en los tejidos periodontales afectando específicamente a la expresión de la enfermedad.

El efecto de la supresión o corte de transcripción de los miARN en la patogénesis de la enfermedad periodontal especialmente en presencia de obesidad es ampliamente desconocido. En el genoma humano, se han registrado más de 600 miARNs maduros hasta la fecha; sin embargo, la predicción computacional estima que esto podría aumentar a más de 1000 (Ran Xu *et al*, 2016).

Perri *et al* (2012) realizó el primer estudio piloto en humanos, el cual tenía como objetivo determinar el papel que juegan los miARNs como un mecanismo potencial asociado entre la obesidad y la enfermedad periodontal.

En esta investigación se proporcionan datos que implican el potencial de interacción en presencia o ausencia de la obesidad y enfermedad periodontal, que puedan involucrar vías moleculares convergentes en la modulación de miARN. El aumento de las respuestas inmunitarias e inflamatorias locales en individuos obesos con periodontitis puede explicar la presentación clínica agresiva y la respuesta al tratamiento alterada en comparación con la de sujetos con peso normal.

Las especies de miARNs expresadas y que pasaron por su proceso de diferenciación mostraron dianas relacionadas a la lista de objetivos que incluyen vías moleculares convergentes; inmunológicas, inflamatorias y trastornos metabólicos (Tabla 3).

La homeostasis de glucosa están finamente regulada por la liberación de insulina, los miARN tienen un papel principal en la producción y secreción de insulina, así como simultáneamente modular la sensibilidad o resistencia de los tejidos diana (Heneghan *et al*, 2010) Esto sugiere que los procesos metabólicos que pueda ser influenciado directamente por la obesidad, aumenta la expresión de ciertos miARNs que se sabe que regulan el metabolismo de lípidos y glucosa, también tienen dianas que modulan la inflamación y metabolismo del tejido conectivo. Por ejemplo, se encontró una regulación positiva en el grupo 2 de miR-21-5p con un doblaje positivo de 13.7 veces, así como de miR-146a-5p con un doblaje positivo de 6.2 veces.

Sharma *et al* (2015) investigó la modulación del miARN en tejido adiposo de pacientes obesos no diabéticos y encontró un aumento de expresión de miARNs en tejido adiposo subcutáneo, específicamente miR-21-5p, miR-146a-5p y miR-146b-5p, en respuesta inflamatoria a la adipogénesis. En el grupo 3 y 4 miR-21-5p se presentó con un doblaje negativo de .09 y .10 veces y miR-146a-5p con un doblaje negativo de .31 y .44 veces (Sharma *et al*, 2015).

Los altos niveles de expresión de miR-146a en células secretoras de insulina afectan en la liberación de insulina y la supervivencia celular, pero si el doblaje es  $<1$  los genes dirigidos a miR-146a como Med1 aumentan la sensibilidad a la insulina, mejoran la tolerancia a la glucosa y confieren resistencia a la obesidad inducida por dietas altas en grasas (Huszar J.M *et al*, 2013). Lo que sugiere que la presencia de inflamación metabólica por obesidad promueve la regulación positiva de los miARNs (Grupo A y B), pero con ausencia de obesidad la regulación de estas sea vuelve negativa y por efecto tienen reacciones contrarias (Grupo C y D).

El miR-150-5p fue el único caso en el que se presentó una regulación con doblaje positivo para el grupo C y D mientras que el grupo A y B no tuvo expresión alguna. Sang W en el 2016 describió la regulación negativa inmunológica del miARN 150-5p



en los linfocitos T CD4(+) inhibiendo a la vía de señalización AKT3/BIM, mecanismos de proliferación y activación de las células, así como también tiene la capacidad de promover apoptosis (Sang W *et al*, 2016). También se encontró en el suero de pacientes con miastenia gravis una cantidad alta de miARNs y el que mostro mayor asociación fue miR-150-5p (Punga T *et al*, 2014). Este tipo de regulaciones se presenta en reacciones de hipersensibilidad tipo 4 y los pacientes no obesos (Grupo D) la regulación es positiva, pero se presento con un doblaje mayor en pacientes con enfermedad periodontal (Grupo C).

En un estudio de la misma línea por Kalea AZ (2015) registró resultados de 13 miARNs regulados positivamente y 22 negativamente en la presencia de obesidad y enfermedad periodontal, mir-200b-5p y miR-28-5p presentaron un doblaje de 1.6 y 1.3 veces mas que los otros miARNs. Su diana son genes que serán silenciados como ZEB1, ZEB2, GATA2 y KDR (Kalea AZ *et al*, 2015). Estos genes son importantes por su involucración en las vías encargadas de la re-epitelización de heridas gingivales. Proceso crucial en la regeneración periodontal y restablecimiento de la integridad de tejido, afectando así también su resultado a su abordaje clínico (Tomikawa K *et al*, 2012). En nuestra investigación no tuvimos presencia de mir-200b-5p lo cual puede ser por un análisis bioinformatico diferente, pero si tuvimos miR-28-5p con un doblaje de 2.0 en el grupo A, lo cual nos da un registro mayor en nuestra base de datos en comparación.

El incremento de expresión de miR-21-5p en el grupo 2 obtuvo el doblaje positivo mas alto de todos 13.7 veces. Lopez-Ramos (2014) en su investigación explica como la sobreexpresión de miR-21-5p puede ser utilizado benéficamente como biomarcador predictivo de regresión tumoral completa de tratamiento quimioterapéutico en pacientes con cáncer rectal y así potencialmente salvar a pacientes de cirugías radicales (López-Ramos CM *et al*, 2014). Por otra parte, miR-21-5p demostró ser como regulador funcional de la expresión de la mesotelina usando la afinidad a órganos con características tumorales o cancerígenas del miARN sirviendo a su vez para desarrollar tratamientos que imiten la estructura, pero bloqueen la función del mismo con éxito ya reportado in vitro (De Santi *et al*, 2017). Se podría inferir que porque el doblaje positivo

solo se encontró en los grupos donde la obesidad estaba presente (Grupos A y B), existe una mayor relación entre la oncogénesis y la obesidad por sus vías moleculares convergentes mucho mas compartidas que con la enfermedad periodontal.

Las limitaciones de este estudio incluyen el tamaño de muestra, geografía y el diseño de PCR que se dirigió solo a a un banco de especies seleccionadas. Claramente, se necesitarán estudios adicionales con una biblioteca mas robusta de miARNs para evaluar adecuadamente el papel que juegan cada una en la homeostasis. Mejorar nuestra tecnología como con técnicas de secuenciación de nueva generación (SNG) en la regulación de la patogénesis periodontal y el impacto de la obesidad como un modificador.

## 8. CONCLUSIONES

En esta investigación se demostró que existen dianas compartidas de tipo metabólico e inflamatorias específicas de los miARN que provienen de morbilidades que ambas enfermedades obesidad y periodontitis producen una expresión local de doblaje positivo de ciertas miARN compartiendo vías moleculares. Es imposible ser mas específico con estos datos; el tamaño de muestra reducida, el número limitado de especies de miARN en estudio, tecnología de secuenciación de segunda generación y la falta de corrección para comparaciones múltiples en los análisis.

Estos resultados demuestran que se necesitarán estudios mas amplios para validar aun mas estos hallazgos. Es importante mencionar que los horizontes de este estudio es presentar para encontrar las vías moleculares específicas de ambas enfermedades y así desarrollar nuevas dianas terapéuticas para controlar la enfermedad periodontal. Puede ser que nos estemos acercando a los reguladores específicos cada ves mas de la patogénesis de la enfermedad periodontal para así tener un mapa genómico y poder tratar la enfermedad periodontal de una manera específica y personalizada afectando directamente en su resultado terapéutico.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Zahrani MS, Bissada NF, Borawski EA. Obesity and Periodontal Disease in Young, Middle-Aged, and Older Adults. *J Periodontol.* 2003;74(5):610–5.

Armitage GC, Robertson PB. The biology, prevention, diagnosis and treatment of periodontal diseases: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc.* 2009;140(1):36S – 43S.

Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1–6.

Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, Pedroza A, Rivera-Dommarco JA. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, 2000-2012. *Salud Pública México.* 2013;55:S151–60.

Barros SP, Offenbacher S. Modifiable risk factors in periodontal disease: epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response. *Periodontol 2000.* 2014;64(1):95–110.

Carlos JP, Wolfe MD, Kingman A. The extent and severity index: a simple method for use in epidemiologic studies of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1986;13(5):500–5.

Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell.* 2009;136(4):642–55.

Chaffee BW, Weston SJ. Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol.* 2010;81(12):1708–24.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284(5418):1318–22.

D’Aiuto F, Suvan J. Obesity, inflammation, and oral infections: are microRNAs the missing link?. *J Dent Res.* 2012;91(1):5–7.

Dalla Vecchia CF, Susin C, Rösing CK, Oppermann RV, Albandar JM. Overweight and obesity as risk indicators for periodontitis in adults. *J Periodontol*. 2005;76(10):1721–8.

De Castilhos ED, Horta BL, Gigante DP, Demarco FF, Peres KG, Peres MA. Association between obesity and periodontal disease in young adults: a population-based birth cohort. *J Clin Periodontol*. 2012;39(8):717–24.

De Santi C, Vencken S, Blake J, Haase B, Benes V, Gemignani F, Landi S, Greene CM. Identification of MiR-21-5p as a Functional Regulator of Mesothelin Expression Using MicroRNA Capture Affinity Coupled with Next Generation Sequencing. *PLoS ONE*. 2017;12(1):e0170999.

Ekuni D, Yamamoto T, Koyama R, Tsuneishi M, Naito K, Tobe K. Relationship between body mass index and periodontitis in young Japanese adults. *J Periodontol Res*. 2008;43(4):417–21.

Finnerty JR, Wang W-X, Hébert SS, Wilfred BR, Mao G, Nelson PT. The miR-15/107 group of microRNA genes: evolutionary biology, cellular functions, and roles in human diseases. *J Mol Biol*. 2010;402(3):491–509.

Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):59–94.

Genco RJ. Current View of Risk Factors for Periodontal Diseases. *J Periodontol*. 1996;67(10s):1041–9.

Goodson JM, Groppo D, Halem S, Carpino E. Is obesity an oral bacterial disease?. *J Dent Res*. 2009;88(6):519–23.

Gorman A, Kaye EK, Apovian C, Fung TT, Nunn M, Garcia RI. Overweight and obesity predict time to periodontal disease progression in men. *J Clin Periodontol*. 2012;39(2):107–14.

Haffajee AD, Socransky SS. Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *J Clin Periodontol*. 2009;36(2):89–99.

Heneghan HM, Miller N, Kerin MJ. Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome. *Obes Rev.* 2010;11(5):354-361.

Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015;33(7):673-689.

Huszar J.M., Payne C.J. *miR-146a* Influences Energy Metabolism, Cell Differentiation and Innate Immunity. *Metabolomics.* 2013;3(1):119.

Kalea AZ, Hoteit R, Suvan J, et al. Upregulation of Gingival Tissue miR-200b in Obese Periodontitis Subjects. *Journal of Dental Research.* 2015;94(3 Suppl):59S-69S.

Khader YS, Bawadi HA, Haroun TF, Alomari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease and obesity among adults in Jordan. *J Clin Periodontol.* 2009;36(1):18–24.

Kinane DF, Shiba H, Hart TC. The genetic basis of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2005;39(1):91–117.

Lin Q, Gao Z, Alarcon RM, Ye J, Yun Z. A role of miR-27 in the regulation of adipogenesis. *FEBS J.* 2009;276(8):2348–58.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. *J Clin Periodontol.* 1986;13(5):431–40.

Löe 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.

Löe H, Theilade E, Jensen SB, Schiott CR. Experimental gingivitis in man. 3. Influence of antibiotics on gingival plaque development. *J Periodontal Res.* 1967;2(4):282–9.

Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol.* 1965;36(3):177-187.

Lopes-Ramos CM, Habr-Gama A, Quevedo B de S, et al. Overexpression of miR-21-5p as a predictive marker for complete tumor regression to neoadjuvant chemoradiotherapy

in rectal cancer patients. *BMC Medical Genomics*. 2014;7:68.

Maloney WJ, Weinberg MA. Implementation of the American Society of Anesthesiologists Physical Status classification system in periodontal practice. *J Periodontol*. 2008;79(7):1124-1126.

Martinez-Herrera M, Silvestre-Rangil J, Silvestre FJ. Association between obesity and periodontal disease. A systematic review of epidemiological studies and controlled clinical trials *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22 (6):e708-15.

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):156–63.

McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Curr Mol Med*. 2011;11(4):304–16.

Nares S. The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2003;32(1):36–49.

The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1991;26(3 Pt 2):230–42.

Park JY, Pillinger MH. Interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2007;65(1):S4–10.

Perri R, Nares S, Zhang S, Barros SP, Offenbacher S. MicroRNA modulation in obesity and periodontitis. *J Dent Res*. 2012;91(1):33–8.

Punga, T, Le Panse R, Andersson M, Truffault F, Berrih-Aknin S, Punga A. Circulating miRNAs in myasthenia gravis: miR-150-5p as a new potential biomarker. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1: 49–58.

R. Perri, S. Nares, S. Zhang, S.P. Barros, S. Offenbacher. MicroRNA Modulation in Obesity and Periodontitis. *J Dent Res*. 2012;91(1):33-38.

Ran Xu, Guang Zeng, Shuyong Wang, Hong Tao, Le Ren, Zhe Zhang, Qingna Zhang,

Jinxiu Zhao, Jing Gao, Daxu Li. Periodontitis promotes the diabetic development of obese rat via miR-147 induced classical macrophage activation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;83:892-897.

Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goené RJ, Abbas F, de Graff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol*. 1990;17(6):392-9.

Rojo Botello NR, Flores Espinosa A, Arcos Castro M. Prevalencia, severidad y extensión de periodontitis crónica. *Rev Odontológica Mex*. 2011;15(1):31-39.

Saito T, Shimazaki Y, Koga T, Tsuzuki M, Ohshima A. Relationship between Upper Body Obesity and Periodontitis. *J Dent Res*. 2001;80(7):1631-1636.

Sánchez ÁH. Texto ilustrado e interactivo de biología molecular e ingeniería genética + Student Consult en español: Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud. Elsevier España; 2012. 1245 p.

Sanders AE, Slade GD, Fitzsimmons TR, Bartold PM. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36(5):388-95.

Sang W, Sun C, Zhang C, Zhang D, Wang Y, Xu L, Zhang Z, Wei X, Pan B, Yan D, Zhu F, Yan Z, Cao J, Loughran TP Jr, Xu K. MicroRNA-150 negatively regulates the function of CD4(+) T cells through AKT3/Bim signaling pathway. *Cell Immunol*. 2016;306-307:35-40.

Saxlin T, Suominen-Taipale L, Leiviskä J, Jula A, Knuuttila M, Ylöstalo P. Role of serum cytokines tumour necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 in the association between body weight and periodontal infection. *J Clin Periodontol*. 2009;36(2):100-105.

Saxlin T, Ylöstalo P, Suominen-Taipale L, Aromaa A, Knuuttila M. Overweight and obesity weakly predict the development of periodontal infection. *J Clin Periodontol*. 2010;37(12):1059-67.



Saxlin T, Ylöstalo P, Suominen-Taipale L, Männistö S, Knuuttila M. Association between periodontal infection and obesity: results of the Health 2000 Survey. *J Clin Periodontol*. 2011;38(3):236–42.

Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clin Genet*. 2000;58(4):250–264.

Sharma, N. K., Varma, V., Ma, L., Hasstedt, S. J., & Das, S. K. Obesity Associated Modulation of miRNA and Co-Regulated Target Transcripts in Human Adipose Tissue of Non-Diabetic Subjects. *Microna*. 2015;4(3):194–204.

Sheridan WF, Barnett RJ. Cytochemical studies on chromosome ultrastructure. *J Ultrastruct Res*. 1969;27(3–4):216–229.

Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135–187.

Socransky SS. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res*. 1970;49(2):203–222.

Stoecklin-Wasmer C, Guarnieri P, Celenti R, Demmer RT, Kebschull M, Papapanou PN. MicroRNAs and their target genes in gingival tissues. *J Dent Res*. 2012;91(10):934–940.

Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005;365(9467):1333–1346.

Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 1986;13(10):905–911.

Tomikawa K, Yamamoto T, Shiomi N, Shimoe M, Hongo S, Yamashiro K, Yamaguchi T, Maeda H, Takashiba S. Smad2 decelerates re-epithelialization during gingival wound healing. *J Dent Res*. 2012;91:764–770.

Xie Y, Shu R, Jiang S, Liu D, Zhang X. Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues. *Int J Oral Sci*. 2011;3(3):125–134.

Xie Y, Shu R, Jiang S, Liu D, Zhang X. Comparison of microRNA profiles of human periodontal diseased and healthy gingival tissues. *Int J Oral Sci.* 2011;3(3):125–134.

Ylöstalo P, Suominen-Taipale L, Reunanen A, Knuuttila M. Association between body weight and periodontal infection. *J Clin Periodontol.* 2008;35(4):297–304.

## 10. ANEXOS

### 10.1 Hoja de consentimiento informado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
POSGRADO DE PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA ORAL



#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Paciente: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
Domicilio: \_\_\_\_\_

Ha sido informado, de todo acto odontológico de diagnóstico ó terapéutico, sea anestésico-quirúrgico, lleva implícito el riesgo de presentar una serie de complicaciones mayores o menores, a veces potencialmente serias. Dichas complicaciones pueden ser derivadas de la propia técnica de anestesia y otras dependen del procedimiento dental a realizar, del estado previo del paciente, de los tratamientos que está recibiendo.

Las complicaciones y molestias que se pueden presentar al realizar mi Tratamiento Periodontal son:

1. La administración de la anestesia local puede provocar en algunos casos: úlceras en la mucosa, dolor, hematoma y en algunas ocasiones limitaciones en la apertura de la boca, pueden requerir tratamiento posterior. Del mismo modo puede presentar alguna baja de presión y sensación de mareo. Entiendo que en algunos pacientes pueden presentar algún tipo de reacción alérgica o hipersensibilidad a la anestesia local, que se manifiesta como urticaria, dermatitis de tipo de reacción alérgica o hipersensibilidad a ala anestesia local, que se manifiesta como urticaria, dermatitis de contacto, asma y edema angioneurótico, en casos extremos pueden requerir tratamiento de emergencias. Asimismo, el paciente puede morderse la lengua, labios y carrillos por comer alimentos al no esperar desaparezca el efecto del anestésico.

2. Todo acto quirúrgico, como el Tratamiento Periodontal puede ocasionar potencialmente distintas complicaciones, sobre todo en personas con alguna condición o enfermedad sistémica como las siguientes: diabetes, cardiopatía, hipertensión, anemia de edad avanzada, obesidad.

3. El propósito principal del Tratamiento Periodontal puede ocasionar potencialmente distintas complicaciones, sobre todo en personas con alguna condición sistémica como las siguientes: diabetes, cardiopatía, hipertensión, anemia, edad avanzada, obesidad.

- a) El paciente podrá presentar algunas molestias al principio tales como: infección dolor, sangrado, sensibilidad dental a los alimentos, líquidos fríos, calientes,

dulces o ácidos, contracción de la encía durante la cicatrización, dando como resultado la elongación de algunos órganos dentarios, formación de espacios grandes entre los mismos presencia de ulceraciones labiales o bucales.

- b) El paciente podrá desarrollar inflamación de los tejidos gingivales si no mantiene una higiene oral adecuada para mantener dientes y prótesis escrupulosamente limpias.
- c) La cicatrización se retrasa cuando el paciente presente alguna o varias de las siguientes condiciones: infección generalizada, diabetes u otros padecimientos debilitantes, no llevar una dieta balanceada.

Las posibles consecuencias de no realizar el tratamiento podrían ser, avance de la enfermedad con una considerable pérdida de los tejidos de los tejidos de soporte con la consiguiente pérdida de los órganos dentarios en un tiempo no especificado.

Se me ha comentado no se me garantiza el éxito de tratamiento propuesto, este depende del grado de avance de la enfermedad periodontal mi interés y cuidado para mantener mi salud bucal, manteniendo una buena higiene oral para evitar la formación y acumulo de placa dentobacteriana y acudiendo a mantenimiento permanente de acuerdo al diagnóstico periodontal.

Se me ha recomendado en caso de presentar una molestia posterior solicitar consulta lo mas pronto posible.

RECONOZCO:

He recibido la información necesaria y oportuna, me han sido explicadas y las he comprendido en un lenguaje claro y sencillo y he tenido la oportunidad de discutir con el/la alumna y/ o con el profesor/a supervisor/a, el tipo de intervención o procedimiento su propósito y naturaleza, las alternativas razonables las posibles consecuencias de no realizar el tratamiento y los riesgos y posibles complicaciones.

MANIFIESTO:

Estoy satisfecho con la información recibida y comprendo el alcance de los riesgos del tratamiento o procedimiento.

ACEPTO:

El/ La alumna me realicen los procedimientos de diagnóstico, pronóstico y plan de tratamiento me fueron explicadas como, los procedimientos necesarios para la atención de contingencias y urgencias derivadas de acto autorizado y me doy por enterado/a de mi declaración.

Monterrey, N.L. \_\_\_\_\_ del mes \_\_\_\_\_ del año 201 \_\_\_\_.

**Forma de consentimiento informado:**

He leído la información anteriormente mencionada. Tuve la oportunidad de realizar cualquier pregunta acerca del estudio y me fueron contestadas de forma satisfactoria. Doy mi consentimiento informado voluntario de participar en el estudio.

---

Firma del participante

---

Nombre del participante

---

Fecha

---

Firma de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

---

Nombre de la persona que está recibiendo el consentimiento informado

## 10.2 Historia Clínica

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**POSGRADO DE PERIODONCIA**

ALERTA MÉDICA

LA SIGUIENTE INFORMACION ES INDISPENSABLE PARA HACER UN DIAGNOSTICO Y OFRECER EL TRATAMIENTO INDICADO A SU CONDICION DE SALUD  
Toda esta información será confidencial.

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre (s) \_\_\_\_\_ Apellido Paterno \_\_\_\_\_ Apellido Materno \_\_\_\_\_  
Ocupación: \_\_\_\_\_ Edo. Civil: \_\_\_\_\_  
Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
mes/ día/ año

Domicilio part.: \_\_\_\_\_  
calle colonia/ciudad/estado/código postal

Teléfono: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_ Correo electrónico: \_\_\_\_\_

Empresa donde trabaja / escuela: \_\_\_\_\_

Puesto que ocupa / grado que cursa: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_  
calle/colonia/ciudad/estado/código postal

Nombre de su esposo(a): \_\_\_\_\_

Ocupación de su esposo(a): \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_ No. de personas que dependen de mi: \_\_\_\_\_

Nombre de mi médico: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Nombre de mi dentista: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Mi último tratamiento dental fue: \_\_\_\_\_  
Fecha

Persona responsable de pago de honorarios del tratamiento: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

RFC: \_\_\_\_\_

A quien agradecemos su referencia: \_\_\_\_\_

MOTIVOS DE ESTA CONSULTA: \_\_\_\_\_

Menor de edad es necesario firma del padre/madre o tutores.

Nombre

Firma

**HISTORIA MÉDICA:**

Como considera su estado de salud general:       Buena       Regular       Mala  
De salud bucal:       Buena       Regular       Mala

Esta Ud. bajo algún tratamiento médico actualmente:

No  Si  Cual? \_\_\_\_\_

¿Cuándo fue su último tratamiento médico? \_\_\_\_\_

Esta tomando alguno de estos medicamentos

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Antibióticos o sulfas                  | <input type="checkbox"/> Nitroglicerina          |
| <input type="checkbox"/> Anticoagulantes                        | <input type="checkbox"/> Hormonas                |
| <input type="checkbox"/> Aspirinas u otro analgésico            | <input type="checkbox"/> Vitaminas               |
| <input type="checkbox"/> Medicamentos para la presión sanguínea | <input type="checkbox"/> Tranquilizantes         |
| <input type="checkbox"/> Cortisona – esteroides                 | <input type="checkbox"/> Marihuana o algún otro  |
| <input type="checkbox"/> Insulina, tolbutamida                  | <input type="checkbox"/> Medicamentos naturistas |
| <input type="checkbox"/> Derivados de digital                   | <input type="checkbox"/> Otros                   |

Ha bajado o subido de peso últimamente:       Si       No

Ha tenido reacción a la anestesia dental:       Si       No

Ha tenido reacción algún medicamento:       Si       No

Describa \_\_\_\_\_

¿Que acostumbra Ud. tomar para dolores de cabeza o algún otro dolor?

Marque en el recuadro a las siguientes enfermedades que padezca:

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Presión sanguínea alta | <input type="checkbox"/> Artritis (reuma o hinchazones en articulaciones) |
| <input type="checkbox"/> Presión sanguínea baja | <input type="checkbox"/> Osteoporosis                                     |
| <input type="checkbox"/> Problemas cardiacos    | <input type="checkbox"/> Gastritis  |
| <input type="checkbox"/> Arteriosclerosis       | <input type="checkbox"/> Ulcera gastrointestinal                          |
| <input type="checkbox"/> Diabetes               | <input type="checkbox"/> Hernia hiatal                                    |
| <input type="checkbox"/> Problemas del riñón    | <input type="checkbox"/> Reflujo esofágico                                |
| <input type="checkbox"/> Hepatitis              | <input type="checkbox"/> Alergias   |
| <input type="checkbox"/> VIH/SIDA               | <input type="checkbox"/> Problemas de tiroides                            |
| <input type="checkbox"/> Hepatitis              | <input type="checkbox"/> Alergias   |
| <input type="checkbox"/> VIH/SIDA               | <input type="checkbox"/> Problemas de tiroides                            |
| <input type="checkbox"/> Tuberculosis           | <input type="checkbox"/> Anemia   |
| <input type="checkbox"/> Tos persistente        |   |

**P.A: Primera Cita:** \_\_\_\_\_ **2ª Cita:** \_\_\_\_\_ **Otras:** \_\_\_\_\_

¿Ha tenido convulsiones o ataques?

¿Se ha encontrado alguna vez en un tratamiento psicológico o psiquiátrico?

- ¿Tiene tendencia a desmayarse?
- ¿Se cansa fácilmente al subir escaleras?
- ¿Ha tenido sangrado excesivo alguna vez?
- ¿Ha recibido transfusiones sanguíneas?
- ¿Ha recibido tratamiento de radiación o quimioterapia?
- ¿Fuma Ud.? \_\_\_\_\_ ¿Cuántos cigarrillos al día? \_\_\_\_\_ ¿Desde cuando? \_\_\_\_\_
- Toma Ud. bebidas alcohólicas \_\_\_\_\_ ¿con qué frecuencia? \_\_\_\_\_

Tiene algún dolor en su boca en este momento.  SI  NO  Lo desconozco

Donde \_\_\_\_\_

Ha recibido tratamiento en sus encías  SI  NO  Lo desconozco Cuando \_\_\_\_\_

Ha tenido sus encías inflamadas, o con postemillas:  SI  NO  Lo desconozco

Sangran sus encías:  SI  NO  Lo desconozco

Ha notado mal aliento y sabor en su boca:  SI  NO  Lo desconozco

Acostumbra a respirar frecuentemente por su boca:  SI  NO  Lo desconozco

Padece frecuentemente de aftas o ulceraciones en su boca  SI  NO  Lo desconozco

Tiene dientes sensibles al calor, frío o lo dulce:  SI  NO  Lo desconozco

¿Cual? \_\_\_\_\_

Tiene usted dientes flojos:  SI  NO  Lo desconozco

¿Cual? \_\_\_\_\_

Se le han separado sus dientes últimamente:  SI  NO  Lo desconozco

Ha tenido ortodoncia para enderezar sus dientes:  SI  NO  Lo desconozco

Le agrada a usted la apariencia de su boca:  SI  NO  Lo desconozco

Porque \_\_\_\_\_

Se le atorán los alimentos entre sus dientes:  SI  NO  Lo desconozco

Se ha sentido más tensionado últimamente:  SI  NO  Lo desconozco

Porque \_\_\_\_\_

Ha notado si con frecuencia aprieta, o rechinan sus dientes:  SI  NO  Lo desconoce

Mastica usted con todos sus dientes:  SI  NO  Lo desconozco

Porque \_\_\_\_\_

Tiene dientes que están más sensibles al morder o presionar:  SI  NO  Lo desconozco

Le afectaría a usted si tuviera que perder sus dientes  SI  NO  Lo desconozco

Cepilla sus dientes por lo menos dos veces al día.  SI  NO  Lo desconozco

Utiliza hilo dental, palillos dentales, irrigadores de agua  SI  NO  Lo desconozco

¿Cual? \_\_\_\_\_

Ha tenido usted malas experiencias con algún dentista:  SI  NO  Lo desconozco

Sabe usted SI forma sarro o placa dentobacteriana rápidamente,  SI  NO  Lo desconozco

Acostumbra usted a desayunar, comer y cenar:  SI  NO Cual no: \_\_\_\_\_

Esta o ha estado usted en alguna dieta:  SI  NO Motivo: \_\_\_\_\_

#### DAMAS SOLAMENTE

Esta usted embarazada:  SI  NO  Lo desconozco

Espera usted embarazarse pronto:  SI  NO

Esta usted amamantando:  SI  NO

Ha tenido algún aborto:  SI  NO

Ha tenido problemas con su período menstrual:  SI  NO

Esta usted o ha pasado su menopausia "cambio de vida":  SI  NO  Lo desconozco

Ha tenido histerectomía o alguna otra cirugía ginecológica:  SI  NO Cual: \_\_\_\_\_

Toma usted píldoras anticonceptivas u hormonas:  SI  NO



**Tiene usted alguna enfermedad, condición o problema que no esté en la lista y que crea usted que deberíamos conocer.**

Por favor descríballo:

---

---

---

---

---

Hasta donde yo conozco todas las preguntas anteriores las he contestado con la verdad y son ciertas. Si hay algún cambio me hago responsable de informar al Doctor.

---

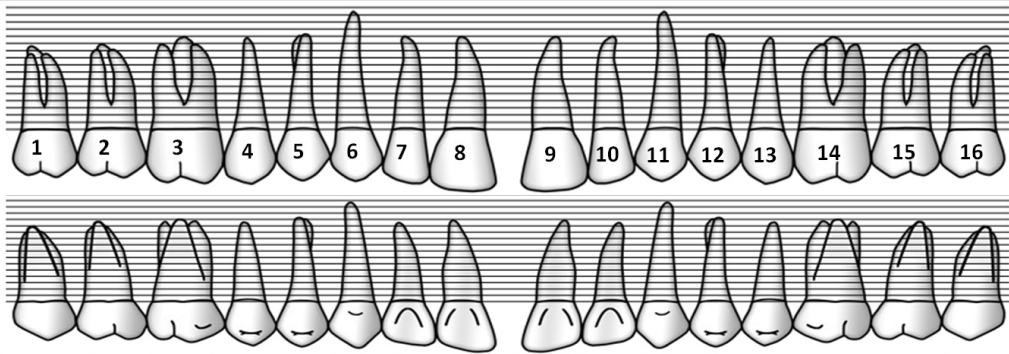
Nombre

Firma

Fecha: \_\_\_\_\_

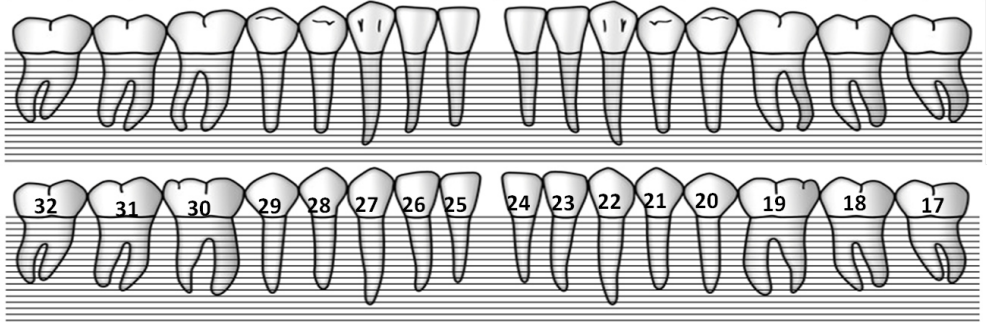
# PERIODONTOGRAMA

NI & Sangrado																			
PB & Placa																			
Movilidad																			
E. Queratinizada																			
UCE-MG																			
NI & Sangrado																			
PB & Placa																			
UCE-MG																			



UCE-MG																			
PB & Placa																			
NI & Sangrado																			
Movilidad																			
E. Queratinizada																			
UCE-MG																			
PB & Placa																			
NI & Sangrado																			

NI & Sangrado																			
PB & Placa																			
Movilidad																			
E. Queratinizada																			
UCE-MG																			
NI & Sangrado																			
PB & Placa																			
UCE-MG																			



UCE-MG																			
PB & Placa																			
NI & Sangrado																			
Movilidad																			
E. Queratinizada																			
UCE-MG																			
PB & Placa																			
NI & Sangrado																			

## EVALUACIÓN CLÍNICA

### ANÁLISIS FACIAL

Tipo de cara	Dolicocéfalo	Normocéfalo	Braquicéfalo
Perfil	Cóncavo	Normal	Convexo
Sonrisa	Baja	Normal	Alta

### EXAMEN ORAL

Dinámica dentomuscular	Débil	Normal	Fuerte
Tamaño lengua	Normal	Promedio	Grande
Estado general ATM	Asintomático	Incipiente	Disfunción
Forma de arco	Triangular	Ovoide	Cuadrado
Línea media	Normal	Desv. Der	Desv. Izq
Plano oclusal	Favorable	Adecuado	Inadecuado
Rehabilitación existente	Favorable	Adecuado	Inadecuado
Dientes pilares existentes	Favorable	Adecuado	Inadecuado

### HÁBITOS

Bruxismo	No	Ocasional	Frecuente
Apretamiento	No	Ocasional	Frecuente
Hábito de lengua	No	Si	
Hábitos orales	No	Si, describa:	

### ANÁLISIS DE OCLUSIÓN

Clasificación Angle: Derecha                      Izquierda	Tipo mordida anterior:
Overbite:	Overjet:
Facetas de desgaste:	Fremitus:

### CONTACTOS PREMATUROS

Oclusión	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
Céntrica	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
Lateralidad derecha	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
Lateralidad izquierda	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
Protrusión	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

## EVALUACIÓN RADIOGRÁFICA

### HALLAZGOS RADIOGRÁFICOS

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Reabsorción Horizontal	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

Reabsorción Vertical	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

Ensanchamiento Ligamento	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

### DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO

Factores etiológicos	
Primarios	
Secundarios	

Diagnóstico	
-------------	--

<b>Tipo de caso:</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>
----------------------	----------	-----------	------------	-----------

#### PRONÓSTICO

B: Bueno																
R: Regular																
P: Pobre																
MA: Malo Ahora	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
MF: Malo Futuro	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
?: Dudoso																

#### PRONÓSTICO GENERAL

## **PLAN DE TRATAMIENTO PERIODONTAL**

---

---

1. Fase sistémica

---

---

2. Fase higiénica

---

---

3. Fase correctiva planeada

**9.3 Hoja de captura de datos por grupos**

	Nombre	IMC
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
	Nombre	IMC
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
	Nombre	IMC
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
	Nombre	IMC
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		

#### 9.4 Hoja de captura de datos por grupos

##### HOJA DE CAPTURA DE DATOS POR GRUPOS

- Pacientes con obesidad y enfermedad periodontal

	<b>Paciente</b>	<b>MicroARN</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-6</b>
<b>1</b>				
2				
<b>3</b>				
4				
<b>5</b>				
6				
<b>7</b>				
8				
<b>9</b>				
<b>10</b>				

- Pacientes con obesidad y sin enfermedad periodontal

	<b>Paciente</b>	<b>MicroARN</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-6</b>
<b>1</b>				
2				
<b>3</b>				
4				
<b>5</b>				
6				
<b>7</b>				
8				
<b>9</b>				
<b>10</b>				

- Pacientes sin obesidad y con enfermedad periodontal

	<b>Paciente</b>	<b>MicroARN</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-6</b>
<b>1</b>				
<b>2</b>				
<b>3</b>				
<b>4</b>				
<b>5</b>				
<b>6</b>				
<b>7</b>				
<b>8</b>				
<b>9</b>				
<b>10</b>				

- Pacientes sin obesidad y sin enfermedad periodontal

	<b>Paciente</b>	<b>MicroARN</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-6</b>
<b>1</b>				
<b>2</b>				
<b>3</b>				
<b>4</b>				
<b>5</b>				
<b>6</b>				
<b>7</b>				
<b>8</b>				
<b>9</b>				
<b>10</b>				



## **RESUMEN BIOGRÁFICO**

Héctor Iram Rodríguez Guerra

Candidato para el Grado de

### **MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA ORAL**

**Tesis:** “LA OBESIDAD COMO POTENCIALIZADOR DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL UTILIZANDO COMO BASE LOS NIVELES DE EXPRESIONES DE MICRO RNA”

**Campo de Estudio:** Ciencias de la Salud

**Datos Personales:** Nacido en Monterrey, Nuevo León, México el día 14 de Marzo de 1987, hijo de Héctor Rodríguez Martínez y María Verónica Guerra Pompa.

**Educación:** Egresado de la Universidad de Monterrey (UDEM), obteniendo el grado de Médico Cirujano Dentista en 2013 con mención a la excelencia académica.

**Experiencia Profesional:** Práctica privada y actualmente residente de la Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Periodoncia con Implantología Oral de la Universidad Autónoma de Nuevo León.