



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**“Polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T de *IL-1B*
en enfermedad periodontal en población
guerrerense”**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

P R E S E N T A

C.D. Luis Ángel Damián Porfirio

DIRECTOR DE TESIS: DR. Marco Antonio Leyva Vázquez

CO-DIRECTOR: M.C. David Antonio Ávila Arizmendi



Chilpancingo, Gro., octubre de 2013



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

APROBACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 14 días del mes de junio de dos mil trece, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada "Polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T de *IL-1B* en enfermedad periodontal en población Guerrerense", presentada por el alumno Luis Ángel Damián Porfirio, para obtener el Grado de Maestría en Ciencias Biomédicas. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

El Comité Tutorial

Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez
Dirección de tesis

Dr. Adakatia Armenta Solís

Dr. Gloria Fernández Tilapa

Dr. Eugenia Flores Alfaro

Dr. Ricardo Mejía Zepeda

Vo. Bo

Dr. Isela Parra Rojas
Coordinadora del Posgrado en Ciencias
Biomédicas

Vo. Bo

Dr. Eugenia Flores Alfaro
Directora de la Unidad Académica de Ciencias
Químico Biológicas



Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biomedicina Molecular de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero en la ciudad de Chilpancingo, Gro. México.

Bajo la dirección de

Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez

Y la asesoría de

Dra. Gloria Fernández Tilapa

Dra. Eugenia Flores Alfaro

Dra. Adakatia Armenta Solís

Dr. Ricardo Mejía Zepeda

M.C. David A. Ávila Arizmendi

Con la colaboración de

Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Guerrero

“Cuerpo Académico de Biología Oral”

M.O. Guadalupe Margarita Espinosa Iturriaga

M.O. Xenia Teresa Cobos Cruz

C.D.P. Norma Samanta Romero Castro

C.M.F. Salvador Reyes Fernández

M.C. Guillermo Contreras Palma

Durante el periodo en que cursó la Maestría en Ciencias Biomédicas el C. Luis Ángel Damián Porfirio, recibió beca CONACYT. No. CVU: 416513

Agradecimientos

A mi familia:

*Sr. Paulo Damián Pimentel.
Sra. Francisca Porfirio Ruiz.*

Sabiendo que no habrá una forma de agradecer esta vida de lucha y sacrificio; ya que todo cuanto me han dado, constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

Por su puesto a mis hermanos: Juan Pablo y Oyuki, por formar parte de mis logros...

A mis maestros:

Al Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez por su fe y confianza en mí.

A mis asesores Dra. Eugenia Flores Alfaro, Dra. Gloria Fernández Tilapa, Dra. Adakatia Armenta Solís y Dr. Ricardo Mejía Zepeda, por su tiempo, observaciones y aportaciones para fortalecer este proyecto.

A mi amigo, maestro y colega M.C. David A. Ávila Arizmendi por tener siempre esas palabras de aliento y su empuje siempre a seguir adelante.

A la Dra. Isela Parra Rojas por sus consejos y orientación en esos momentos oportunos.

Un agradecimiento especial al Dr. Oscar del Moral Hernández, por sus asesorías y aportaciones en la parte experimental de este proyecto.

A mis compañeros de laboratorio y maestría:

Por haber compartido esta aventura juntos y por esos buenos momentos que pasamos.

A los maestros que integran el Cuerpo Académico de Biología Oral de la Unidad Académica de Odontología, por las facilidades en clínicas y su confianza en este proyecto.

Al personal del Laboratorio de Biomedicina Molecular de la UACQB; Q.B.P. Natividad Sales Linares, M.C. Alinne Rivas Alarcón y Q.B.P. Josué Feliciano, por las facilidades y apoyo para realizar este proyecto.

**“Polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T de *IL-1B*
en enfermedad periodontal en población
guerrerense”**

Índice

	Pág
1. RESUMEN.....	7
2. ABSTRACT.....	8
3. INTRODUCCIÓN.....	9
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
5. RESULTADOS.....	15
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	20
7. REFERENCIAS.....	24

RESUMEN

Introducción: Los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* están asociados con la inducción de inflamación y se han relacionado con el riesgo para desarrollar enfermedad periodontal. El objetivo de este trabajo fue evaluar si los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* están asociados con la enfermedad periodontal, así como los factores de riesgo en población guerrerense.

Material y métodos: Se estudiaron 150 personas con enfermedad periodontal y 150 controles originarios del estado de Guerrero, México. Se realizó una evaluación periodontal y a cada participante se le tomó una muestra de raspado bucal para la extracción de DNA. Para la genotipificación de los tres polimorfismos se utilizó la técnica por discriminación alélica con PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan.

Resultados: La edad (OR= 1.2 IC 95% 1.1-1.28 $p < 0.001$) y el consumo de tabaco (OR=14.1 IC 95% 3.5-58.1 $p < 0.001$) se mostraron asociados a la enfermedad periodontal. Los genotipos -511 TC (rs 16944) y -31 CT (rs 1143627) fueron los más frecuentes en personas sanas (51.3% y 52%) y con enfermedad periodontal (44% y 43.3%), así como el genotipo +3954 CC (rs 1143634) en personas sanas y enfermas (85.5% y 88%). Los portadores del genotipo +3954 CT (OR=0.3 IC 95% 0.08-1.18 $p = 0.026$) presentaron menor riesgo para la enfermedad periodontal en comparación con los portadores del genotipo CC. **Conclusiones:** El género femenino, la edad, la presencia de enfermedades como la hipertensión, obesidad y diabetes, así como el consumo de alcohol y tabaco son factores de riesgo que predisponen al desarrollo de la enfermedad periodontal. Los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* no son un factor de riesgo para la enfermedad periodontal en esta población del estado de Guerrero, México.

Palabras clave: Enfermedad periodontal, Interleucina 1 β , polimorfismo, inflamación, genotipo.

ABSTRACT

Introduction: The polymorphisms -511 T/C, -31 C/T and +3954 C/T of *IL-1B* gene are associated with the induction of inflammation and have been associated with the risk for developing periodontal disease. The aim of this work was to evaluate whether polymorphisms -511 T/C, -31 C/T and +3954 C/T gene of *IL-1B* are associated with periodontal disease, as well as risk factors in people connecting. **Material and methods:** We studied 150 people with periodontal disease and 150 controls originating in the state of Guerrero, Mexico. An evaluation was conducted and periodontal to each participant took a sample of oral scraping for the extraction of DNA. The genotyping of the three polymorphisms was used the technique by allelic discrimination with real-time PCR using TaqMan probes. **Results:** The age (OR=1.2 95% CI 1.1-1.28 p= <0.001) and the tobacco consumption (OR=14.1 95% CI 3.5-58.1 p= <0.001) were associated with periodontal disease. The genotypes -511 TC (rs 16944) and -31 CT (rs 1143627) were the most frequent in healthy persons (51.3% and 52%) and with periodontal disease (44% and 43.3%), as well as the genotype +3954 CC (rs 1143634) in healthy people and sick (85.5% and 88%). The bearers of the +3954 CT genotype (OR=0.3 95% CI 0.08-1.18 p=0.026) had lower risk for periodontal disease compared with those with genotype CC. **Conclusions:** The feminine gender, age, presence of diseases such as hypertension, obesity and diabetes, as well as the consumption of alcohol and tobacco are risk factors that predispose to the development of periodontal disease. The polymorphisms -511 T/C, -31 C/T and +3954 C/T gene of *IL-1B* are not a risk factor for periodontal disease in this population of the state of Guerrero, Mexico.

Key Words: periodontal disease, interleukin-1 β , polymorphism, inflammation, genotype.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal se define como la pérdida de unión del tejido conectivo de su inserción al hueso alrededor del diente, así como por la formación de bolsas periodontales debido a la migración apical del epitelio de unión (Ozmeric, 2004). Clínicamente, la enfermedad periodontal se caracteriza por cambios en el color, contorno y consistencia de la encía, así como la hemorragia al sondeo periodontal (Armitage, 2004, Newman *et al.*, 2004).

La inadecuada higiene bucal y la acumulación de placa dentobacteriana, los cambios hormonales (niñas/mujeres), el estrés y los factores genéticos, así como algunos medicamentos antidepresivos ó indicados para el corazón, son factores riesgo para la enfermedad periodontal (SSA, 2010). Un mal control glicémico en la diabetes, así como niveles elevados de adipocitocinas en la obesidad, se han asociado fuertemente con el riesgo para desarrollar enfermedad periodontal (Preshaw *et al.*, 2012, Gómez *et al.*, 2009). El incremento de citocinas proinflamatorias como la IL-1 β , IL-6 y TNF- α , en la obesidad o en respuesta a los patógenos periodontales, aceleran la progresión de la placa aterosclerótica e incrementan el riesgo de eventos cardiovasculares (Weidlich *et al.*, 2008). Los irritantes locales en boca debido al consumo de tabaco y alcohol, condicionan la acumulación bacteriana favoreciendo la recesión gingival, la profundidad de bolsas periodontales y la movilidad dental (Cesar Neto *et al.*, 2008). Por otra parte, la presencia de metaloproteinasas (MMP), especialmente la MMP-2, MMP-8 y MMP-9, se han asociado a la degradación de la matriz de colágeno durante la progresión de la enfermedad periodontal (Rai *et al.*, 2008).

Se han aislado numerosas especies bacterianas Gram negativas de la placa subgingival asociadas a la enfermedad periodontal como la *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Treponema denticola* (Teles *et al.*, 2010). Estudios *in vitro* han mostrado que la presencia de lipopolisacárido como endotoxinas presentes en bacterias Gram negativas, inducen la secreción de IL-1 β por parte de los macrófagos y monocitos, a través de la

participación de los receptores TLR4 (receptor Toll-like 4) (Basak *et al.*, 2005, Hans y Hans, 2011). La IL-1 β como citocina de la respuesta inmune innata, es responsable de la expresión de otras citocinas pro-inflamatorias como la IL-6, IL-8 y TNF- α , así como la traslocación de factores transcripcionales al núcleo, particularmente NF-kB y AP-1 (Boch *et al.*, 2001). Con el inicio de la respuesta inmune adaptativa en la enfermedad periodontal, se induce la activación de linfocitos T CD4, proliferación de linfocitos B y la síntesis de anticuerpos como la IgG, IgM, IgA. Por otra parte, la expresión de la cicloxigenasa tipo 2 (COX2), la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la fosfolipasa A tipo 2 (PLA2) por parte de fibroblastos gingivales y periodontales, favorecen la resorción de hueso en estadios avanzados de la enfermedad periodontal (Okada and Murakami, 1998).

El gen de *IL-1B* se localiza en el cromosoma 2 (2q14), tiene un tamaño de 17.5 Kb y está compuesto por siete exones; posee varios polimorfismos bialélicos de un solo nucleótido (SNP's) los cuales incrementan la magnitud de la inflamación; entre ellos, el polimorfismo -511 T/C (rs16944) ubicado en la región promotora del gen cerca de una región "enhancer" y el polimorfismo -31 C/T (rs 1143627) localizado en la caja TATA del gen, donde ambos se han asociado con un incremento de la actividad transcripcional y aumento en la producción de IL-1 β (Kim *et al.*, 2008, Pérez-Pérez *et al.*, 2005). Además del polimorfismo +3954 C/T (rs 1143634) localizado en el exón 5, el cual favorece la traducción y producción de IL-1 β , debido a un cambio en el marco de lectura para el triplete que codifica para la fenilalanina (TTC/TTT), por lo cual se genera una mutación silenciosa en la posición 105 de la proteína (Fiebig *et al.*, 2008).

En la última década varios estudios realizados en su mayoría en poblaciones caucásicas y asiáticas, han asociado a los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* con la susceptibilidad de padecer enfermedad periodontal (Kornman *et al.*, 1997, Armitage *et al.*, 2000, Wagner *et al.*, 2007, Kobayashi *et al.*, 2009). En México sólo se han reportando las frecuencias y los genotipos para el polimorfismo +3954 C/T del gen *IL-1B* en pacientes con enfermedad periodontal (Caffesse *et al.*, 2002a). Los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen

IL-1B se han relacionado con la inducción de inflamación, contribuyendo así con el riesgo para desarrollar enfermedad periodontal, debido a esto es importante conocer cómo se encuentran las frecuencias genotípicas y alélicas de estos polimorfismos en el gen *IL-1B* y reconocer la susceptibilidad genética en esta población mexicana. El objetivo de este trabajo fue evaluar si los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* están asociados con la enfermedad periodontal, así como los factores de riesgo en población guerrerense.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población: Se estudiaron a 150 personas con enfermedad periodontal y 150 controles que acudieron para atención dental a las clínicas de la Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Guerrero; entre el periodo de abril 2012-febrero 2013. Se incluyeron a hombres y mujeres nacidos y radicados en el estado de Guerrero, México, mayores de 18 años, con ancestría de al menos dos generaciones en el estado de Guerrero (abuelos y padres), y no relacionados genéticamente. Se excluyeron a mujeres embarazadas, personas con capacidades diferentes (con algún síndrome) o inmunosuprimidos sistémicamente (VIH, tuberculosis, cáncer, bajo quimioterapia) así como personas con anodoncia total y bajo tratamiento de ortodóntico. Se cumplió con lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, basado en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento informado.

Valoración periodontal: Cada participante fue evaluado clínicamente de acuerdo al índice comunitario de necesidades de tratamiento periodontal (ICNTP) desarrollado por la OMS (Cutress *et al.*, 1987), tomando en cuenta los siguientes criterios: sangrado al sondeo periodontal, presencia de tártaro, bolsas periodontales de 4-5 mm y bolsas periodontales de ≥ 6 mm, para lo cual se utilizó una sonda periodontal milimetrada (*Hu-Friedy, Chicago, IL, USA*). Fueron diagnosticados con enfermedad periodontal los participantes que presentaron bolsas periodontales ≥ 4 mm y pérdida ósea $\geq 20\%$ evaluada radiográficamente.

Obtención de las muestras: A todos los participantes se les tomó una muestra de raspado bucal con un cepillo para posteriormente introducir las en un tubo Eppendorf con 750 μ L de solución de extracción (Tris 10mM pH 8.0, EDTA 20 mM pH 8.0, SDS 0.5%). Las muestras se conservaron a -20°C hasta que fueron procesadas.

Extracción del DNA: Todas las muestras se digirieron con 3.8 μ L de proteinasa K (20 mg/mL), las reacciones se incubaron por 20 minutos a 65 °C y se extrajo el DNA total agregando 250 μ L de *fenol-cloroformo-alcohol isoamílico*. La cuantificación del DNA obtenido se realizó por espectrofotometría a 260 nm.

Genotipificación de los polimorfismos - 511 T/C, - 31 C/T, +3954 C/T en el gen IL-1B: La identificación de los genotipos para los tres polimorfismos se realizó por discriminación alélica por PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). Cada reacción de PCR se realizó en un volumen final de 10 μ L que contenían 2.5 μ L de DNA (20 ng/ μ L), 5 μ L a 2x Master Mix Universal para PCR, 0.25 μ L a 40x Sonda TaqMan/Primer y 2.25 μ L de H₂O. El programa de PCR fue el siguiente: 95°C durante 10 min, seguido por 40 ciclos de 15 s en 92°C, y 1 min a 60°C. Las fluorescencias alélicas específicas de los datos de cada placa se analizaron utilizando el software 7500 v.2.0.6 PCR en tiempo real (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*). El 10% de las muestras para cada polimorfismo fueron genotipificadas por segunda vez como control de calidad.

De las 300 muestras procesadas para el polimorfismo -31 C/T, al 10% se les aplicó una PCR-RFLP para la verificación de los genotipos. Se utilizaron 100 ng (5 μ L) de DNA genómico para amplificar un fragmento de 237 pb de la región que incluía el sitio polimórfico. Se utilizaron los oligonucleótidos F: 5'-CCACCAA TACTCTTTTTCCCCTTTCC-3' y R: 5'-GATTGGCTGAAGAGAATCCCAGAGC-3'. Las reacciones se realizaron en un volumen final de 25 μ L que contenían 2 mM de MgCl₂, 0.1 mM de dNTP's, 10 pmol de cada oligonucleótido y 1 U de Taq DNA polimerasa *Platinum® (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)*. Las condiciones de PCR fueron: 95 °C por 5 min, así como 35 ciclos a 95 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 30 s y un ciclo de extensión final a 72°C por 5 min. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio. Las reacciones de restricción se llevaron a cabo durante 3 h a 37 °C utilizando 1 U de la enzima *ALU1 (Invitrogen, San Diego, CA, USA)*, que reconoce la secuencia 5'AG↓CT 3'. Se generó un fragmento sin corte de 232 pb para el genotipo CC, así como

dos fragmentos de 135 pb y 97 pb para el genotipo TT, y tres fragmentos de 232 pb, 135 pb y 97 pb para el genotipo CT. Los productos fueron visualizados en geles de agarosa al 3% y teñidos con bromuro de etidio. Todas las PCRs se realizaron en un termociclador de gradientes (*Mastercycler Ep gradient Eppendorf, Alemania*).

Análisis estadístico: Se utilizó la prueba de X^2 para comparar las frecuencias absolutas y relativas entre los grupos, así como las frecuencias genotípicas de los polimorfismos del gen *IL-1B*. Se evaluó la distribución alélica para cada polimorfismo por la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE). Para la comparación de las medianas entre los grupos se utilizó la prueba de Man-Whitney. Para determinar la asociación de los polimorfismos del gen *IL-1B* con la enfermedad periodontal, y con los factores de riesgo, se evaluaron modelos de regresión logística (OR). Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATA v.11.1 (*College Station, Texas, USA*).

Resultados

Características sociodemográficas y clínicas de la población

La enfermedad periodontal fue más frecuente en el rango de edad de 51 a 78 años. El 60% de los afectados por la enfermedad periodontal fueron mujeres y el 40% fueron hombres. En los casos, el 53.3% presentaron sobrepeso y el 8.6% obesidad, así como el 26% refirieron consumir alcohol y el 30.6% ser fumadores, frecuencias significativamente diferentes en comparación con los controles (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características sociodemográficas y clínicas en casos y controles.

Características	Total (n=300)	Controles (n=150)	Casos (n=150)	Valor p
Edad (años)	39 (27-51)	27 (23-35)	50 (44-57)	<0.001 [®]
18-30	96 (32)	89 (59.3)	7 (4.6)	<0.001 ^Ω
31-40	66 (22)	47 (31.3)	19 (12.6)	
41-50	61 (20.3)	11 (7.3)	50 (33.3)	
51-78	77 (25.6)	3 (2)	74 (49.3)	
Género				0.01 ^Ω
Femenino	201 (67)	111 (74)	90 (60)	
Masculino	99 (33)	39 (26)	60 (40)	
IMC (Kg/m²)				<0.001 ^Ω
Normal	150 (50)	93 (62)	57 (38)	
Sobrepeso	131 (43.6)	51 (34)	80 (53.3)	
Obesidad	19 (6.3)	6 (4)	13 (8.6)	
Nivel de escolaridad				<0.001 ^Ω
Sin estudios	16 (5.3)	1 (0.6)	15 (10)	
Primaria	80 (26.6)	28 (18.6)	52 (34.6)	
Secundaria	56 (18.6)	27 (18)	29 (19.3)	
Preparatoria	97 (32.3)	70 (46.6)	27 (18)	
Licenciatura y más	51 (17)	24 (16)	27 (18)	
Diabetes				<0.001 ^Ω
Si	19 (6.3)	1 (0.6)	18 (12)	
No	281 (93.6)	149 (99.3)	132 (88)	
Hipertensión				<0.001 ^Ω
Si	51 (17)	8 (5.3)	43 (28.6)	
No	49 (83)	142 (94.6)	107 (71.3)	
Consumo de alcohol				<0.001 ^Ω
Si	42 (14)	3 (2)	39 (26)	
No	258 (86)	147 (98)	111 (74)	
Consumo de tabaco				<0.001 ^Ω
Si	51 (17)	5 (3.3)	46 (30.6)	
No	249 (83)	145 (96.6)	104 (69.3)	

Se muestran n (%), mediana y percentiles (25-75). IMC (índice de masa corporal). El valor p fue calculado por [®] Prueba de Man-Whitney, ^Ω Prueba de X².

Factores de riesgo asociados a la enfermedad periodontal

Se encontró una asociación significativa entre la enfermedad periodontal con la edad y la hipertensión, además el riesgo de tener enfermedad periodontal fue significativamente mayor en los sujetos que consumen tabaco, esto por un modelo ajustado por edad, género, escolaridad, índice de masa corporal, diabetes, consumo de alcohol y tabaco (Cuadro 2).

Cuadro 2. Asociación de factores de riesgo con la enfermedad periodontal.

Características	Controles (n=150)	Casos (n=150)	OR [®] IC 95 % Valor p	OR [®] IC 95% Valor p
Edad	27 (23-35)	50 (44-57)	1.2 (1.1-1.28) p=<0.001	1.2 (1.1-1.28) p=<0.001
Género				
Masculino	39 (26)	60 (40)	1.0*	1.0*
Femenino	111 (74)	90 (60)	1.8 (1.1-3.0) p=0.01	1.1 (0.4-3.7) p=0.742
IMC (Kg/m²)				
Peso normal	93 (62)	57 (38)	1.0*	1.0*
Sobrepeso	51 (34)	80 (53.3)	2.5 (1.5-4.1) p=<0.001	2.0 (0.8-4.9) p=0.124
Obesidad	6 (4)	13 (8.6)	3.5 (1.2-9.8) p=0.015	1.8 (0.4-7.5) p=0.418
Diabetes				
No	149 (99.3)	132 (88)	1.0*	1.0*
Si	1 (0.6)	18 (12)	20.3 (2.6-154.2) p=0.004	6.2 (0.3-100.0) p=0.193
Hipertensión				
No	142 (94.6)	107 (71.3)	1.0*	1.0*
Si	8 (5.3)	43 (28.6)	7.1 (3.2-15.8) p=<0.001	3.9 (1.1-13.9) p=0.031
Consumo de alcohol				
No	147 (98)	111 (74)	1.0*	1.0*
Si	3 (2)	39 (26)	17.2 (5.1-57.1) p=<0.001	4.1 (0.6-25.8) p=0.128
Consumo de tabaco				
No	145 (96.6)	104 (69.3)	1.0*	1.0*
Si	5 (3.3)	46 (30.6)	12.8 (4.9-33.3) p=<0.001	14.1 (3.4-58.1) p=<0.001

* Categoría de referencia.

® OR crudo.

® OR ajustado por edad, género, escolaridad, índice de masa corporal, diabetes, consumo de alcohol y tabaco, excepto la variable de exposición.

Relación de los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T de IL-1B con la enfermedad periodontal

Las frecuencias genotípicas para los tres polimorfismos en el grupo control se encontraron en equilibrio génico de acuerdo al principio de Hardy-Weinberg. El genotipo TC del polimorfismo -511 T/C (rs16944) fue el más frecuente en los

controles (51.3%), como en los casos (44.6%). El alelo T fue el más frecuente en ambos grupos (61.3%). Con respecto al polimorfismo -31 C/T (rs1143627), el genotipo CT fue el más frecuente tanto en los casos (43.3%) como en los controles (52%), y el alelo C fue de mayor frecuencia para ambos grupos (59%). Para el polimorfismo +3954 C/T (rs1143634), el genotipo más frecuente fue el CC, tanto para casos (88%) como para los controles (85.3%), y el alelo de mayor frecuencia fue el C (93%). (Cuadro 3).

Cuadro 3. Distribución de frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos de IL-1B en casos y controles.

	Total (n=300)	Controles (n=150)	Casos (n=150)	Valor p
-511 T/C				
Genotipos				
T/T	112 (37.3)	53 (35.3)	59 (39.3)	0.502
T/C	144 (48)	77 (51.3)	67 (44.6)	
C/C	44 (14.6)	20 (13.3)	24 (16)	
Alelos				
T	368 (61.3)	183 (61)	185 (62)	0.467
C	232 (38.6)	117 (39)	115 (38)	
rs16944	X ² =0.933	p=0.334 (E.H.W.)		
-31 C/T				
Genotipos				
C/C	107 (35.6)	51 (34)	56 (37.3)	0.260
C/T	143 (47.6)	78 (52)	65 (43.3)	
T/T	50 (16.6)	21 (14)	29 (19.3)	
Alelos				
C	357 (59)	180 (60)	177 (59)	0.434
T	243 (41)	120 (40)	123 (41)	
rs1143627	X ² =1.042	p=0.307 (E.H.W.)		
+3954 C/T				
Genotipos				
C/C	260 (86.6)	128 (85.3)	132 (88)	0.222
C/T	38 (12.6)	22 (14.6)	16 (10.6)	
T/T	2 (0.6)	0 (0)	2 (1.3)	
Alelos				
C	558 (93)	278 (92.6)	280 (93.3)	0.437
T	42 (7)	22 (7.3)	20 (6.6)	
rs1143634	X ² =0.939	p=0.332 (E.H.W.)		

Se muestran n (%). El valor de p fue calculado por prueba de X²

Los genotipos obtenidos para el polimorfismo -31 C/T por PCR en tiempo real fueron concordantes con el 10% de los genotipos obtenidos por PCR-RFLP (Figura 1 y 2).

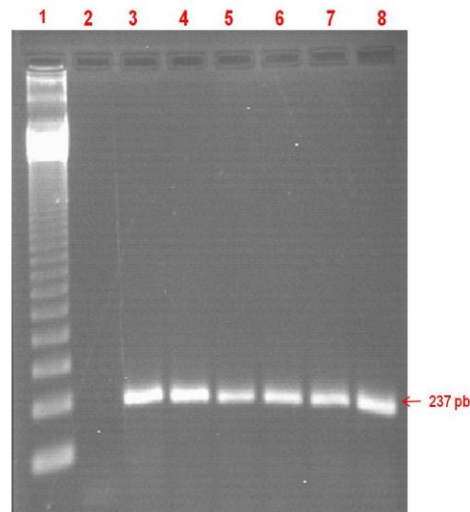


Figura 1. Fragmento de 237 pb de la región -31 del gen *IL-1B*.

Carril 1: Marcador de peso molecular 123 pb, carril 2: control negativo, carril 3-8: muestras positivas a la amplificación de la región -31 del gen *IL-1B*. Gel de agarosa al 2%.

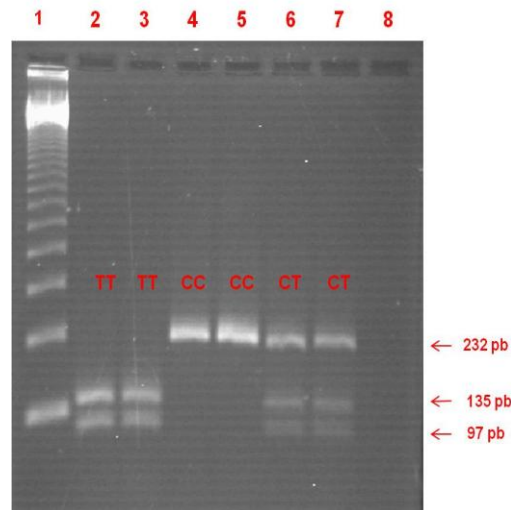


Figura 2. Patrón de restricción para la tipificación del polimorfismo -31 C/T del gen *IL-1B*.

Carril 1: Marcador de peso molecular 123 pb, carril 2-3: muestras de genotipos TT, Carril 4-5: muestras de genotipo CC, carril 6-7: muestras de genotipo CT, carril 8: control negativo. Gel de agarosa al 3%.

No se encontró asociación entre los polimorfismos -511 T/C y -31 C/T con la enfermedad periodontal. Los portadores del genotipo +3954 CT por un modelo de herencia codominante ajustado por edad, género, escolaridad, índice de masa corporal, diabetes, consumo de alcohol y tabaco, presentaron menor riesgo para desarrollar enfermedad periodontal en comparación con los portadores del genotipo CC (OR=0.3 IC 95% 0.08-1.18 p= 0.026) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Asociación de polimorfismos de *IL-1B* con la enfermedad periodontal.

Genotipos	Controles (n=150)	Casos (n=150)	OR [®] (IC 95%) valor p	OR [®] (IC 95%) valor p
-511 T/C				
T/T	53 (35.3)	59 (39.3)	1.0*	1.0*
T/C	77 (51.3)	67 (44.6)	0.7(0.4-1.2)p=0.329	0.9(0.3-2.3)p=0.934
C/C	20 (13.3)	24 (16)	1.0(0.5-2.1)p=0.833	1.2(0.3-4.1)p=0.707
-31 C/T				
C/C	51 (34)	56 (37.3)	1.0*	1.0*
C/T	78 (52)	65 (43.3)	0.7(0.4-1.2)p=0.282	0.8(0.3-2.1)p=0.770
T/T	21 (14)	29 (19.3)	1.2(0.6-2.4)p=0.507	1.2(0.4-3.9)p=0.672
+3954 C/T				
C/C	128 (85.3)	132 (88)	1.0*	1.0*
C/T	22 (14.6)	16 (10.6)	0.7(1.3-1.4)p=0.320	0.3(0.08-1.18)p=0.026
T/T	0 (0)	2 (1.3)	DI	DI

* Categoría de referencia.

® OR crudo.

® OR ajustado por edad, género, escolaridad, índice de masa corporal, diabetes, consumo de alcohol y tabaco.

DI: datos insuficientes.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los factores ambientales, hábitos higiénicos, dietéticos y la predisposición genética hacen a la enfermedad periodontal un padecimiento multifactorial. En los casos se encontró mayor frecuencia de mujeres afectadas por la enfermedad periodontal. La presencia de estrógenos y progesterona favorecen la permeabilidad de los capilares gingivales y la susceptibilidad a magnificar respuestas inflamatorias (López-Marcos *et al.*, 2005). Por otra parte, con el aumento de la edad la enfermedad periodontal suele manifestarse en forma crónica y agresiva, representando un importante factor de riesgo para la pérdida prematura de los órganos dentarios en la tercera edad. Nuestros resultados son similares a lo reportado por la Secretaría de Salud en el 2008 con respecto a la salud bucal en México, donde el 62% de las mujeres presentaron enfermedad periodontal en comparación con el 38% de los hombres, en un rango de edad de 25 a 44 años (SSA, 2008).

Un estudio realizado en población del norte de México reporta que el 55% de las mujeres presentaron enfermedad periodontal en comparación con el 45% de los hombres, con un predominio de pacientes mayores de 40 años de edad. En nuestro estudio, el 12% de los participantes con enfermedad periodontal fueron diabéticos a diferencia de población del norte de México donde se reportan un 5.4% (Pérez-Orta *et al.*, 2011). Un estudio en población caucásica reportó que de 100 pacientes diabéticos el 66% presentó enfermedad periodontal (Guzmán *et al.*, 2003). En una población latina más del 70% de los pacientes diabéticos presentaron enfermedad periodontal y gingivitis (Ochoa *et al.*, 2012). La presencia de enfermedades sistémicas como la diabetes, favorecen el engrosamiento de la membrana basal de los capilares gingivales, afectando la difusión del oxígeno, la migración del neutrófilo y de anticuerpos (Dave S. *et al.*, 2004).

En México, 7 de cada 10 adultos mayores de 20 años presentan sobrepeso y obesidad (ENSANUT, 2012). Nuestros resultados muestran una mayor frecuencia de sobrepeso y obesidad en participantes con enfermedad periodontal. La secreción de citocinas proinflamatorias como la IL-6 y TNF- α por parte del tejido adiposo,

predisponen a una afección inflamatoria sistémica, dislipidemias y resistencia a la insulina (Jagannathachary y Kamaraj, 2010). Por otra parte, en nuestro estudio el 28.6% de los participantes con enfermedad periodontal presentan hipertensión arterial. Algunos medicamentos antihipertensivos como el captopril, timolol, nadolol, entre otros, muestran reacciones secundarias como la hiposalivación, lo cual favorece la acumulación de placa dentobacteriana y disminuyen la IgA en saliva (Castellanos-Suaréz *et al.*, 2002). En nuestro estudio, el consumo de tabaco y alcohol se asociaron fuertemente con la enfermedad periodontal. Resultados semejantes se reportan en poblaciones asiáticas, donde el consumo de tabaco (OR=2.10 IC 95% 1.58-2.68 $p<0.001$) y alcohol (OR=3.01 IC 95% 1.73-5.26 $p=0.029$) se encontraron como factores de riesgo para la enfermedad periodontal (Mohamed y Janakiram, 2013, Wu *et al.*, 2013). Las sustancias químicas en el humo del tabaco como monóxido de carbono, amoníaco, metanol, aldehídos, acetonas, entre otros, además de los metabolitos del alcohol conducen a una disfunción endotelial, inflamación vascular y estrés oxidativo mediado por la presencia de citocinas proinflamatorias (Páramo *et al.*, 2008, Dantas *et al.*, 2012).

Este es el primer estudio que examina la relación de los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T en mexicanos con enfermedad periodontal. En nuestro estudio se encontró una alta frecuencia de los genotipos -511 TC (48%), -31 CT (47.6%) y +3954 CC (86.6%) para ambos grupos. Nuestros resultados son similares a los reportados en una población en el sur de la India para los tres polimorfismos (Shete *et al.*, 2010). Un estudio realizado en población brasileña en pacientes con periodontitis severa y moderada, reporta que los genotipos más frecuentes fueron el -511 TC (42% y 58%), así como el genotipo +3954 CC (77.5% y 71%) para ambos grupos (Trevilatto *et al.*, 2011). Nuestros resultados muestran para el polimorfismo -511 T/C que el genotipo más frecuente es el TC, seguido por el TT y CC; en contraste a lo reportado en una población caucásica, donde los genotipos más frecuentes fueron el CC (48.7%), TC (41.5%) y TT (9.6%), así como en una población asiática que reporta los genotipos TT (49.5%), TC (40%) y CC (10.5%) (Brett *et al.*, 2005, Loo *et al.*, 2012). Respecto al polimorfismo -31 C/T el genotipo

más frecuente es el CT, seguido por el CC y TT. Estos últimos resultados son similares a los reportados para la población en el sur de México, donde se reporta para el polimorfismo -31 C/T frecuencias del 40.4% (CC), 47.8% (CT) y 11.7% (TT), y para el polimorfismo -511 T/C frecuencias del 40.8% (TT), 48.6% (TC) y 10.4% (CC) (Martínez-Carrillo *et al.*, 2010).

Para el polimorfismo +3954 C/T encontramos que el genotipo más frecuente es el CC, seguido por el CT y TT. Resultados similares son reportados en poblaciones caucásicas, asiáticas y áfrico-americanas (Anusaksathien *et al.*, 2003, Guzeldemir *et al.*, 2008, Walker *et al.*, 2000, Drozdik *et al.*, 2006). Para el polimorfismo +3954 C/T, se reporta en población del norte de México frecuencias del 74% (CC), 24% (CT) y 2% (TT) (Caffesse *et al.*, 2002b). Un estudio realizado en población chilena para el polimorfismo +3954 C/T, mostró una asociación entre la enfermedad periodontal con el genotipo +3954 CT (OR=2.86 IC 95% 1.06-7.71 p=0.030) (Quappe *et al.*, 2004). Para este mismo polimorfismo en población chilena, se reporta al genotipo +3954 CT como un factor de riesgo (OR=3.12 IC 95% 1.59-6.09 p=0.001) y al genotipo +3954 CC como un factor protector (OR=0.35 IC 95% 0.19-0.66 p=0.001) para la enfermedad periodontal (López *et al.*, 2005). Resultados distintos a los nuestros donde el genotipo +3954 CT se comportó como un factor protector para la enfermedad periodontal. No se encontró asociación de los polimorfismos con la enfermedad periodontal para esta población en el sur de México. Un estudio realizado por el Instituto Nacional de Medicina Genómica reporta que poblaciones del norte del país, muestran una mayor diversidad genética, comparado con estados del sur de México. En el estado de Guerrero, se presenta una mayor frecuencia de población amerindia, caucásica, afroestizos y una baja proporción de asiático-oriental (Silva-Zolezzi *et al.*, 2009).

Nuestros resultados muestran que los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* de forma independiente no son un factor de predisposición genética para el desarrollo de enfermedad periodontal. Se sugiere realizar estudios posteriores aumentando el tamaño de la población. Es posible que otros

polimorfismos localizados en otros *loci* puedan tener un efecto genético sobre la enfermedad periodontal. Los resultados varían de una población a otra de acuerdo a la carga genética. Algunos estudios asocian a los polimorfismos +3954 C/T de *IL-1B* y -889 C/T, además del polimorfismo +4845 G/T de *IL-1A* con la enfermedad periodontal. Otros estudios reportan a los polimorfismos -308 G/A y -238 G/A de *TNF- α* , -33 C/T y -590 C/T de *IL4*, -174 G/C y -572 C/G de *IL6*, -1087 A/G de *IL10* y Asp299Gly de *TLR4* con la susceptibilidad para la enfermedad periodontal (Chen *et al.*, 2006, Muller y Barrieshi-Nusair, 2007, Thomson *et al.*, 2001, Laine *et al.*, 2010).

En conclusión, las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos -511 T/C, -31 C/T y +3954 C/T del gen *IL-1B* son similares a las reportadas en otras regiones de México. Estos polimorfismos no son un factor de riesgo para la enfermedad periodontal en esta población del estado de Guerrero, México. El género femenino, la edad, la presencia de enfermedades como la hipertensión, obesidad y diabetes, así como el consumo de alcohol y tabaco son factores de riesgo que predisponen al desarrollo de la enfermedad periodontal.

REFERENCIAS

- ANUSAKSATHIEN, O., SUKBOON, A., SITTHIPHONG, P. & TEANPAISAN, R. (2003) Distribution of interleukin-1beta(+3954) and IL-1alpha(-889) genetic variations in a Thai population group. *J Periodontol*, 74, 1796-802.
- ARMITAGE, G. C. (2004) Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontol 2000*, 34, 9-21.
- ARMITAGE, G. C., WU, Y., WANG, H. Y., SORRELL, J., DI GIOVINE, F. S. & DUFF, G. W. (2000) Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol*, 71, 164-71.
- BASAK, C., PATHAK, S. K., BHATTACHARYYA, A., MANDAL, D., PATHAK, S. & KUNDU, M. (2005) NF-kappaB- and C/EBPbeta-driven interleukin-1beta gene expression and PAK1-mediated caspase-1 activation play essential roles in interleukin-1beta release from Helicobacter pylori lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *J Biol Chem*, 280, 4279-88.
- BOCH, J. A., WARA-ASWAPATI, N. & AURON, P. E. (2001) Interleukin 1 signal transduction-current concepts and relevance to periodontitis. *J Dent Res*, 80, 400-7.
- BRETT, P. M., ZYGOGIANNI, P., GRIFFITHS, G. S., TOMAZ, M., PARKAR, M., D'AIUTO, F. & TONETTI, M. (2005) Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis. *J Dent Res*, 84, 1149-53.
- CAFFESSE, R. G., DE LA ROSA, R. M., DE LA ROSA, G. M. & WELTMAN, R. (2002a) Effect of interleukin-1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery. *J Clin Periodontol*, 29, 177-81.
- CAFFESSE, R. G., DE LAROSA, M. R., DE LAROSA, M. G. & MOTA, L. F. (2002b) Prevalence of interleukin 1 periodontal genotype in a Hispanic dental population. *Quintessence Int*, 33, 190-4.
- CASTELLANOS-SUARÉZ, J., DÍAZ-GUZMÁN, L. & GAY-ZARATE, O. (2002) Medicina en Odontología. Manejo dental de pacientes con enfermedades sistémicas. *Editorial Manuel Moderno*, México 2 Ed., p. 1-10.
- CESAR NETO, J. B., ROSA, E. F., PANNUTI, C. M. & ROMITO, G. A. (2008) Smoking and periodontal tissues: a review. *Braz Oral Res*, 26 Suppl 1, 25-31.
- CUTRESS, T. W., AINAMO, J. & SARDO-INFIRRI, J. (1987) The community periodontal index of treatment needs (CPITN) procedure for population groups and individuals. *Int Dent J*, 37, 222-33.
- CHEN, H., WILKINS, L. M., AZIZ, N., CANNINGS, C., WYLLIE, D. H., BINGLE, C., ROGUS, J., BECK, J. D., OFFENBACHER, S., CORK, M. J., RAFIE-KOLPIN, M., HSIEH, C. M., KORNMAN, K. S. & DUFF, G. W. (2006) Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*, 15, 519-29.

- DANTAS, A. M., MOHN, C. E., BURDET, B., ZORRILLA ZUBILETE, M., MANDALUNIS, P. M., ELVERDIN, J. C. & FERNANDEZ-SOLARI, J. (2012) Ethanol consumption enhances periodontal inflammatory markers in rats. *Arch Oral Biol*, 57, 1211-7.
- DAVE S., BATISTA JR.E.L. & VAN DYKE T.E. (2004) Cardiovascular Disease and Periodontal Disease: Commonality and Causation. In: Cohen W, Bonta Y, editors. *Gin Compendium, Gingivitis: An Inflammatory Periodontal Disease*, Vol. 25. No. 7, pp 26-37.
- DROZDZIK, A., KURZAWSKI, M., SAFRONOW, K. & BANACH, J. (2006) Polymorphism in interleukin-1beta gene and the risk of periodontitis in a Polish population. *Adv Med Sci*, 51 Suppl 1, 13-7.
- ENSANUT (2012) Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Instituto Nacional de Salud Publica, México*, 2, 1-4.
- FIEBIG, A., JEPSEN, S., LOOS, B. G., SCHOLZ, C., SCHAFER, C., RUHLING, A., NOTHNAGEL, M., EICKHOLZ, P., VAN DER VELDEN, U., SCHENCK, K., SCHREIBER, S. & GROSSNER-SCHREIBER, B. (2008) Polymorphisms in the interleukin-1 (IL1) gene cluster are not associated with aggressive periodontitis in a large Caucasian population. *Genomics*, 92, 309-15.
- GÓMEZ, R., CONDE, J., GÓMEZ, R., LAGO, F. & GUALILLO, O. (2009) Las adipocinas: Mediadores emergentes de la respuesta inmune y de la inflamación. *Reumatol Clin*, 5, 6-12.
- GUZELDEMIR, E., GUNHAN, M., OZCELIK, O. & TASTAN, H. (2008) Interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Turkish patients with localized aggressive periodontitis. *J Oral Sci*, 50, 151-9.
- GUZMÁN, S., KARIMA, M., WANG, H. Y. & VAN DYKE, T. E. (2003) Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population. *J Periodontol*, 74, 1183-90.
- HANS, M. & HANS, V. M. (2011) Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review. *J Oral Sci*, 53, 263-71.
- JAGANNATHACHARY, S. & KAMARAJ, D. (2010) Obesity and periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*, 14, 96-100.
- KIM, S. H., MOK, J. W., KIM, H. S. & JOO, C. K. (2008) Association of -31T>C and -511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. *Mol Vis*, 14, 2109-16.
- KOBAYASHI, T., NAGATA, T., MURAKAMI, S., TAKASHIBA, S., KURIHARA, H., IZUMI, Y., NUMABE, Y., WATANABE, H., KATAOKA, M., NAGAI, A., HAYASHI, J., OHYAMA, H., OKAMATSU, Y., INAGAKI, Y., TAI, H. & YOSHIE, H. (2009) Genetic risk factors for periodontitis in a Japanese population. *J Dent Res*, 88, 1137-41.

- KORNMAN, K. S., CRANE, A., WANG, H. Y., DI GIOVINE, F. S., NEWMAN, M. G., PIRK, F. W., WILSON, T. G., JR., HIGGINBOTTOM, F. L. & DUFF, G. W. (1997) The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 24, 72-7.
- LAINE, M. L., LOOS, B. G. & CRIELAARD, W. (2010) Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent*, 2010, 324719.
- LOO, W. T., FAN, C. B., BAI, L. J., YUE, Y., DOU, Y. D., WANG, M., LIANG, H., CHEUNG, M. N., CHOW, L. W., LI, J. L., TIAN, Y. & QING, L. (2012) Gene polymorphism and protein of human pro- and anti-inflammatory cytokines in Chinese healthy subjects and chronic periodontitis patients. *J Transl Med*, 10 Suppl 1, S8.
- LÓPEZ-MARCOS, J. F., GARCIA-VALLE, S. & GARCIA-IGLESIAS, A. A. (2005) Periodontal aspects in menopausal women undergoing hormone replacement therapy. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 10, 132-41.
- LÓPEZ, N. J., JARA, L. & VALENZUELA, C. Y. (2005) Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease. *J Periodontol*, 76, 234-43.
- MARTÍNEZ-CARRILLO, D. N., GARZA-GONZALEZ, E., BETANCOURT-LINARES, R., MONICO-MANZANO, T., ANTÚNEZ-RIVERA, C., ROMÁN-ROMÁN, A., FLORES-ALFARO, E., ILLADES-AGUIAR, B. & FERNÁNDEZ-TILAPA, G. (2010) Association of IL1B -511C/-31T haplotype and Helicobacter pylori vacA genotypes with gastric ulcer and chronic gastritis. *BMC Gastroenterol*, 10, 126.
- MOHAMED, S. & JANAKIRAM, C. (2013) Periodontal status among tobacco users in Karnataka, India. *Indian J Public Health*, 57, 105-8.
- MULLER, H. P. & BARRIESHI-NUSAIR, K. M. (2007) A combination of alleles 2 of interleukin (IL)-1A(-889) and IL-1B(+3954) is associated with lower gingival bleeding tendency in plaque-induced gingivitis in young adults of Arabic heritage. *Clin Oral Investig*, 11, 297-302.
- NEWMAN, M., TAKEY, H. & CARRANZA, F. (2004) Periodontología Clínica. . *Editorial Mc Graw-Hill Interamericana*, México 9 Ed., p. 66-75.
- OCHOA, S. P., OSPINA, C. A., COLORADO, K. J., MONTOYA, Y. P., SALDARRIAGA, A. F., MIRANDA GALVIS, M., MUNOZ PINO, N., GOMEZ, M. E., YEPES, F. L. & BOTERO, J. E. (2012) Periodontal condition and tooth loss in diabetic patients. *Biomedica*, 32, 52-9.
- OKADA, H. & MURAKAMI, S. (1998) Cytokine expression in periodontal health and disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9, 248-66.
- OZMERIC, N. (2004) Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta*, 343, 1-16.
- PÁRAMO, J. A., BELOQUI, O., RODRÍGUEZ, J. A., DIEZ, J. & ORBE, J. (2008) Asociación de la metaloproteínasa-10 y el tabaquismo en sujetos sin enfermedad cardiovascular. *Rev Esp Cardiol*, 61, 1267-73.

- PÉREZ-ORTA, R., SÁNCHEZ -HUERTA, H. A. & CORONA-ZAVALA, Z. A. (2011) Prevalencia y severidad de enfermedad periodontal crónica en adolescentes y adultos. *Oral.*, 39, 799-804.
- PÉREZ-PÉREZ, G. I., GARZA-GONZÁLEZ, E., PORTAL, C. & OLIVARES, A. Z. (2005) Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14, 1869-73.
- PRESHAW, P. M., ALBA, A. L., HERRERA, D., JEPSEN, S., KONSTANTINIDIS, A., MAKRILAKIS, K. & TAYLOR, R. (2012) Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetologia*, 55, 21-31.
- QUAPPE, L., JARA, L. & LOPEZ, N. J. (2004) Association of interleukin-1 polymorphisms with aggressive periodontitis. *J Periodontol*, 75, 1509-15.
- RAI, B., KHARB, S., JAIN, R. & ANAND, S. C. (2008) Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J Oral Sci*, 50, 53-6.
- SHETE, A. R., JOSEPH, R., VIJAYAN, N. N., SRINIVAS, L. & BANERJEE, M. (2010) Association of single nucleotide gene polymorphism at interleukin-1beta +3954, -511, and -31 in chronic periodontitis and aggressive periodontitis in Dravidian ethnicity. *J Periodontol*, 81, 62-9.
- SILVA-ZOLEZZI, I., HIDALGO-MIRANDA, A., ESTRADA-GIL, J., FERNANDEZ-LOPEZ, J. C., URIBE-FIGUEROA, L., CONTRERAS, A., BALAM-ORTIZ, E., DEL BOSQUE-PLATA, L., VELAZQUEZ-FERNANDEZ, D., LARA, C., GOYA, R., HERNANDEZ-LEMUS, E., DAVILA, C., BARRIENTOS, E., MARCH, S. & JIMENEZ-SANCHEZ, G. (2009) Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 8611-6.
- SSA (2008) Semana Nacional de Salud Bucal. *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiologica*, México, 25, 1-4.
- SSA (2010) Gingivitis y Enfermedades Periodontales. *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiologica*, México, 27, 1-3.
- TELES, R., SAKELLARI, D., TELES, F., KONSTANTINIDIS, A., KENT, R., SOCRANSKY, S. & HAFFAJEE, A. (2010) Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *J Periodontol*, 81, 89-98.
- THOMSON, W. M., EDWARDS, S. J., DOBSON-LE, D. P., TOMPKINS, G. R., POULTON, R., KNIGHT, D. A. & BRAITHWAITE, A. W. (2001) IL-1 genotype and adult periodontitis among young New Zealanders. *J Dent Res*, 80, 1700-3.
- TREVILATTO, P. C., DE SOUZA PARDO, A. P., SCAREL-CAMINAGA, R. M., DE BRITO, R. B., JR., ALVIM-PEREIRA, F., ALVIM-PEREIRA, C. C., PROBST, C. M., GARLET, G. P., SALLUM, A. W. & LINE, S. R. (2011) Association of IL1 gene polymorphisms with chronic periodontitis in Brazilians. *Arch Oral Biol*, 56, 54-62.

- WAGNER, J., KAMINSKI, W. E., ASLANIDIS, C., MODER, D., HILLER, K. A., CHRISTGAU, M., SCHMITZ, G. & SCHMALZ, G. (2007) Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 34, 823-7.
- WALKER, S. J., VAN DYKE, T. E., RICH, S., KORNMAN, K. S., DI GIOVINE, F. S. & HART, T. C. (2000) Genetic polymorphisms of the IL-1alpha and IL-1beta genes in African-American LJP patients and an African-American control population. *J Periodontol*, 71, 723-8.
- WEIDLICH, P., CIMOES, R., PANNUTI, C. M. & OPPERMANN, R. V. (2008) Association between periodontal diseases and systemic diseases. *Braz Oral Res*, 22 Suppl 1, 32-43.
- WU, Y. M., LIU, J., SUN, W. L., CHEN, L. L., CHAI, L. G., XIAO, X. & CAO, Z. (2013) Periodontal status and associated risk factors among childbearing age women in Cixi City of China. *J Zhejiang Univ Sci B*, 14, 231-9.