



**UADY**  
CIENCIAS DE LA SALUD  
FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA

DETECCIÓN DEL POLIMORFISMO -308 G/A DEL GEN  
TNF $\alpha$  EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2  
Y/O PERIODONTITIS CRÓNICA

Tesis presentada por:  
ANDREA GUADALUPE DÍAZ MARTÍN

En opción al Diploma de Especialización en:  
PERIODONCIA

Directoras:  
M. I. N. E. BERTHA ARELLY CARRILLO ÁVILA  
DRA. EUGENIA DEL SOCORRO GUZMÁN MARÍN

Mérida, Yucatán, Julio 2018





DETECCIÓN DEL POLIMORFISMO -308 G/A DEL GEN  
TNF $\alpha$  EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2  
Y/O PERIODONTITIS CRÓNICA

Tesis presentada por:  
ANDREA GUADALUPE DÍAZ MARTÍN

En opción al Diploma de Especialización en:  
PERIODONCIA

Directoras:  
M. I. N. E. BERTHA ARELLY CARRILLO ÁVILA  
DRA. EUGENIA DEL SOCORRO GUZMÁN MARÍN

Mérida, Yucatán, Julio 2018



UADY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN

UNIDAD DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

Mérida, Yucatán, 1 de Julio de 2018

**C. ANDREA GUADALUPE DÍAZ MARTÍN**

Con base en el dictamen emitido por sus Directoras y revisores, le informo que la Tesis titulada **"DETECCIÓN DEL POLIMORFISMO -308 G/A DEL GEN TNF $\alpha$  EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y/O PERIODONTITIS CRÓNICA"**, presentada como cumplimiento a uno de los requisitos establecidos para optar al Diploma de la Especialización en Periodoncia, ha sido aprobada en su contenido científico, por lo tanto, se le otorga la autorización para que una vez concluidos los trámites administrativos necesarios, se le asigne la fecha y hora en la que deberá realizar su presentación y defensa.

M. C. O. José Rubén Riera Atoche  
Jefe de la Unidad de Posgrado e Investigación

M. I. N. E. Bertha Arely Carrillo Ávila  
Directora de Tesis

Dra. Eugenia del Socorro Guzmán Marín  
Directora de Tesis

M. en O. Eduardo Nimigar Saucá Esquivel  
Revisor

M. en Inv. en S. Víctor Manuel Martínez Aguilar  
Revisor

Artículo 78 del reglamento interno de  
la facultad de Odontología de la  
Universidad Autónoma de Yucatán.

Aunque una tesis hubiera servido para  
el examen profesional y hubiera sido  
aprobada por el sínodo, solo su autor o  
autores son responsables de las  
doctrinas emitidas.

Este trabajo se realizó en la clínica del programa de Especialización en Periodoncia de la Facultad de Odontología y en el laboratorio de Biología Celular del Centro de Investigaciones Regionales Unidad Biomédica “Dr. Hideyo Noguchi” (CIR-B) de la UADY, bajo la dirección del M.I.S. Víctor Manuel Martínez Aguilar y la M. I. N. E. Bertha Arelly Carrillo Ávila . Los resultados presentados, son parte del proyecto de investigación “Detección del polimorfismo TNF-alpha-308 G/A en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y/o periodontitis crónica” con número de registro FODO-2017-0001 a través del PAIFO.

## ÍNDICE

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
HIPÓTESIS	16
JUSTIFICACIÓN	18
OBJETIVOS	19
MATERIAL Y METODOS	20
CRONOGRAMA	29
BIBLIOGRAFÍA	33

## DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica no transmisible que ha incrementado su prevalencia en el mundo. En México, la prevalencia en 2016 fue de 9.4%, la cual constituye una de las cifras más altas en el mundo. En la región sur del país, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2016), la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 en adultos fue de 10.2 % (1).

La diabetes mellitus tipo 2 es una de las enfermedades crónicas degenerativas de mayor interés en el ámbito de la salud pública. En 2017, se indicó por la FDI que México se encontraba como el quinto país con mayor número de habitantes con diabetes (2,3). Los índices de mortalidad a causa de sus complicaciones se encuentran en ascenso. En la literatura especializada se ha evaluado y probado que existe una relación entre las alteraciones metabólicas para procesar la glucosa y la presencia de enfermedad periodontal. Se sustenta que entre los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, la enfermedad periodontal es la sexta complicación asociada.

La enfermedad periodontal está definida como una inflamación provocada por múltiples bacterias que estimulan una respuesta en los tejidos periodontales y produce como consecuencia la pérdida del soporte del diente afectado. En México, en el reporte de 2009 del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales, la prevalencia de enfermedad periodontal estimada fue de 62.6 % y se observó que aumentó con la edad (2).

Como se mencionó con anterioridad, la relación entre la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad periodontal se manifiesta ante el siguiente mecanismo: ante la condición de hiperglucemia, la glucosa circulante se une a cadenas de aminoácidos, lo cual da como resultado proteínas inmaduras. Éstas se descomponen en productos de glucosilación con alta afinidad a los macrófagos, los cuales aumentan la secreción de las interleucinas y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).

Los macrófagos y los linfocitos T activados que infiltran el tejido de pacientes con esta enfermedad son fuente importante de producción de citocinas, que han sido implicadas en la patogénesis de enfermedad periodontal. Por lo tanto y de acuerdo la

relación entre la enfermedad periodontal y la diabetes mellitus tipo 2, así como la presencia del TNF- $\alpha$ -308 G/A en ambas, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Está presente el factor de TNF- $\alpha$  -308 G/A, en pacientes con enfermedad periodontal crónica y diabetes mellitus tipo 2.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### ENFERMEDADES PERIODONTALES.

El periodonto se forma con los tejidos de soporte y protección del órgano dentario (encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar). Se divide en dos partes: encía, cuya función principal es proteger los tejidos subyacentes, y el aparato de inserción, compuesto por el ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar (4).

La periodontitis se define como “una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los órganos dentarios causada por microorganismos o grupo de microorganismos específicos que producen la destrucción progresiva del ligamento periodontal y del hueso alveolar con formación de bolsa, recesión o ambas” (4, 6). Es un proceso infeccioso de la encía y del aparato de inserción adyacente, producido por diversos microorganismos que colonizan el área supra y subgingival (4).

La característica clínica para diagnosticar algún tipo de periodontitis es la presencia de pérdida ósea detectable (7).

### CLASIFICACIÓN.

La Asociación Americana de Periodoncia (AAP) en 1999 clasificó las diferentes formas de periodontitis en tres tipos, según las manifestaciones clínicas que presentaban. (4,6).

<b>Enfermedad periodontal</b>	<b>Características</b>	<b>Formas</b>
<b>Periodontitis crónica (PC)</b>	<p>-Forma más frecuente de periodontitis.</p> <p>-Más prevalente en adultos pero puede presentarse en niños.</p> <p>-Vinculada con la acumulación de placa y cálculos.</p> <p>- Suele tener un ritmo de progresión lento a moderado, pero se observan periodos de destrucción más rápida.</p> <p>-Puede presentar estadios de destrucción rápida debido a factores locales, sistémicos y ambientales.</p>	<p>Según su extensión:</p> <p>-Localizada: &lt;30% de los sitios afectados</p> <p>-Generalizada: &gt;30% de los sitios afectados.</p> <p>Según su intensidad:</p> <p>-Leve: 1 a 2mm de pérdida de inserción clínica.</p> <p>-Moderada: 3 a 4 mm de pérdida de inserción clínica.</p> <p>-Grave: <math>\geq</math> 5mm de pérdida de inserción clínica.</p>
<b>Periodontitis agresiva (PA)</b>	<p>-Paciente por lo demás sano.</p> <p>-Pérdida de inserción y destrucción ósea rápida.</p> <p>-Cantidad de depósitos microbianos sin correlación con la gravedad de la enfermedad.</p> <p>-Varios miembros de la familia ya han pasado por la enfermedad</p>	<p>Según su extensión:</p> <p>-Localizada: se presenta a nivel de primeros molares o incisivos</p> <p>-Generalizada: afecta por lo menos tres dientes distintos a los primeros molares e incisivos</p>

<b>Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas</b>	-El mayor efecto de estas alteraciones se debe a alteraciones en los mecanismos de defensa del huésped debido al trastorno que cursa.	Se observa como manifestación de las siguientes enfermedades sistémicas: 1. Trastornos hematológicos. 2. Trastornos genéticos. 3. No especificadas de otro modo.
<b>Enfermedades periodontales necrosantes.</b>	-Encía marginal y papilar ulcerada y necrosada cubierta por una pseudomembrana o esfacelo blanco amarillento. -Papilas romas o con cráteres. -Hemorragia espontánea o provocada. -Dolor y aliento fétido. -Puede acompañarse de fiebre, malestar general y linfadenopatía.	-Gingivitis ulcerativa necrosante (GUN). - Periodontitis ulcerativa necrosante (PUN).
<b>Abscesos del periodonto</b>	-Infección purulenta localizada de los tejidos periodontales. -Exacerbación aguda de una bolsa preexistente. -Material purulento que queda atrapado en una bolsa sin vía de drenaje.	Se clasifican según su tejido de origen: -Absceso agudo: Elevaciones ovoideas dolorosas, edematosas, rojas y brillantes del margen gingival, la encía insertada, o ambos. -Absceso crónico: generan dolor apagado que a veces se agudiza.

En la cavidad bucal, existe una gran variedad de patógenos, los cuales viven de forma común y sin producir daño alguno. Sin embargo, también existen bacterias que si son patógenas y que se desarrollan como oportunistas dentro de la cavidad. Se conoce que las bacterias, representan un gran porcentaje en el desarrollo de la enfermedad periodontal, sin embargo, entran también diversos factores que en conjunto con ellas desencadenan los síntomas de las diferentes enfermedades periodontales. Entre estos factores, se encuentran: locales, sistémicos, ambientales, genéticos (8).

Es esencial un conocimiento detallado de la dinámica existente entre la respuesta inmunitaria del paciente y las bacterias bucales, con el único fin de comprender claramente la patogenia de la enfermedad periodontal. Las bacterias periodontopatógenas inician el cuadro y atacan de forma repetida al hospedador, con la consiguiente estimulación de una respuesta inmunitaria, pero la presencia de flora subgingival patógena no siempre implica una destrucción periodontal (9).

Aunque la placa bacteriana es esencial para el inicio de la periodontitis, la cantidad de placa no se relaciona de forma necesaria con una mayor progresión de la enfermedad. Cada persona presenta una curva individual que define la susceptibilidad del hospedador ante la periodontitis. Muchos pacientes muestran resistencia a la enfermedad y no progresarán más allá de una gingivitis o una periodontitis incipiente. Todo ello sitúa el énfasis en la respuesta del hospedador, en vez de en la etiología bacteriana, como principal determinante de la expresión de la enfermedad (8,9).

La periodontitis crónica, tiene mayor prevalencia en adultos, aunque se puede presentar en individuos de cualquier grupo etario.

Pueden existir diversos signos y síntomas tales como:

1. Edema.
2. Eritema.
3. Aumento o recesión de la encía.
4. Placa o cálculo supra y subgingival.

5. Factores locales aumentan la acumulación de placa, sangrado o supuración espontánea o al sondaje.
6. Una mayor movilidad.
7. Apiñamiento o exfoliación dental.

Todas estas circunstancias pueden afectar a un número variable de órganos dentarios en función de cada individuo, con tasas variables de progresión. Las características clínicas son una combinación de los siguientes signos: la pérdida de nivel de inserción clínica, el aumento de la profundidad de la bolsa gingival, la inflamación gingival y la pérdida ósea radiográfica (4).

Entre los factores sistémicos que afectan al periodonto, se encuentran diferentes enfermedades crónicas degenerativas. Algunas de ellas figuran como una de las primeras causas de muerte a nivel mundial. Entre este tipo de padecimientos se encuentra la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) con tendencia a presentarse cada vez más en personas jóvenes. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un padecimiento incurable y los pacientes deben recibir tratamiento toda su vida (10).

## DIABETES MELLITUS

DM es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por niveles elevados de glucosa en sangre (hiperglicemia) resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambos (11,12). Una persona con diabetes no metaboliza adecuadamente la glucosa y ésta sigue circulando por la sangre, lo cual daña con el tiempo los tejidos del cuerpo, presenta una patogenia multifactorial, en la que están implicados factores ambientales, genéticos, inmunológicos y metabólicos (3,12).

La insulina es una hormona producida por el páncreas, secretada por las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos, ésta disminuye los niveles de glucosa en sangre al ayudar a ingresar esta molécula al interior de las células para que éstas la transformen en energía (3,11). Tiene como tejidos efectores principales al músculo estriado, el hígado y el tejido graso, ejerciendo acciones anabolizantes de almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno o utilización de la misma en la fosforilación oxidativa. La deficiente acción de la insulina proviene de su secreción inadecuada y/o la disminución de la respuesta de los

tejidos a la insulina en uno o más puntos en la compleja vía de la acción hormonal. El deterioro de la secreción de insulina y los defectos de la acción insulínica suelen coexistir en el mismo paciente, y no está establecido cuál de las anormalidades es la causa principal de la hiperglucemia (13,14).

## CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

Los criterios utilizados recientemente para la clasificación y el diagnóstico de la diabetes mellitus (DM) fueron propuestos por un comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS). La clasificación de la DM se basa en una clasificación desde el punto de vista etiológico y sus características fisiopatológicas (7,12).

### 1. Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1)

Se presenta en un 5-10% de todos los diabéticos y ocurre como consecuencia de una destrucción autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas. Conocida anteriormente como “diabetes insulínica dependiente” o “diabetes de comienzo juvenil” (12,15). A su vez entra en una clasificación, siendo ésta de tipo autoinmune o idiopática. Sus primeras manifestaciones clínicas suelen ocurrir alrededor de la pubertad cuando las células  $\beta$  se encuentran afectadas, en estas se manifiesta un deterioro progresivo de su función, hasta que en su estadio final la nula función de los islotes hace al paciente tributario de insulino terapia obligatoriamente (12).

### 2. Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)

Esta forma de DM es la más común, se presenta en el 90- 95% de los casos de diabetes, anteriormente se conocía como “diabetes no dependiente de insulina”, “diabetes tipo 2” o “diabetes del adulto” (12, 13, 16).

Las posibilidades de aparición de glucosa sanguínea elevada en la DM2 son variadas. Se han descrito dos mecanismos principales en la presencia de ésta: deficiencia relativa de las células  $\beta$  del páncreas y la resistencia a la insulina (16). Tiene gran relación con la edad, apareciendo ésta sobre todo a partir de los 40 años de edad, esto le da una

mayor relevancia teniendo en cuenta el creciente envejecimiento de la población mundial(12).

### 3. Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

Su prevalencia varía entre el 1 y el 14 % de los embarazos. Es cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se descubre durante el embarazo, mostrando frecuentemente resistencia a la insulina (12,13,16,17). Desaparece después del parto, con frecuencia se acompaña de complicación perinatal y de la posibilidad de desarrollar DM1, 10 años después del nacimiento (12).

## DIABETES MELLITUS TIPO 2

Por lo general la DM2 suele diagnosticarse en la etapa adulta, pero cada vez aparece más en niños y adolescentes, por lo general después de la cuarta década de la vida y asociada a obesidad central, dislipidemia y/o hipertensión arterial en un gran porcentaje de los pacientes (18). En ésta última, el cuerpo conserva la capacidad de producir insulina, sin embargo, esto no es suficiente o bien el cuerpo no puede responder a sus efectos, dando lugar a una hiperglucemia mantenida (3,12,19).

Muchas personas con DM2 no son conscientes de su enfermedad durante mucho tiempo, ya que los síntomas pueden tardar años en aparecer o ser reconocidos, pero durante este tiempo el cuerpo está siendo dañado por el exceso de glucosa en sangre. Estas personas suelen ser diagnosticadas sólo cuando las complicaciones de la diabetes ya se han desarrollado (3,12,18).

## 1. ETIOLOGÍA Y FACTORES CONTRIBUYENTES

Por etiología se entiende el o los mecanismos que conducen de la causa a la lesión, o a la alteración funcional. El problema fundamental de la diabetes es la deficiencia absoluta o relativa de insulina, que afecta la utilización y el metabolismo de la glucosa. La DM2 es una patología poligénica y multifactorial (12,20).

### 1.1. Genética

La comunidad científica ha buscado con mucho interés en los genes que determinan la aparición de la diabetes. Esto podría identificar a los individuos de mayor riesgo y orientarlos hacia medidas que permitan retrasar o evitar su aparición (20).

Recientemente se ha demostrado que una citocina del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), denominada TRAIL, puede desempeñar un papel patogénico importante en la resistencia insulínica (RI) y, en particular, en la lesión vascular que ocurre a lo largo de la historia natural de la enfermedad por actuar no sólo en la apoptosis y la regulación inmunitaria, sino también en la biología vascular. Restaurar la expresión de TRAIL podría mejorar la función vascular (21).

### 1.2. Obesidad

La DM2 con mucha frecuencia cursa con obesidad, estos pacientes suelen tener una mayor proporción de grasa abdominal. Hay una alta relación entre obesidad y resistencia a la insulina, sobre todo esta relación se da con la obesidad central. Algunos autores han demostrado que la localización de grasas dentro del tejido de los músculos estriados también se asocia con la resistencia a la insulina (20).

El origen de este fenómeno doble es multifactorial y se asocia de forma compleja por componentes etnogenéticos, no siempre compartidos por la obesidad y la DM2, y factores ligados al estilo de vida individual y colectivo por la convivencia familiar (hábitos nutricionales y sedentarismo), así como, costumbres y estrés de muy diversa índole (12,20).

### 1.3. Factores ambientales asociados

Son variadas las posibilidades de aparición de glucosa sanguínea elevada en la DM2. Se han descrito dos mecanismos principales en la presencia de ésta: deficiencia relativa de las células  $\beta$  del páncreas y la resistencia a la insulina (16).

1. Edad. La prevalencia de la DM2 aumenta significativamente con la edad, a partir de los 40 años de edad, y está en relación con la disminución progresiva de la sensibilidad a la insulina.

2. Cambios alimentarios. Son los hábitos dietéticos inadecuados, como el consumo de un gran número de calorías, colesterol, grasas saturadas y alimentos con un índice glucémico elevado.
3. Actividad física. Está bien definido que la actividad física mejora la resistencia insulínica a través de la regulación del transporte de la glucosa en el músculo. Reduce, por tanto, el riesgo de DM, mejora el metabolismo lipídico y ayuda a perder peso y al control de la DM establecida (12,20,22).

#### 1.4. Resistencia a la insulina

Es una condición común en las personas que tienen sobrepeso o son obesos, que tienen exceso de grasa abdominal y que no son físicamente activos. Consiste en la resistencia a los efectos de la insulina sobre la captación, metabolismo o almacenamiento de la glucosa. Los músculos, grasa, hígado y las células dejan de responder adecuadamente a la insulina, obligando al páncreas a compensar produciendo más insulina. Siempre y cuando las células beta sean capaces de producir suficiente insulina, los niveles de glucosa en sangre se mantendrán dentro del rango normal. Pero cuando la producción de insulina se ve afectada a causa de la disfunción de las células beta, los niveles de glucosa se elevan (7,11,17).

#### 1.5. Producción anormal de la glucosa por el hígado

En algunas personas con diabetes, un aumento anormal en la producción de glucosa por el hígado también contribuye a los altos niveles de glucosa en sangre. Normalmente, el páncreas libera la hormona glucagón, cuando los niveles de glucosa e insulina en sangre son bajos. El glucagón estimula al hígado para producir glucosa y liberarla en el torrente sanguíneo. Pero cuando la glucosa en sangre y los niveles de insulina son altos después de una comida, los niveles de glucagón, y el hígado almacena el exceso de glucosa para más adelante, cuando sea necesario. La metformina, el fármaco más utilizado para tratar la diabetes tipo 2, reduce la producción de glucosa por el hígado (11,12).

## 2. EPIDEMIOLOGÍA

Según datos de la FID en el año 2013 más de 381.8 millones de personas padecían dicha enfermedad, y 5.1 millones murieron a causa de ella, siendo México hasta el 2013 el sexto país con mayor número de habitantes con diabetes (3).

En México, para el año 2012 había 418,797 casos reportados, lo que representa un 0.4% de la población nacional, siendo las mujeres de 50 a 59 años el estrato más afectado, presentando 1,237 casos por cada 100,000 habitantes. Se espera que para el año 2030 la incidencia en el país aumente un 37.8% y la tasa de morbilidad tenga un 23.9% de crecimiento (1,23).

Según datos de la ENSANUT 2016, el 9.4% de la población mexicana padece diabetes (1).

## 3. MANIFESTACIÓN DE DIABETES MELLITUS EN LA CAVIDAD BUCAL

Un número considerable de complicaciones orales han sido asociadas a la DM, particularmente en pacientes no controlados, entre las complicaciones o patologías más frecuentes en este tipo de paciente se pueden encontrar:

1. Gingivitis.
2. Periodontitis.
3. Lesiones perirradiculares inflamatorias y sus diversas formas (lesiones osteolíticas periapicales agudas y crónicas, abscesos, granulomas odontógenos, etc.).
4. Pérdida dentaria.
5. Xerostomía y cambios en composiciones de saliva.
6. Lesiones de la mucosa oral y la lengua (15,24).

Entre las manifestaciones bucales de la diabetes mellitus, se mencionan: boca seca, abscesos dentales, infecciones micóticas, cicatrización lenta (4, 25).

Existe una relación bidireccional entre la diabetes y la enfermedad periodontal. Se afecta adversamente una a otra. La diabetes provoca una respuesta inflamatoria en los

tejidos, como las enfermedades periodontales, las cuales se asocian a un peor control de la glucemia en diabéticos (4,25).

La relación entre la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad periodontal se manifiesta ante hiperglucemia, condición en la cual la glucosa se une a cadenas de aminoácidos, dando como resultado proteínas inmaduras. Estas se descomponen en productos de la glucosilación avanzada con alta afinidad a los macrófagos, los cuales aumentan la secreción de las interleucinas 1, 2, 6, 12 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). En particular, el TNF $\alpha$ -308 G/A está estrechamente relacionado con el proceso de fosforilación del receptor para la insulina IRS-1. Además, los productos de glucosilación avanzada se acumulan en el tejido gingival, con lo cual se va generando una ruptura de fibras de colágeno y la destrucción del hueso y del tejido conectivo (26, 27, 28).

Se han reportado múltiples factores genéticos que afectan la enfermedad periodontal. Específicamente, distintas variantes alélicas pueden dar lugar a variaciones en la estructura de los tejidos (inmunidad innata), en la respuesta de anticuerpos (inmunidad adaptativa) y en los mediadores inflamatorios (inflamación inespecífica). Las variaciones genéticas también pueden actuar como factores de protección o de riesgo en ciertos procesos patológicos, incluida la periodontitis (29).

El factor de necrosis tumoral fue descubierto por William Coley en 1893, cuando observó que en los pacientes con cáncer que desarrollaban una infección bacteriana, se inducía una necrosis tumoral. Coley trató a pacientes con cáncer con el sobrenadante de algunos cultivos bacterianos, llamados toxinas de Coley, las cuales mostraron cierta actividad en la necrosis tumoral, pero tenían efectos secundarios muy graves. En 1975 se demostró que el procedimiento de Coley se debía en realidad a unas endotoxinas bacterianas que estimulaban a las células del sistema inmunológico a que secretaran una sustancia que tenía un efecto antitumoral siendo denominada por este motivo como factor de necrosis tumoral (30).

Con el paso de los años, se descubrió que el TNF estaba formado por dos productos diferentes, el TNF- $\alpha$  que era idéntico a la catequina (una sustancia que se produce en algunas enfermedades como la coagulación intravascular diseminada) y el TNF- $\beta$  idéntico

a la linfotoxina humana. Ambas formas del TNF tienen funciones similares. El TNF- $\alpha$  es producido sobre todo por los macrófagos y ejerce sus efectos sobre las células tumorales e inflamatorias. El TNF- $\beta$  es excretado por algunas células T en particular por las células T citotóxicas y las T colaboradoras (helper) y también ataca células tumorales en las que induce efectos citotóxicos (30).

El TNF- $\alpha$  es producido por algunas células, como los monocitos, fibroblastos y células epiteliales. Mediante estímulos algunas otras también pueden producir citocinas, este es el caso de macrófagos, linfocitos T y B, granulocitos, células musculares lisas y queratinocitos (30).

Las endotoxinas bacterianas, la interleucina IL-1 y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas PDGF, representan estímulos fisiológicos para la expresión de TNF- $\alpha$ . En los fibroblastos, la producción del TNF- $\alpha$  es inducida por el factor de crecimiento neuronal, y en las células endoteliales, epiteliales y fibroblásticas por la IL-17 (30).

El TNF- $\alpha$  es una citocina, que ha sido implicada en la resistencia a insulina, algunos polimorfismos han sido asociados con un aumento en la producción de esta citocina *in vitro*, como es el caso del -308 G/A. Se han identificado 15 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el promotor del gen TNF. En la región promotora, el polimorfismo más importante corresponde al cambio de una G (guanina) por una A (adenina) en el sitio 308 del promotor, generando dos alelos conocidos como TNF1 (G) y TNF2 (A) (31).

La variación nucleotídica en la posición 308 define los genotipos TNF1 (-308 G) y TNF2 (-308 A) y se manifiesta en que los monocitos provenientes de sangre periférica de pacientes portadores del alelo TNF2, presentan una mayor producción de la citocina que los que llevan el alelo TNF1 (32).

El polimorfismo -308 define los genotipos TNF1 (G/G) y TNF2 (G/A y A/A). El alelo TNF2, se ha descrito como el más importante en la regulación de la producción de TNF- $\alpha$ . Estudios *in vitro* en células estimuladas con lipopolisacárido, indican que las de

genotipo TNF2 presentan una mayor sobreexpresión de la citocina que las de genotipo TNF1 (33).

Según estudios realizados acerca de la relación del polimorfismo -308 con diversas enfermedades inflamatorias los resultados apuntan a que la participación de genes relacionados con las características étnicas de los pacientes estudiados produce resultados diferentes en la participación de dicho polimorfismo (34).

A pesar del papel fisiológico descrito para el TNF- $\alpha$ , el aumento de sus niveles se ha relacionado con la patogénesis de enfermedades asociadas al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), especialmente en enfermedades como la diabetes mellitus no-insulino dependiente o tipo 2. Esta situación, permite señalar que el TNF- $\alpha$  tiene una doble función, pudiendo pasar de remodelador de tejidos y potenciador de la respuesta inmune, a flogístico y citotóxico, induciendo a diversas afecciones del sistema (35).

Diversos estudios de asociación demuestran específicamente la relación del polimorfismo del TNF- $\alpha$  -308 G/A con la diabetes mellitus tipo 2. Un ejemplo es el realizado en adultos mayores de origen holandés, en el cuál se estimó que el riesgo de diabetes asociado al genotipo homocigoto para el alelo A del polimorfismo -308G/A era más de 4.5 veces superior al riesgo de desarrollar diabetes en personas con el genotipo GG, lo que situaría a este polimorfismo como un importante determinante del desarrollo de diabetes tipo 2 en la población de adultos mayores (36).

Aunque existe aún debate sobre el papel de los polimorfismos de la región promotora de TNF $\alpha$  involucrados en la regulación de este gen, existen numerosos estudios que sugieren un papel relevante del polimorfismo -308G/A sobre la expresión de TNF- $\alpha$ . Específicamente, el alelo A en la posición -308 se ha relacionado con una mayor actividad de transcripción del gen de TNF- $\alpha$  (37, 38).

Cuenca *et al*, estimaron una frecuencia alélica de polimorfismo -308G/A similar a la encontrada en este estudio, y señalaron las importantes diferencias en las frecuencias alélicas, dependiendo del país y del grupo étnico estudiado. Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados anteriormente, se optó por investigar si efectivamente el

polimorfismo -308G/A de TNF- $\alpha$  podría ejercer un efecto mayor sobre la adiposidad y la distribución de grasa corporal en mujeres libres de diabetes (39).

En el caso de la periodontitis crónica en relación con el polimorfismo -308, se tienen diversos antecedentes. Como se ha mencionado con anterioridad, el TNF- $\alpha$  es un importante mediador de las reacciones inflamatorias y parece jugar un rol central en la patogénesis de varias enfermedades inflamatorias crónicas incluyendo la periodontitis. Se ha demostrado que existen diferentes tasas de síntesis de TNF- $\alpha$  *in vitro* e *in vivo* entre los individuos, por lo que puede asociarse con la presencia de dicho polimorfismo genético (40).

Por lo tanto se determina que la presencia del TNF- $\alpha$  en enfermedades crónicas e inflamatoria tendrá diferentes efectos en el sistema dependiendo de la genética y raza del individuo, así como de factores ambientales.

## HIPÓTESIS

El polimorfismo TNF- $\alpha$ -308 G/A se encuentra presente en los pacientes con periodontitis crónica y/o diabetes mellitus tipo 2.

## JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es la forma más común de diabetes. Se sabe que muchos factores ambientales, incluyendo una dieta alta en calorías y la inactividad física, influyen en su desarrollo. Sin embargo, los factores genéticos han mostrado ser una contribución individual en la susceptibilidad para esta condición. De hecho, los polimorfismos pudieran aparecer como marcadores genéticos que conlleven una identificación anticipada de riesgo a diabetes mellitus tipo 2.

Como se ha mencionado con anterioridad, los pacientes que presentan diabetes mellitus tipo 2, tienen una estrecha relación con las enfermedades periodontales, entre ellas, la periodontitis crónica, ya que este padecimiento sistémico, afecta a los tejidos de soporte dentario y mantiene una estrecha relación con la enfermedad.

Los factores genéticos, específicamente los polimorfismos, también se han detectado, en relación y con predisposición a la periodontitis crónica.

Por lo tanto, debido al incremento en la prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 en México y a su constante aumento, así como la relación estrecha que presenta con la enfermedad periodontal, la detección del TNF- $\alpha$ -308 G/A, nos indica una relación entre este polimorfismo y las enfermedades mencionadas.

Determinar la presencia del polimorfismo TNF- $\alpha$ -308 G/A, permitió enfocar tratamientos a la prevención de la enfermedad periodontal y la diabetes mellitus, de acuerdo con la predisposición genética de cada individuo. Además, aumentar la información bibliográfica de este polimorfismo en particular, ya que es demasiado escasa, tanto en la detección y desarrollo del mismo, como en la relación con individuos latinos.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Determinar la presencia del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  en pacientes que presenten periodontitis crónica y/o diabetes mellitus tipo 2.

### ESPECÍFICOS

1. Detección del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
2. Detección del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  en pacientes con periodontitis crónica.
3. Detección del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y periodontitis crónica.
4. Asociar los genotipos del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  a los grupos de estudio
5. Asociar los alelos del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$
6. Determinar el factor de riesgo del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  en los pacientes estudiados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### DISEÑO

Estudio experimental, transversal y prospectivo de casos y controles

### POBLACIÓN DE ESTUDIO

#### 1. UNIVERSO

Pacientes que acudieron a la Facultad de Odontología de la UADY en el periodo de octubre 2016 a marzo del 2017.

#### 2. MUESTRA

202 pacientes que acudieron al programa de Especialización en Periodoncia de la Facultad de Odontología de la UADY y presentaron periodontitis crónica y/o diabetes mellitus tipo 2 de octubre de 2016 a marzo del 2017

El trabajo se realizó en la clínica del programa de Especialización en Periodoncia de la Facultad de Odontología y en el laboratorio de Biología Celular del Centro de Investigaciones Regionales Unidad Biomédica “Dr. Hideyo Noguchi” (CIR-B) de la UADY. Se estudiaron pacientes adultos de uno u otro género, que acudieron a dicha área de la Facultad, en el periodo octubre de 2016 a marzo del 2017.

Se realizó historia clínica, índice de placa, sondeo periodontal a cada paciente que presentó diabetes mellitus tipo 2, y/o periodontitis crónica. Se tomaron muestras sanguíneas de dichos pacientes, a través de punción venosa con Vacutainer, posteriormente fueron sometidas a un proceso de extracción de DNA, el cual se almacenó a -20°C hasta que se les realizó la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), para la detección del polimorfismo.

### 3. CRITERIO DE INCLUSIÓN

- 3.1 Pacientes entre 25 y 60 años de edad, que presenten periodontitis crónica y/o diabetes mellitus tipo 2.
- 3.2 Pacientes de ambos sexos.
- 3.3 Pacientes no emparentados.
- 3.4 Pacientes que aceptaron participar en el estudio

### 4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- 4.2 Pacientes que presenten otros compromisos sistémicos.
- 4.3 Pacientes fumadores.
- 4.4 Pacientes con tratamiento previo de antibióticos en los últimos 3 meses.
- 4.5 Pacientes con tratamiento periodontal en el último año.
- 4.6 Paciente embarazada o en lactancia.

### 5. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- 5.1 Pacientes en los cuales se obtengan muestras pequeñas de sangre o de la cual no se obtenga DNA de buena calidad.

## METODOLOGÍA

Se estudiaron pacientes adultos de uno u otro sexo provenientes del Departamento de Admisión de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán, en el periodo comprendido entre octubre de 2016 y marzo de 2017. A cada paciente se le realizó una historia clínica.

- 1. El paciente fue valorado individualmente.
- 2. Se registró el Índice de Higiene Oral.
- 3. Se le realizó un sondeo periodontal completo, para lo cual se empleó una sonda periodontal de Carolina del Norte.

Los pacientes se distribuyeron en dos grupos (grupo 1: casos; grupo 2: controles). El grupo uno o de casos se clasificó a su vez en tres subgrupos: el subgrupo 1, pacientes con

periodontitis crónica (POD); subgrupo 2 pacientes con periodontitis crónica y diabetes mellitus tipo 2 (POD/DM2); el subgrupo 3 pacientes con DM2 pero sin diagnóstico de POD.

Los pacientes periodontalmente sanos y sin DM2 fueron agrupados en el grupo 2 o grupo control. Estos sujetos demuestran radiográficamente un nivel óseo normal (esto es una distancia < 3mm entre la cresta alveolar y la unión cemento-esmalte y la presencia de cresta alveolar en un 95% de los sitios interproximales de cada diente). Ninguno de estos pacientes presentó algún desorden sistémico que pueda afectar la condición periodontal.

Una vez clasificados los pacientes en cada grupo, se les tomó una muestra de sangre periférica obtenida por venopunción de la fosa antecubital, la cual se recolectó en tubos con EDTA. Las muestras se codificaron y almacenaron a -70°C toda vez que el procesamiento se inició.

Las muestras de sangre obtenidas fueron utilizadas para la extracción y purificación de DNA mediante el kit comercial DNA Easy Blood and Tissue de la casa comercial Qiagen (43). El DNA se utilizó para determinar el polimorfismo TNF- $\alpha$  -308 G/A mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCRc) utilizando sondas TaqMan (Applied Biosystem) (44).

Tabla 1: Secuencias de las sondas TaqMan de los polimorfismos estudiados

<b>Polimorfismo</b>	<b>Rs</b>	<b>Reporteros</b>	<b>Secuencia</b>
<b>TNF<math>\alpha</math> -308</b>	1800629	VIC/FAM	GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G]GG ACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC

Tabla 2: Componentes y volumen para la reacción final de qPCR para la determinación de los polimorfismos -308 G/A del gen TNF-  $\alpha$ .

<b>Componentes</b>	<b>Volumen</b>	<b>Concentración final</b>
<b>Type-it Fast SNP Probe PCR Master Mix 2x</b>	2.5 $\mu$ L	1x
<b>20x sonda-primer mix</b>	0.125 $\mu$ L	1x, 0.9 $\mu$ M, 0.2 $\mu$ M sonda
<b>Solución Q 5x</b>	0.5 $\mu$ L	0.5x
<b>Agua libre de RNasas</b>	variable	-

Protocolo de sondeo.

Se midió la profundidad del surco gingival o bolsa periodontal y la pérdida de inserción con una sonda periodontal de Carolina del Norte. Se sondearon todos los dientes presentes en boca de los pacientes de ambos grupos de estudio, de acuerdo con el criterio clínico propuesto en el Taller Internacional para la Clasificación de las Condiciones y Enfermedades Periodontales en 1999 y el consenso reportado en el 5° Taller Europeo en Periodontología (6).

Así también se les realizaron pruebas de laboratorio para determinar el control metabólico y validar el diagnóstico para diabetes mellitus tipo 2.

Para tal fin se realizaron las siguientes pruebas:

- Glucosa en sangre
- Hemoglobina glucosilada

Plan de procesamiento de datos y presentación de resultados

Todos los datos de los pacientes se fueron capturados en una hoja de cálculo que concentró esa información junto con los resultados obtenidos en el estudio. Estos datos se procesaron con el programa estadístico SPSS versión 17. Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo TNF- $\alpha$  -308 G/A por conteo simple en todos los sujetos estudiados, tanto para casos como para controles y se analizó su distribución de acuerdo con los parámetros poblacionales para el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se determinó la asociación de los polimorfismos con el riesgo para POD y/o

DM2, mediante análisis univariados (prueba de Chi cuadrada, p de Fisher y razón de momios) y posteriormente también un análisis multivariado una vez identificados los valores de asociación  $p \leq 0.5$ . Cada uno de los subgrupos de los casos se analizaron contra el grupo control.

#### ASPECTOS ÉTICOS.

Este proyecto se sometió a evaluación al Comité de Bioética del CIR Biomédicas de la UADY. Después de la apropiada evaluación y aceptación del protocolo propuesto por la instancia correspondiente, se procedió con la recolección de la muestra propuesta con anterioridad.

Todos los individuos fueron invitados a participar en el presente estudio, por lo que se les solicitó la firma de su consentimiento libre e informado, garantizándoles anonimato y confidencialidad, así como la seguridad, en caso de no aceptar participar, de que seguirían recibiendo la atención sin cambio alguno, de acuerdo con los lineamientos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo del año 2000. Nota de aclaración en párrafo 29 añadido por la Asamblea Médica Mundial, Washington 2002, nota de aclaración del párrafo 30, añadido por la Asamblea Médica Mundial, Tokio 2004. No se condicionó la atención a los pacientes en caso de no aceptar participar en el estudio, así como tampoco se suspendió la misma, si en algún momento decide retirarse del mismo.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se reporta la descripción de la población. Se observó una diferencia significativa entre el grupo de casos y controles en cuanto al sexo, pérdida de inserción, hemoglobina glucosilada y glucosa en sangre.

Tabla 1. Descripción de la población.

GRUPOS n=200	Sexo		Edad*	PI	Glucosa en sangre	HbA1c	
	Femenino n=132 (65.3%)	Masculino n=70 (34.6%)	Media ± SD (Ranges)	Media ± SD (Ranges)	Media ± SD (Ranges)	Media ± SD (Ranges)	
<b>Casos</b>	PC n=5 2	37 (71.2%)	15 (28.8%)	46.71 ±12.15 (25- 65)	2.85±0.83 (1.70- 5.60)	94.55 ±10.15 (75-123)	5.39 ±0.47 (4.30- 6.10)
	DM 2 n=5 0	34 (68%)	16 (32%)	53.18 ± 9.96 (32-65)	1.99 ± 0.45 (1.10-3.30)	154.96 ±81.70 (78- 383)	7.63 ±1.83 (4.8- 11.90)
	PC/ DM 2 n=5 0	32 (64%)	18 (36%)	51. 78 ± 9.96 (25- 65)	2.90±1.1 (1.60-7.20)	199.38 ± 96.18 (68- 460)	8.13 ±1.90 (4.90-12)
<b>Controles</b> n=50	29 (58%)	21 (42%)	36.0±13.34 (25 – 65)	1.93±0.36 (1.50- 3.60)	95.76 ±14.96 (75- 151)	5.57 ±0.69 (4- 8.3)	

PI: pérdida de inserción; PC: periodontitis crónica; DM2: Diabetes mellitus tipo 2, \*p<0.05.

En la Tabla 2, 3 y 4 se observó que el genotipo encontrado con mayor frecuencia en la población de estudio es GG, siendo éste el “normal” para la población. El genotipo AA ( heterocigoto mutado) no se encontró presente en ningún sujeto de estudio. El genotipo GA se encontró con una mayor frecuencia en el grupo de casos con EP (18%), DM2 (32%) y DM2/EP (28%) en comparación con el grupo control (4%). Resultados estadísticos reportan una asociación de hasta un 12.70 mayor factor de riesgo de presentar

PC al tener presente el genotipo GA. En cuanto a DM2 se observó un mayor factor de riesgo del 11.29 y un 9.33 en cuanto al grupo de DM2/EP. Con respecto a las frecuencias alélicas, el alelo G “normal” fue el mayormente reportado en el grupo de controles (98%). El alelo A de “riesgo” se presentó con mayor frecuencia en el grupo de casos de EP (18%), DM2 (16%), DM2/EP (14%) en comparación del grupo control (2%). Se reportó una asociación al presentar el alelo de riesgo de 10.25 mayor factor de riesgo para EP, 9.33 para DM2 y del 7.97 para DM2/EP.

Tabla 2. Asociación de casos EP y controles.

<b>TNF-308 G/A</b>					
	Frecuencias genotípicas			Frecuencias Alélicas	
	GG	GA**	AA	G	A**
<b>Casos (EP)</b>	34 (65%)	18 (35%)	0 (0%)	86 (86%)	18 (18%)
<b>Controles</b>	48 (96%)	2 (4%)	0 (0%)	98 (98%)	2 (2%)
<b>OR</b>		12.70	--		10.25
<b>95% CI</b>		2.76-58.41	--		2.31-45.47

GG: genotipo silvestre; GA: genotipo heterocigoto; AA: genotipo homocigoto mutado; OR: odds ratio, \*\*p<0.01

Tabla 3. Asociación de casos DM2 y controles.

<b>TNF-308 G/A</b>					
	Frecuencias genotípicas			Frecuencias Alélicas	
	GG	GA**	AA	G	A**
<b>Casos (DM2)</b>	34 (68%)	16 (32%)	0 (0%)	84 (84%)	16 (16%)
<b>Controles</b>	48 (96%)	2 (4%)	0 (0%)	98 (98%)	2 (2%)
<b>OR</b>		11.29	--		9.33
<b>95% CI</b>		2.43-52.38	--		2.08-41.77

GG: genotipo silvestre; GA: genotipo heterocigoto; AA: genotipo homocigoto mutado; OR: odds ratio, \*\*p<0.02

Tabla 4. Asociación de casos DM2/EP y controles.

<b>TNF-308 G/A</b>					
	Frecuencias genotípicas			Frecuencias Alélicas	
	GG	GA**	AA	G	A**
<b>Casos (DM2/EP)</b>	36 (72%)	14 (28%)	0 (0%)	86 (86%)	14 (14%)
<b>Controles</b>	48 (96%)	2 (4%)	0 (0%)	98 (98%)	2 (2%)
<b>OR</b>		9.33	--		7.97
<b>95% CI</b>		1.99-43.68	--		1.76-36.09

GG: genotipo silvestre; GA: genotipo heterocigoto; AA: genotipo homocigoto mutado; OR: odds ratio,  
\*\*p<0.004

## DISCUSIÓN

Se ha reportado que múltiples factores genéticos pueden afectar el desarrollo de diversas patologías. Específicamente, distintas variantes alélicas pueden dar lugar a variaciones en la estructura de los tejidos (inmunidad innata), en la respuesta de anticuerpos (inmunidad adaptativa) y en los mediadores inflamatorios (inflamación inespecífica) (25).

La inflamación ha sido ampliamente conocida como un desencadenante de altos niveles de citocinas proinflamatorias, incluidas IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ .(45). Se ha reportado al TNF- $\alpha$  como una citocina que ejerce su función como un potente agente proinflamatorio, secretada por macrófagos y linfocitos T observándose efectos biológicos que abarcan protección contra infecciones, respuesta contra tumores y estimulación de respuestas inflamatorias (46).

Existe evidencia de múltiples polimorfismos ubicados en la región promotora del gen TNF- $\alpha$  observándose una mayor síntesis de la misma así como una predisposición de presentar enfermedades inflamatorias crónicas (47). Se ha estudiado que ante la presencia de la variante alélica A del polimorfismo -308 G/A del gen TNF- $\alpha$  provocando una replicación del gen de hasta tres veces bajo un estímulo que desencadene una respuesta inmunitaria (48).

Shapira y cols (2001) reportaron en su estudio realizado en población isreali la presencia del genotipo G/A con mayor frecuencia en pacientes con PC (70%) (49). Donati y cols (2005). reportaron una frecuencia más alta (65%) del genotipo (G/A) a comparación de los sujetos sanos (35%) en población rusa, esto similar a lo observado en nuestro estudio donde el genotipo (G/A) se observó en un 89% en el grupo de casos (50). Fassmann y cols (2003) reportaron una frecuencia similar de este genotipo en el grupo de casos (50%) y en el grupo de controles(50%). De igual forma, reportaron la presencia del genotipo homocigoto mutado (A/A) con una frecuencia del .8%, dato contrario al presente estudio e n el que no se obtuvo ningún sujeto de estudio portador del genotipo(51).

Yang y cols. (2013) reportando una frecuencia similar para el alelo de riesgo (alelo A) entre el grupo de pacientes con PC (52%) y pacientes sanos (48%), esto en población

china(52). Giovanetti y cols. (2008) reportaron resultados similares entre sus grupos de casos (50%) y controles (50%) (40). En el presente estudio, se observó una mayor frecuencia entre el grupo de casos (89%) a comparación del grupo control (11%), difiriendo de los estudios previamente mencionados.

La presencia de altos niveles de TNF- $\alpha$  puede perjudicar las vías de señalización de insulina y conducir a la destrucción de las células beta del páncreas, El incremento de TNF- $\alpha$  se considera como un factor importante en el desarrollo de DM2 (53). Golsani y cols.(2015) presentaron un estudio realizado en una población Iraní, en el que se centraron en la asociación entre -308 G/ A del gen TNF-a y DM2. Ellos reportaron que la frecuencia alélica del alelo A de esta variante fue significativamente diferente ( $p=0.006$ ) entre los grupos de caso y control (16% vs. 8%) (45). Los resultados se observan similares a los obtenidos en este estudio, el cual reporto un diferencia significativa ante la presencia del alelo A entre ambos grupos ( $p=0.003$ ) presentándose este alelo en un 16% en cuanto al grupo de casos . En cuanto al grupo control se observó en nuestro estudio una presencia menor de éste alelo (2%). Hamann y cols. (1995) reportaron no encontrar ninguna diferencia en las frecuencias de los alelos del polimorfismo -308 G / A TNF-a entre los pacientes con DM2 y el grupo control (53). En otro estudio correspondiente a una población Egipcia, reportaron Elsaid y cols. (2012) no encontrar ninguna diferencia en el alelo A de esta variante entre grupos de caso y control (54). Kubaszek y cols. (2003) reportaron sobre un población finlandesa, que el alelo de riesgo (A) tenía una asociación con un riesgo dos veces mayor (1.80) para DM2 (55). Esto difiere a lo reportado en este estudio que presentó un factor de riesgo de 9.33 al presentar el alelo A.

En base a los resultados observados en el estudio presente, las frecuencias del genotipo G/ A muestran una diferencia significativa ( $p=0.002$ ) entre los individuos de grupos de casos y controles y un factor de riesgo mayor del grupo de casos de 11.29. En comparación, el estudio realizado por Golshani y cols. (2015) refiere presentar una diferencia significativa ( $p=0.001$ ) en cuanto a la presencia del genotipo G/A presentando un factor de riesgo de presentar DM2 de 2.24, menor a lo reportado en nuestro estudio (45).

Heijmans y cols. (2002) informó que los individuos de su población portadores del genotipo homocigoto A/A tiene un riesgo 4.6 veces mayor de presentar DM2 que un individuo con el genotipo G/G . Nuestros resultados no reportaron la presencia del polimorfismo homocigoto mutado (A/A) (56).

Resultados estadísticos reportan una asociación de hasta un 9.33 mayor factor de riesgo de presentar PC en combinación con DM2 al tener presente el genotipo GA. El alelo A de “riesgo” se presentó con mayor frecuencia en el grupo de casos DM2/EP (14%) en comparación del grupo control (2%). Se reportó una asociación al presentar el alelo de riesgo de 7.97 para DM2 en combinación con EP. No se encontraron reportes de estudios que presentaran asociación de la presencia del polimorfismo y la presencia de DM2 y EP.

## CONCLUSIONES

Con los datos se puede concluir que los sujetos con el genotipo G/A y el alelo A (polimorfismo -308 G/A) del gen TNF- $\alpha$  presentan un factor de riesgo mayor para enfermedad periodontal, diabetes mellitus tipo 2 y ambas patologías según lo observado en la población estudiada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México, 2016.
2. Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales SIVEPAB 2009. Primera edición, septiembre de 2010
3. Federación Internacional de Diabetes. ATLAS de la DIABETES de la FID. 2017;6(1):1-155.
4. Newman G, Takei H, Carranza A. Periodontología Clínica. 10ª ed. Philadelphia: Mc Graw Hill; 2010.
5. Nassar H, Kantarci A, Van T. Periodontitis en el diabético: un modelo para la activación de la inmunidad innata y la deficiencia en la resolución de la inflamación. Periodontology 2000 (Ed Esp).2008;18:150-6.
6. Lindhe J, Lang N, Karring T. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana;2008.
7. Cabrera E, Suárez L, Díaz O, Díaz O. Nuevos criterios para clasificar la diabetes mellitus. Rev Cubana Endocrinol.2000;11(1):51-2.
8. Echeverría J. Periodoncia e Implantología. Primera edición. Editorial Oceano/Ergon .2013.
9. Yoshie H., Kobayashi T., Tai H. El papel de los polimorfismos genéticos en la periodontitis. Periodontology 2000.2009;19:171-8.
10. Rodríguez A. Belmont F. Periodontitis asociada a enfermedad sistémica en el paciente pediátrico: revisión de literatura.2010; 22(2).
11. Loghmani E. Diabetes Mellitus: type 1 and type 2. Guidel Adolesc Nutr Serv. 2005;167–82.
12. Gomis R, Rovira A, Feliu J, Oyarzábal M. Tratado SED de Diabetes Mellitus. Madrid: Médica Panamericana; 2007.
13. Diabetes DOF. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care.2012;35(1):64–71.

14. Arteaga A, Maiz A., Olmos P, Velasco N. Diabetes Mellitus:Definición y patogenia. Escuela de Medicina. P. Universidad Católica de Chile;1997.
15. Lalla R, D' Ambrosio J. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. JADA. 2001;132:1425–32.
16. Castellanos J, Díaz L, Gay O. Medicina en Odontología. Manejo dental de pacientes con enfermedades sistémicas.México. 2ª ed.México: Manual Moderno; 2002.
17. Sanz-Sánchez I, Bascones-Martínez A.Diabetes mellitus: Su implicación en la patología oral y periodontal. Av. Odontoestomatol.2009; 25(5):249-263.
18. Martínez A, Gonzalez F, Nicolau O, Suarez B. Manifestaciones orales en portadores de diabetes Mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico. AMC. 2010;14(1).
19. Brian A, Mark P. Becker, Shlossman M, Knowler W, PettittW, *et al.* Severe Periodontitis and Risk Poor Glycemic Control in Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. J Periodontol. 1996; 67(10):1085-93.
20. Malacara J. El Enigma de las Causas de la Diabetes Mellitus tipo 2. Acta Universitaria de la Universidad de Guanajuato. 2003;13(1):5-17.
21. Sanchez A. Protocolos Diabetes Mellitus tipo 2. La diabetes como enfermedad sistémica. Sociedad Española de Medicina Interna y Elsevier España.2010;1(1):4-7.
22. The advance Collaborative Group. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med.2008;358:380-91.
23. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Base de datos del Sistema de Notificación Semanal SUAVE (información preliminar)/DGAE/Secretaría de Salud),1998- 2012.
24. Straka L. Oral manifestations of diabetes mellitus and influences of periodontological treatment on diabetes mellitus.Bratisl Lek List.2011;112(7):5–9.
25. Rodríguez A. Belmont F. Periodontitis asociada a enfermedad sistémica en el paciente pediátrico: revisión de literatura.2010;22(2).
26. Garzón V., Olmos M., Mota V. Terapia periodontal no quirúrgica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en descontrol. Rev Mex IMSS. Vol. 51. 2013.

27. Rodríguez L., Padrón R. Impacto sobre la ética estomatológica en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal, *Bioética* [revista en internet].2005;5(3):4-6.
28. Escudero N., Perea M., Bascones A. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol*. 2008;20:27-37.
29. Lozano E., Reza O., Urtiz N. Polimorfismos genéticos asociados a diabetes mellitus tipo 2. *Rev Mex ciencias farmacéuticas*. 2010;41(4).
30. IK Campbell, LJ Roberts, IP Wicks: Molecular targets in immune-mediated diseases: the case of tumour necrosis factor and rheumatoid arthritis. *Immunology and Cell Biology* .2003;81; 354–366.
31. Trujillo K. Frecuencia de los polimorfismos G-308A Y G-238<sup>a</sup> del gen TNFa en pacientes con Esteatohepatitis no alcohólica (NASH) asociada a obesidad[tesis maestría].Universidad Autónoma de Nuevo León,2013.
32. Field M. Tumor necrosis factor polymorphisms in rheumatic diseases. *Q J Med* 2001;94:237-46.
33. Bouma G, Crusius JBA, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, Von Blomberg BME, Kostense PJ et al. Secretion of tumour necrosis factor and lymphotoxin in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol*.1996;43:456-63.
34. Llanos C., Soto L., Saburgo F., Bastias M., Salazar L., Aguillón J., Cuchacovich M. Papel de los polimorfismos -238 y -308 del promotor del factor de necrosis tumoral alfa en la patogenia y respuesta al tratamiento anti- factor de necrosis tumoral alfa en artritis reumatoide. *Rev. méd. Chile* v.2005;133(9).
35. Aguillón J., Cruzat A., Cuenca J., Cuchacovich M. El polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral alfa como factor de riesgo en patología. *Rev. méd. Chile* v.2002;130(9).
36. Heijmans BT, Westendorp RG, Droog S, Kluft C, Knook DL, Slagboom PE. Association of the tumour necrosis factor alpha -308G/A polymorphism with the risk of diabetes in an elderly population-based cohort. *Genes Immun*.2002;3:225-8.

37. Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun.*2004;5:315-29.
38. Wilson AG, Di Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor a promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 3195-9.
39. Cuenca J, Pérez CA, Aguirre AJ, Schiattino I, Aguillón JC. Genetic polymorphism at position-308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in the Chilean population. *Biol Res* 2001;34:237-41.
40. Giovannetti N. Vieira A. Lack of association between the TNF- $\alpha$  -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians. *Braz. oral res.*2008;22(4).
41. Taboada E. y col. Evaluación del Factor de Necrosis Tumoral (TNF-alfa) en pacientes peruanos con procesos periodontales. *Odontol. Sanmarquina.*2007; 10(1):28-30.
42. Martínez J. Papel de las Células, Citoquinas, Factor de Necrosis Tumoral (TNF), RANK y RANKL en la Enfermedad Periodontal. *Revista Europea de Odontoestomatología.*2008.
43. Nakayama T, Soma M, Rahmutula D. Isolation of the 5' flanking of genes thermal asymmetric interlaced polymerase chain reaction. *Med Sci Monit.* 2001;7:345-9.
44. Moreta A, Nakayama T, Doba N. Genotyping of triallelic SNPs using TaqMan PCR. *Molecular and Cellular Probes.* 2007;21:171-176.
45. Hasan Golshani a , Karimeh Haghani b , Majid Dousti c , Salar Bakhtiyari. Association of TNF-a 308 G/A Polymorphism With Type 2 Diabetes: A CaseControl Study in the Iranian Kurdish Ethnic Group. *Osong Public Health Res Perspect.*2015;6(2),94-99.
46. Pan F, Tian J, Ji C, He Y, Han X, et al. Association of TNF-alpha-308 and -238 polymorphisms with risk of cervical cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.*2012;13(11):577-83.
47. Verweij, CL. Tumor necrosis factor gene polymorphisms as severity markers in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.*1999;4(1):39-52.

48. Kroeger K, Steer J, Joyce D. Effects of stimulus and cell type on the expression of the -308 tumour necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine*.2000;12(2):110–19.
49. Shapira L, Stabholz A, Rieckmann P, Kruse N. Genetic polymorphism of the tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  promoter region in families with localized early-onset periodontitis. *J Periodont Res*.2001;36(3):183-6.
50. Donati M, Berglundh T, Hytonen A-M, Hahn-Zoric M, Hanson L, Padyukov L. Association of the 159 CD14 gene polymorphism and lack of association of the 308 TNFA and Q551R IL-4RA polymorphisms with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol*.2005;32(5):474–479.
51. Fassmann A, Izakovicova L, Buckova D, Vasku A, Znojil V, Vanek J. Polymorphisms in the +252(A/G) lymphotoxin- $\alpha$  and the )308(A/G) tumor necrosis factor- $\alpha$  genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population. *J Periodont Res*.2003; 38; 394–399.
52. Yang W, Jia Y, Wu H. Four tumor necrosis factor alpha genes polymorphisms and periodontitis risk in a Chinese population. *Human Immunology*.2013;74(12):1684-7.
53. Hamann A, Mantzoros C, Vidal-Puig A, et al. Genetic variability in the TNF- $\alpha$  promoter is not associated with type II diabetes mellitus (NIDDM). *Biochem Biophys Res Commun* 1995 Jun; 211(3):833e9
54. Elsaid A, Helaly MA, Hatata EZ, et al. TNF- $\alpha$ -308 and INF $\gamma$ p874 Gene polymorphisms in relation to susceptibility and severity of type 2 diabetes mellitus among Egyptian cases. *Eur J Gen Med*.2012;9(3):173-77
55. Kubaszek A, Pihlajamaki J, Komarovski V, et al. Promoter polymorphisms of the TNF- $\alpha$  (G-308A) and IL-6 (C-174G) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*.2003;52(7):1872-76
56. Heijmans BT, Westendorp RG, Droog S, et al. Association of the tumour necrosis factor alpha -308G/A polymorphism with the risk of diabetes in an elderly population-based cohort. *Genes Immun*.2002;3(4):225-28



ANEXO 1:

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATÁN.



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PERIODONCIA

---

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

Estimado Paciente:

Por este medio se le invita a participar en la investigación denominada: “Detección del polimorfismo TNFa-308 G/A en pacientes con periodontitis crónica y diabetes mellitus tipo 2”. En caso de aceptar deberá firmar esta hoja como consentimiento de su participación, la cual consiste en proporcionar una muestra sanguínea para la detección en laboratorio, del polimorfismo TNFa-308 G/A. La muestra es gratuita y no recibirá pago alguno por ella.

Este estudio no representa peligro para su salud y en caso de no aceptar participar, no modificará en absoluto la calidad de su atención.

Los resultados de dicho estudio son completamente anónimos y servirán para ampliar los conocimientos acerca de este polimorfismo y las enfermedades relacionadas a él. Con el fin de brindarles mayor información de todo lo relacionado al tema. De antemano agradezco su cooperación y me pongo a su disposición.

Nombre y firma de autorización:

---

Nombre y firma del responsable:

---

Nombre y firma del testigo:

---

ANEXO 2.

**MANDIBLE**

Chart #: \_\_\_\_\_

					MOBILITY (0-3)										Date	
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	

RECESSION

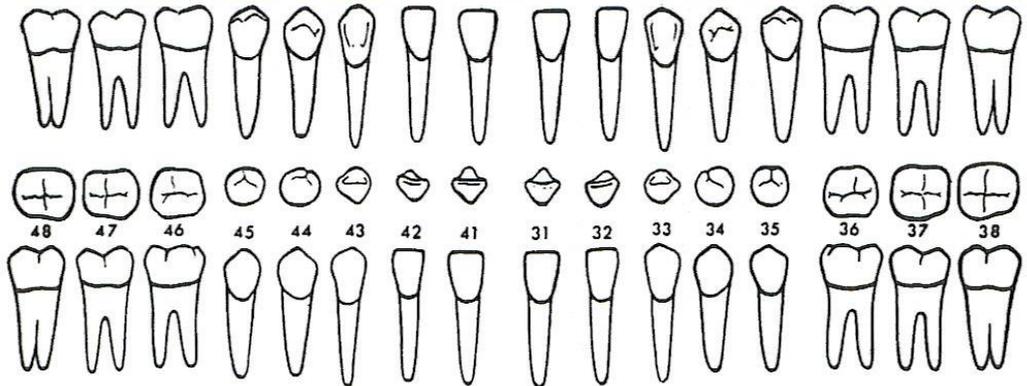
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

BLEEDING ON PROBING

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

PROBING DEPTH

48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	Date



L I N G U A L  
F A C I A L

PROBING DEPTH

48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	Date

BLEEDING ON PROBING

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

RECESSION

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

AMOUNT OF ATTACHED GINGIVA

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

Date:	Signature:

