



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA**

***INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES GENÉTICAS A
NIVEL DEL CLUSTER DE LA IL-1 EN EL
AGRANDAMIENTO GINGIVAL EN ORTODONCIA***

**TESIS DOCTORAL
INMACULADA MAZO MOJARRO**

SEVILLA, 2017

[Escriba aquí]

DIRECTORES
ENRIQUE SOLANO REINA
ALEJANDRO IGLESIASLINARES

[Escriba aquí]

AGRADECIMIENTOS

[Escriba aquí]

Al Dr. Enrique Solano Reina, por abrirme las puertas de su Máster, transmitirme sus conocimientos y permitirme cumplir el sueño de ser ortodoncista y formar parte de esta gran familia.

Al Dr. Alejandro Iglesias Linares, un especial agradecimiento por su paciencia, su valiosa dirección, su apoyo, ánimo y consejos, cuya experiencia y sabiduría han sido mi fuente de motivación, dándome la oportunidad de aprender en este camino de Tesis.

A mis compañeras de Máster, por enseñarme el valor de la amistad, hacerme pasar momentos inolvidables entre horas de trabajo y ayudarme a lograr un sueño.

A mis padres, por su apoyo y cariño incondicional, por ayudarme a levantarme en los momentos de crisis, por enseñarme el camino del trabajo y de la superación personal, sin ellos nada de esto sería posible.

A Lucas por estar siempre a mi lado.

[Escriba aquí]

ÍNDICE

[Escriba aquí]

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. El proceso inflamatorio a nivel general y periodontal.....	9
1.1.1. Inflamación en ortodoncia.....	10
1. 2. Mediadores de la inflamación.....	12
1.2.1. Interleukina 1.....	14
1.2.1.1. Concepto.....	14
1.2.1.2. Composición proteica y receptores.....	14
1.2.1.3. Síntesis y regulación.....	15
1.2.1.4. Funciones.....	17
1.3. Hiperplasia gingival.....	19
1.3.1. Concepto.....	19
1.3.2. Tipos de gingivitis.....	20
1.3.3. Patogenia de la gingivitis producida por placa.....	26
- 1.3.4. Gingivitis en Ortodoncia.....	27
1.3.5. Papel de la interleukina en la gingivitis.....	28
1.3.6. Tratamiento y prevención de la gingivitis.....	29
1.4. Medición del grado de inflamación.....	29
1.4.1. Índices de inflamación gingival.....	29
1.4.2. Índices de hemorragia gingival.....	31
1.4.3. Métodos de medición del nivel de IL-1 en el fluido crevicular.....	32
1.5. Microbiología de la Placa bacteriana.....	33
1.5.1. Composición de la placa bacteriana en el ámbito oral.....	33
1.5.2. Influencia de la ortodoncia fija en la flora bacteriana subgingival.....	37
1.6. Genoma humano.....	39
1.6.1. Diversidad del genoma. Polimorfismos.....	39
1.6.1.1. Polimorfismo en regiones codificantes y no codificantes	
1.6.2. Las variaciones genéticas en el cluster de genes de la interleukina 1.....	41
1.6.3. Pacientes con variaciones genéticas específicas a nivel del genotipo del cluster de genes de la interleukina 1 y su variación en la respuesta inflamatoria frente a microorganismos.....	42

[Escriba aquí]

<u>2. HIPOTESIS DE TRABAJO</u>	45
<u>3.OBJETIVOS</u>	47
3.1. Objetivos generales	
3.2. Objetivos específicos	
<u>4. MATERIAL Y METODOS</u>	
4.1. Población de estudio y cálculo del tamaño muestral.....	49
4.1 Población de estudio.....	49
4.2 Cálculo del tamaño muestral.....	49
4.2. Toma de la muestra y análisis del ADN.....	50
4.3. Cuantificación numérica mediante el índice Área de Inflamación gingival.....	50
4.3.1. Conceptualización y desarrollo matemático del AIG.....	50
4.3.2. Protocolo de toma de muestra y empleo del AIG.....	52
4.4. Variables clínicas analizadas.....	53
4.5. Análisis estadístico.....	54
4.5.1. Cálculo del error intraobservador y precisión del método.....	54
4.5.2. Determinación de la asociación de variables clínicas y genéticas con la inflamación gingival.....	55
<u>5. RESULTADOS</u>	57
5.1. Muestreo y distribuciones genotípicas y alélicas en la población diana ...	57
5.2. Asociación del riesgo agrandamiento gingival inflamatorio secundario a tratamiento ortodóncico y el perfil genético a nivel del <i>cluster</i> de genes de la <i>ILI</i>	64
5.3. Normalización de la interferencia del agrandamiento gingival inflamatorio secundario a tratamiento ortodóncico con diferentes factores clínicos interferentes....	64
<u>6. DISCUSIÓN</u>	68
<u>7. CONCLUSIONES</u>	76
<u>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	78
<u>9.ABREVIATURAS</u>	97

[Escriba aquí]

INTRODUCCIÓN

[Escriba aquí]

INTRODUCCIÓN

1.1 Inflamación.

La respuesta inflamatoria consiste en la liberación secuencial de mediadores y el reclutamiento de leucocitos circulantes que se activan en el sitio de la inflamación, liberando mediadores adicionales. En la mayoría de los casos, este proceso se resuelve mediante factores antiinflamatorios endógenos (citoquinas antiinflamatorias), así como factores negativos reguladores intracelulares que producen la desaparición de las células inflamatorias. Sin embargo, la acumulación persistente y la activación de leucocitos son un signo de inflamación crónica, lo que sugiere una disfunción de los mecanismos de regulación.

Existen diferentes vías de activación de la inflamación. Las proteínas NF- κ B juegan un papel central en la inflamación mediante la regulación de los genes que codifican las citoquinas proinflamatorias, moléculas de adhesión, quimiocinas, factores de crecimiento y enzimas inducibles como la ciclooxigenasa 2 (COX2) y la óxido nítrico sintasa (iNOS) (1). De esta manera tras la estimulación extracelular se activan las citoquinas proinflamatorias incluyendo el factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1, y patógenos como componentes bacterianos (LPS) incluyendo lipopolisacáridos a través de los receptores Toll-like (2). Estas citoquinas actúan produciendo señales que convergen en la activación de la quinasas I κ B (IKK). La activación de IKK inicia la fosforilación de I κ B en residuos amino-terminales de serina. La fosforilación de I κ B produce la liberación del factor nuclear κ B (NF- κ B). (3)

En algunos individuos, las reacciones inmunes son inadecuadas o excesivas pudiendo derivarse en una enfermedad inflamatoria crónica. El factor de crecimiento tumoral (TGF) funciona como inmunosupresor o antiinflamatorio y es secretado por células T y otras células no linfocíticas. La falta de control en su secreción y regulación juega un papel importante en la inflamación crónica. (4)

Este factor (TGF) estimula otra vía de activación de la inflamación mediante señales que son transducidas con una familia de proteínas (Smads) que son sustratos para los receptores I y II del TGF. (5)

Las citoquinas, incluyendo interleucinas, interferones y células hematopoyéticas, son estructuras que modulan los procesos inmunológicos e inflamatorios. Esta clase de

[Escriba aquí]

citoquinas induce la homodimerización y la activación de sus receptores afines, lo que resulta en la activación de las quinasas asociadas (JAK 1, JAK 2, JAK3 y Tyk2). (6)Estas fosforilan los dominios citoplasmáticos de los receptores, lo que genera sitios de acoplamiento para proteínas de señalización. Algunos sustratos de fosforilación de la tirosona son miembros de las señales de transducción y activadores de la familia de proteínas de transcripción (STAT)(7,8).A pesar de que se pensaba que esta vía era activada por interferones, hoy se sabe que un gran número de citoquinas, factores de crecimiento y factores hormonales activan las proteínas JAK y/o STAT. (9)

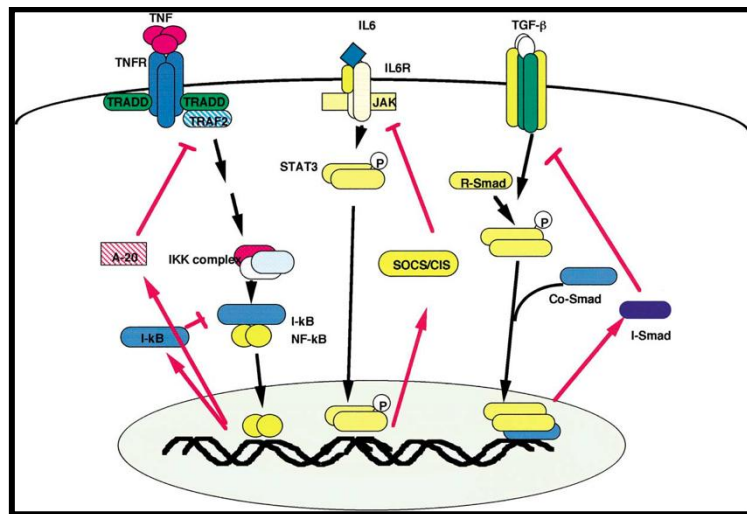


Figura 1. Esquema de retroalimentación negativa de la señalización de citoquinas.
Tomado de Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. Cytokine Growth Factor Rev. 2002 Aug-Oct; 13(4-5):413-21.(9)

1.1.1 Inflamación en ortodoncia

La colocación de aparatología fija ortodóncica favorece el acúmulo de placa dental alrededor de los brackets, bandas y adhesivo de ortodoncia. La higiene se vuelve más difícil para el paciente, la composición de la flora oral cambia produciendo la colonización de nuevas bacterias periodontopatógenas que desencadenan un proceso inflamatorio, resultado de la interacción huésped-bacteria(10,11). Cronológicamente, lo primero que ocurre es la adhesión de placa en la zona del surco gingival, desencadenando un proceso inflamatorio. Esta respuesta inflamatoria, es por tanto la primera reacción del huésped para eliminar las bacterias. Este proceso comienza con reacciones simples que se transforman en reacciones más complejas y elaboradas, hasta desencadenar respuestas más específicas. (12,13)

[Escriba aquí]

Ante los productos bacterianos tiene lugar un aumento de neutrófilos en la zona. Se produce entonces la extravasación de células como PMN y otras células inflamatorias desde los vasos sanguíneos a los tejidos, la expresión de moléculas en las paredes de los vasos y la atracción de factores quimiotácticos. Estas células pondrán en marcha desde los tejidos mecanismos para eliminar a las bacterias, en el caso de que no sea así, se activarán otras células produciéndose lesiones más avanzadas propias de la periodontitis.

Una de las principales contribuciones de Page y Schroeder en 1976 (14) fue la observación de que la lesión periodontal, que comienza como una inflamación aguda, genera una migración de neutrófilos y la formación de un infiltrado celular inflamatorio que pronto se convierte en dominado por los pequeños y medianos grupos de linfocitos y células T en su mayoría. Este infiltrado luego desarrolla un infiltrado inflamatorio completamente evolucionado dominado por las células B y células plasmáticas, pero que contiene también linfocitos T, macrófagos y neutrófilos.

En 1976, los mecanismos por los que se formaba el infiltrado, su composición y la función del subconjunto de células no se entendía. Además, los estudios retrospectivos estructurales que se habían realizado eran insuficientes. Posteriormente los estudios de Korman y col. (15) permitieron el avance en la aclaración de los detalles de la infiltración de leucocitos en los sitios de inflamación.

Las interacciones entre los leucocitos y las células del endotelio de los capilares resultan de la diapédesis. En las primeras etapas de esta interacción puede resultar de mastocitos derivados el factor de necrosis tumoral que conduce a la regulación de las moléculas endoteliales de adhesión celular. La estimulación de células podría ser el resultado de las conexiones neuronales con las células intraepiteliales de Langerhans. (16) La inflamación se desarrolla de manera específica y diferentes poblaciones de células inflamatorias se acumulan en el tejido conectivo y en el surco o bolsa. Los neutrófilos constituyen la mayoría de los leucocitos en el surco o en la bolsa periodontal, mientras que los macrófagos, linfocitos y células plasmáticas constituyen la mayoría de células en los tejidos conectivos. El antígeno específico de memoria, linfocitos activados, y células T positivas para el receptor y CD + presentadoras de antígeno migran selectivamente en los tejidos gingivales.

Los productos bacterianos e inflamatorios que regulan los conjuntos selectivos de moléculas de adhesión a leucocitos y células endoteliales, por lo tanto, determinan la cinética de la migración de las subpoblaciones de células específicas fuera de los vasos

[Escriba aquí]

y en el tejido. Además de la participación de moléculas de adhesión específica, la migración selectiva y la acumulación de leucocitos se determina por las quimiocinas descubiertas, una familia de bajo peso molecular, citoquinas con potentes propiedades quimiotáticas. La IL-8 es específica para los neutrófilos y una pequeña población de linfocitos y monocitos. A medida que empeora la inflamación, el epitelio de la bolsa se convierte en negativo y quimioatractivo de neutrófilos. (16)

Hay una producción de IL-8 e ICAM-1 como respuesta a los Lipopolisacáridos bacterianos, lo cual estimula a los neutrófilos. Estos generan MMP-8 y destruyen los productos bacterianos. También se produce IL-1beta, TNF alfa y PGE2 como respuesta a las bacterias, lo que estimula a su vez a los osteoclastos y la reabsorción ósea. (17)

Este evento temprano desencadena una respuesta inflamatoria aguda y la formación de un infiltrado celular inflamatorio que, en condiciones favorables, puede eliminar la infección. Darveau et al. (13) demuestran que el lipopolisacárido de *P. gingivalis* no tiene la capacidad de activar la expresión de selectina E por las células endoteliales; además, bloquea la expresión de selectina E de otras bacterias gram-negativas y sus lipopolisacáridos.

1.2 Mediadores de la inflamación

Citoquinas

Las citoquinas son proteínas que intervienen en las reacciones entre células inflamatorias, linfocitos, y otras células del tejido conectivo. Las producen múltiples células que transmiten señales intercelulares. (18)

En un primer momento no se supo que eran producidas por otras células y se las denominó linfoquinas. Tienen múltiples funciones, entre las que se encuentra la participación en la respuesta inflamatoria, inmunitaria, y en el desarrollo y diferenciación de las células.

Las interleuquinas son una subfamilia de las citoquinas; proteínas de bajo peso molecular, constituidas por 120-180 aminoácidos. Se unen a receptores específicos e inician cascadas de señales intracelulares que resultan en modificaciones en el fenotipo de la célula mediante la regulación de genes.

[Escriba aquí]

Son efectivas a bajas concentraciones y producidas de manera transitoria en los tejidos, donde actúan de manera primaria. Tienen múltiples efectos en un gran número de células y juegan un papel fundamental en la inflamación, incluyendo la enfermedad periodontal.

Existe una gran cantidad de interleuquinas, con múltiples funciones que controlan la respuesta del huésped. Algunas actúan sobre células próximas, células distantes o paracrinas, y algunas son capaces de actuar sobre la célula que la produce, de manera que autoestimulan su propia producción y la producción de otras citoquinas, denominándose autocrinas. La regulación en la liberación y acción de las interleuquinas depende de inhibidores y receptores. Cada citoquina puede tener múltiples funciones biológicas a partir de distintas células. (18,19)

La acumulación de células plasmáticas y linfocitos en los tejidos periodontales sugiere que las citoquinas intervienen en los cambios patológicos del periodonto.

Al principio, las citoquinas se llamaron según su actividad biológica. Estas incluyeron al factor quimiotáctico derivado de leucocitos (CTX, *leukocyte derived chemotactic factor*), factor activador de macrófagos (MAF, *macrophage activation factor*), la linfotaxina (LT), el de inhibición de migración de macrófagos (MIF, *migration inhibition factor*), y el factor activador de osteoclastos (OAF, *Osteoclast-activating factor*). (18)

Citoquinas proinflamatorias

Dentro del grupo de las citoquinas proinflamatorias, la IL-1, IL-6 y el factor de necrosis tumoral, han sido estudiados en muestras de GCF, encontrándose aumentados en zonas con inflamación. Los estudios afirman que la IL-1 actúa sobre los fibroblastos produciendo destrucción y reparación de la matriz celular. (20)

Citoquinas quimiotácticas.

Existe más de 20 citoquinas quimiotácticas. La IL-8 es una de las más importantes por su función sobre leucocitos, principalmente sobre neutrófilos, linfocitos y macrófagos. Su función es la activación de la respuesta defensiva y la interacción en las respuestas con mediación celular. (20)

Citoquinas señaladoras de linfocitos.

[Escriba aquí]

Son citoquinas que controlan la respuesta inmune ante el patógeno. Determinan el tipo de inmunoglobulina que producen, lo que tiene un efecto importante sobre la función de los anticuerpos.

La IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, son producidas por la TH2 o linfocito T. Este regula la respuesta de mediación celular e inmunitaria humoral por medio de las citoquinas. La IL-2 e interferón (IFN)-IFN γ , son liberados por los linfocitos TH1, que refuerzan las respuestas de mediación celular.

Yamazaki y colaboradores(21)en su estudio obtuvieron un aumento de linfocitos TH2 en las lesiones de gingivitis y periodontitis.

Actualmente a las citoquinas se las volvió a denominar interleuquinas por su comunicación interleucocitaria. Estas interleuquinas han sido numeradas del 1 al 10. algunas se han llamado según la función que realizan. (18)

1.2.1 Interleuquina 1 (IL-1)

1.2.1.1 Concepto

La IL-1 es una citoquina que se encontró en el año 1940 en exudados granulocíticos de humanos y animales con fiebre, conociéndose como pirógeno endógeno. (23)

Es una citoquina proinflamatoria con importantes funciones en la interacción celular, mediada en la inflamación crónica y aguda. Se encuentra aumentada junto con TNF y la IL-6 en muchas patologías, interviniendo en la respuesta inmunitaria, y asociándose a la gravedad de la enfermedad. Entre sus funciones locales, actúa en el flujo de células inflamatorias, la fractura de la matriz o la fibrosis. (24)

Aunque actúa en la defensa inmunitaria, la sobreproducción de esta citoquina conlleva una alteración en las funciones normales del huésped, por lo que la inhibición de sus funciones y de su síntesis es el blanco terapéutico de algunas enfermedades. (25,26)

Hay muchas células capaces de sintetizar IL-1, entre ellas encontramos macrófagos, monocitos, células endoteliales, astrocitos, células del músculo liso, basales sinoviales, dendríticas de la piel, intestinales, fibroblastos, gingivales, queratinocitos, microglía del sistema nervioso central, células placentarias, sanguíneas de recién nacido, células del nódulo linfático, células NK, linfocitos T de la sangre y linfocitos B normales o transformados.(27)

[Escriba aquí]

1.2.1.2.Composición proteica y receptores

La familia de citoquinas de la IL-1 tienen en común una secuencia de aminoácidos, la estructura del receptor, la vía de señal de transducción y probablemente provengan de la duplicación del mismo gen ancestral. (28)

Los seis miembros de la familia de la IL-1 fueron identificados en base a una secuencia homóloga, la localización de un gen, la unión al receptor y la estructura tridimensional proteica. (29)

En el brazo largo del cromosoma 2, en la región 2q12-q21 se encuentran la mayoría de los miembros de la familia de la IL-1.

Existen dos tipos de IL-1 que son codificados por genes separados del cromosoma 2 con un 26% de homología, la IL- β y la IL-1 α . (27)

La IL-1 se sintetiza como un precursor o pro IL-1 (31kDa). Este se transforma en un péptido maduro (17kDa) a partir de la fractura mediante proteasas carboxiterminal. Este péptido es la forma activa.(30)

La IL-1 alfa e IL-1beta actúan sobre los mismos receptores. Existen dos tipos de receptores para estas moléculas, la IL-1RI o proteína p80(receptor tipo I) y la IL-1RII o proteína p68 (receptor tipo II) que se localizan en la superficie de las células.(25)

Estos receptores son producidos por diferentes genes, tienen diferente afinidad de unión con la IL-1 y el tipo de señal de transducción es distinta. La regulación de su expresión y la velocidad de internalización también difiere entre ambos receptores, siendo el tipo II más rápido.(31)

Ambos receptores son de la familia de las inmunoglobulinas (Igs). El receptor tipo I tiene un segmento extracelular con tres dominios homólogos a la Ig, varios sitios para la glicosilación, una región citosólica y una porción transmembranal de unos 21 aminoácidos.(32)

Cuando la IL-1 se une al receptor tipo I produce un heterodímero con proteína accesoria del receptor (IL-1AcP), posteriormente el receptor IRAK activa una cinasa, mientras que otras cinasas transducen la señal al núcleo de la célula(TRAF 6, P1,3 cinasa, I κ B,MEKK y p38 MAPK).

El receptor tipo II difiere del primero en la parte citoplasmática que es más corta. Esto explica la diferente transducción de señales. Además, presenta también tres porciones extracelulares, que son similares a las del receptor tipo I en un 28%.(33)

[Escriba aquí]

1.2.1.3 Síntesis y regulación

Hay numerosas células que inducen la producción de IL-1. Citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), la IL-2, IL-3, I-12, productos bacterianos como Lipopolisacáridos (LPS), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), y factor de células madres.

Otros no microbianos como Sustancias Neuroactivas (sustancia P, anfetaminas), factores de injuria tisular, moléculas inflamatorias, factores de coagulación (Plasminógeno, trombina), moléculas inflamatorias (PCR, alfa-1-antitripsina), lípidos y medicamentos como bleomicina, colchicina, etc.

Los genes que codifican la producción de IL-1 son polimórficos y son la IL-1, IL-1B e IL-1RN. Estos genes pueden sufrir una mutación modificando un par de bases nitrogenadas por otra, produciendo una menor o mayor cantidad en la producción de la proteína, pudiendo lesionar los tejidos.

Recientes estudios han revelado el complejo proceso de secreción de IL-1b, requiriéndose dos señales: la primera es un “Toll-like” receptor que induce la transcripción de la pro-IL-1b, por ejemplo, la unión de lipopolisacáridos al receptor Toll-like 4, y una segunda señal adicional, (por ejemplo, ATP extracelular), lo cual se traduce en la activación de la caspasa 1 y la secreción de citoquinas maduras.

Dada las profundas consecuencias de la liberación incontrolada de citoquinas, está claro que la regulación biológica de este tipo de moléculas activas es una parte esencial de la respuesta inflamatoria e inmune.

Los inhibidores de las citoquinas suelen ser versiones solubles de los respectivos receptores, la rotura enzimática de la porción extracelular libera un fragmento soluble que retiene su capacidad de unirse a la citoquina.

Las propias citoquinas actúan como agonistas, y antagonistas; y los receptores regulan la actividad de estas moléculas. La IL-1b es inhibida por el receptor antagonista IL-1Ra y el receptor IL-1R2. La actividad agonista de IL-1F6, 1F8 e IL-1F9 se regula mediante la IL-1F5, un antagonista con estructura similar a la IL-1Ra que se une a IL-1R2. La IL-1F7 es antiinflamatoria y regula la liberación de citoquinas por parte de células estimuladas por LPS. El papel de la IL-1F10 no está claro, tiene una estructura similar a la de la IL-1Ra (y por lo tanto también IL-1F5), por lo que es probable que tenga actividad antagonista. (34)

[Escriba aquí]

Es imprescindible controlar la producción y las funciones de la IL-1 para el control de la patología, para ello el receptor antagonista (IL-1Ra), juega un papel fundamental.

El primer indicio de la existencia de este receptor fue en el año 1983. Se empezó a pensar que los enfermos con fiebre alta como artritis juvenil o artritis reumatoide que no presentaban un aumento de IL-1 en suero o orina, tenían alguna molécula que la inhibía.

Fue en 1987, cuando se aisló dicha molécula en la orina de pacientes con leucemia monocítica y se le denominó receptor antagonista de IL-1 o IL-1Ra.(33,35)

El receptor antagonista (IL-1Ra) es una glucoproteína de 22 Kda, cuya composición es similar a la IL-1alfa en un 19% y a la IL-1beta en un 26%. Su función consiste en inhibir la unión de la IL-1 a su receptor sobre linfocitos B, leucocitos polimorfonucleares y células T.(36)

El receptor antagonista tiene mayor afinidad de unión al receptor tipo I de la IL-1, que la propia IL-1. Su modulación consiste en la unión al receptor, lo que evita la formación del heterodímero (con IL-1AcP) y la transducción de la señal al núcleo. Otra manera de regular esta proteína es la unión al segmento citoplasmático corto del receptor tipo II, disminuyendo la unión al receptor I, ya que estos receptores tipo II se fragmentan de la célula en forma soluble uniéndose a la IL-1 en solución, evitando que esta citoquina alcance su célula diana.

La actividad de la IL-1 depende de dos proteínas, la IL-1alfa y la IL-1beta, que se unen a receptores I y II. Cuando se unen al primer tipo de receptor (IL-1RI) producen una señalización específica, mientras que la unión con el receptor tipo II no produce señalización, si no que funciona como señuelo.(37)

1.2.1.4 Funciones

La IL 1 es una citoquina que afecta a casi todos los tipos celulares, actuando sola o en conjunto con otras citoquinas o moléculas mediadoras. Se considera la citoquina pro inflamatoria más importante junto con el TNF. Su capacidad multifuncional se debe a la expresión de varios genes presentes en citoquinas inflamatorias, factores estimuladores de colonias, factores presentadores de linfocitos y factores de crecimiento mesenquimal. A bajas concentraciones la IL -1 funciona como mediador local de la inflamación. Sin embargo, cuando es secretada en grandes cantidades entra en el torrente sanguíneo y

[Escriba aquí]

ejerce funciones endocrinas. Esto incluye la capacidad para causar fiebre e inducir la síntesis de proteínas plasmáticas.(38)

Otra función importante es la respuesta y reconocimiento de todos los microorganismos colonizadores, patógenos y comensales. Hay una fuerte evidencia de que las bacterias comensales estimulan a bajos niveles la respuesta de las citoquinas en el periodonto, necesario para la respuesta inmune y el mantenimiento de la integridad tisular. Esta respuesta inmune aumenta en respuesta a los cambios en la composición de la placa cuando hay aumento de la bacteria patogénica.

La IL-1 tiene múltiples funciones a nivel local y sistémico, actuando sobre otras células y activando acciones inmunológicas e inflamatorias. Participan en la activación de los linfocitos B para la síntesis de anticuerpos, en la proliferación de linfocitos B, activación de linfocitos T, modulación de células endoteliales liberando a prostaglandina E2 (PGE2), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) prostaglandina I2 (PGI2), y en la síntesis de factor activador de plaquetas (PAF). Participa también en la quimiotaxis de neutrófilos y de las células mononucleares.(38,39)

La IL-1 produce un aumento del factor tisular procoagulante (PCA), de la actividad del PAF y aumenta la adhesión de PMN, leucocitos y monocitos. Produce una mayor liberación de PGE2 y mayor actividad de la hialuronidato sintetasa. Aumenta la síntesis de colágeno y la reabsorción ósea. Junto con el TNF, activan al RANKL, a los productos que destruyen la matriz extracelular, activan el cartílago, las metaloproteinasas de matriz (MMPs), eicosanoides y a la oxidasa del óxido nítrico (iNOS).(33)

En cuanto al papel de la interleuquina 1 en la reabsorción ósea, los estudios afirman que, junto con el TNF, participan a nivel local y sistémico en la inflamación y degradación de tejidos como cartílagos, tendones y matriz ósea, en pacientes con artritis reumatoide. Estas citoquinas, se han encontrado aumentadas en los tejidos gingivales de pacientes con inflamación gingival y enfermedad periodontal.(33, 40, 41)

Esta actividad ósea de la IL-1 se ha demostrado en estudios in vitro. Se ha observado niveles aumentados de IL-1 en el GCF de pacientes con reabsorción ósea. Además, en pacientes con osteoporosis, la gravedad de la enfermedad aumentaba con niveles más bajos de IL-1Ra.

[Escriba aquí]

La actividad ósea de la IL-1 reside en su unión a los osteoblastos, lo que activa a RANKL (factor activador del ligando NF-kB). Estos a su vez transforman a los osteoblastos precursores en maduros, estimulando la reabsorción ósea.

La IL-1 junto con el RANKL, activan a los osteoclastos maduros, acción que es inhibida por la osteoprotegerina (OPG), antagonista del RANKL.

Los estudios en pacientes con periodontitis concluyen que estos factores, se encuentran aumentados en el fluido crevicular o en la encía inflamada induciendo la reabsorción ósea, y que disminuyen tras el tratamiento periodontal.(42,43)

Los osteoclastos son las únicas células capaces de reabsorber la matriz ósea, por lo que sin ellos no se produciría pérdida ósea en los pacientes con periodontitis. La diferenciación y proliferación de nuevos osteoclastos, depende de factores de crecimiento, citoquinas y algunas hormonas.

Dentro de las moléculas que están presentes en la inflamación inducida por reabsorción ósea, se encuentran la IL-1, IL-6, IL-11, IL-17, quininas y trombina, factor transformante de crecimiento β (TNF- β), factor inhibitorio de leucemia (LIF) y factores de necrosis tumoral TNF α y TNF β .(40, 41)

1.3 HIPERPLASIA GINGIVAL

1.3.1 Concepto

Los términos hiperplasia e hipertrofia son clínicamente descriptivos. El término hiperplasia es histológico y se usa para describir un aumento en el tamaño de un órgano debido al incremento del número de células. Esta debe diferenciarse de la hipertrofia, que es un crecimiento gingival debido a un incremento en el volumen celular.

La gingivitis producida por placa es la hiperplasia (infección mixta inespecífica) de la encía marginal causada por bacterias. Para diagnosticar con precisión la inflamación gingival se recomienda el uso de índices que determinen la hemorragia del surco ya que el primer signo clínico de gingivitis es la hemorragia tras el sondaje. En estadios avanzados tiene lugar una hemorragia más intensa a la exploración, rubefacción y tumefacción edematosa. En etapas avanzadas se producen hemorragias espontáneas y a veces ulceraciones. La gingivitis puede no evolucionar a periodontitis a pesar de encontrarse en estadios avanzados con el tratamiento adecuado, puesto que es reversible.

[Escriba aquí]

Las enfermedades gingivales son patologías que afectan a la encía y tienen origen multifactorial. Su importancia radica en su gran prevalencia, afectando entre un 20-50% de la población, rango que varía según el sexo, la raza y la edad.(44,45)

La inflamación gingival afecta al 54% de los pacientes con edades entre 19 y 44 años, el 44% entre 45 y 64 años, el 50% de pacientes mayores de 19 años y el 36% de los individuos mayores de 65.

En el artículo de Løe (46,47) se determinaron las características principales de esta patología. En primer lugar, determinaron que eran las bacterias de la placa las que producían la respuesta inflamatoria y demostraron que este cuadro era reversible al restaurar las medidas de higiene

1.3.2 Tipos de Gingivitis y factores ambientales asociados

La clasificación del WWP de 1999,(48) dividió las enfermedades gingivales según su origen, o no, por placa. Las primeras son aquellas en las que la presencia de placa es condición necesaria para el desarrollo de la gingivitis. Por tanto, establecemos una clasificación según el factor causante. A pesar de ser la placa bacteriana el principal factor, existen otras causas que generan alteraciones gingivales: Gingivitis producida por Placa Bacteriana, alteraciones gingivales modificadas por factores sistémicos: Gingivitis puberal, Gingivitis del embarazo, Gingivitis menstrual, Gingivitis de la menopausia, Granuloma piogénico. Alteraciones gingivales relacionadas con enfermedades mucocutáneas, gingivitis inducida por fármacos, Fibromatosis gingival Hereditaria y Neurofibromatosis I.

1.3.2.1. Enfermedades gingivales inducidas por placa: gingivitis asociada a factores locales

Existen factores locales que dificultan la higiene del paciente, favoreciendo el acúmulo de placa y desarrollando gingivitis en el caso de que el cuadro no se resuelva. Entre estos factores encontramos ortodoncia fija, obturaciones desbordantes, apiñamiento, raíces fracturadas, etc. (49,50)

1.3.2.2. Gingivitis asociada al Sistema Endocrino

[Escriba aquí]

El embarazo, la pubertad, los ciclos menstruales y las hormonas esteroideas pueden alterar la homeostasis del periodonto provocando la aparición de una alteración gingival visible. Se trata de un factor de tipo general que provoca una hiperrespuesta ante la placa. (49)

Esta gingivitis se produce por placa y hormonas esteroideas, es decir, el aumento de la testosterona en varones y de estradiol en mujeres, produce la inflamación gingival, junto con una placa que no tiene que ser específica. Dentro de este grupo encontramos la gingivitis producida por el ciclo menstrual, el granuloma gravídico del embarazo y la gingivitis del adolescente.

La gingivitis puberal tiene los mismos signos que la gingivitis por placa, pero requiere de menores cantidades de placa durante el período circumpuberal para producir la inflamación. (49)

La gingivitis asociada al ciclo menstrual, presenta un aumento del exudado gingival por aumento del estradiol (>200 pg/ml) y de las hormonas luteinizantes (>25 mU/ml). (51)

La gingivitis del embarazo presenta una prevalencia entre el 35-100%. Sus signos clínicos son el engrosamiento del margen gingival, aumento del sangrado, enrojecimiento y un mayor tamaño de las papilas, a veces con pseudobolsas. Löe y Silness en un estudio en el año 1963, afirman que estos síntomas comienzan en el segundo mes y empiezan a mejorar en el octavo mes de embarazo, hasta desaparecer tras el parto. (51)

En algunas mujeres, en torno al segundo trimestre de embarazo, se produce el granuloma gravídico, que es una masa inflamatoria fibrovascular proliferativa, de color roja o amoratada, ulcerada o nodular, localizada normalmente en la encía. No suele medir más de 2 cm, su prevalencia es de 0.5-5% y se asocia a factores higiénicos, traumáticos y hormonales, ya que el origen es desconocido.

1.3.2.3. Relacionadas con el inadecuado control de la glucemia

La diabetes mellitus es una endocrinopatía que cursa con problemas periodontales. La alteración periodontal es la sexta complicación más frecuente en esta disfunción del sistema endocrino.

Esta gingivitis es muy parecida a la producida por placa, y esta más asociada a la diabetes que al inadecuado control de placa. Es muy frecuente en niños con diabetes

[Escriba aquí]

tipo I mal controlada. El cuadro mantenido en pacientes adultos con diabetes conlleva en la mayoría de los casos a un cuadro de periodontitis. (52,53)

1.3.2.4 Asociadas a discrasias sanguíneas

Algunas patologías de la sangre, como la leucemia, petequias, úlceras o linfadenopatías pueden asociarse a la gingivitis. Las alteraciones orales pueden servir de diagnóstico precoz de las mismas ya que son los primeros signos que aparecen.

Los signos que presentan estos pacientes a la exploración son el sangrado al sondaje o agrandamientos gingivales. Al igual que el resto de los cuadros de gingivitis, la placa es común, pero la cantidad no está relacionada con la inflamación que se produce. (49)

1.3.2.5 Enfermedades gingivales modificadas por nutrición

Existe poca evidencia científica sobre este tipo de enfermedades y su relación con la inflamación gingival. Los pacientes con una alteración en la respuesta inmunitaria podrían tener una mayor susceptibilidad a las infecciones, y por tanto tener una mayor respuesta inflamatoria ante la misma exposición a placa. (49)

Dentro de este apartado podemos encontrar el déficit de vitamina C o escorbuto, existente aún en los países en desarrollo. Esta enfermedad a veces se presenta con la gingivitis del escorbuto, que se caracteriza por la aparición de bolsas periodontales, pérdida dentaria, encía de color rojo brillante, ulcerada, inflamada, de consistencia esponjosa y con sangrado espontáneo. El déficit vitamínico altera la formación del colágeno, la respuesta inmune y la movilidad de los neutrófilos. (54)

En un estudio realizado en el año 2000 se analizó la ingesta de vitamina C consumida en la dieta en una muestra de 12.419 pacientes entre 20 y 90 años. Concluyeron que existía relación entre la aparición de enfermedades periodontales y la ingesta baja de vitamina C. Posteriormente analizaron la relación entre las enfermedades periodontales y la osteoporosis. Encontraron asociación con una OR de 6.11 para las mujeres jóvenes, lo que afirmaría que existe relación entre el desarrollo de enfermedades periodontales y la ingesta de calcio. Se necesitan más estudios para corroborar estos datos. (54)

1.3.2.6 Alteraciones gingivales relacionadas con enfermedades mucocutáneas

[Escriba aquí]

La gingivitis descamativa crónica (GD), es una alteración de frecuencia relativamente elevada. Puede confundirse con gingivitis relacionadas con la placa y puede ser manifestación de enfermedades sistémicas.

Es una de las principales alteraciones gingivales no relacionadas con placa. Tiene períodos de remisión y exacerbación, caracterizado por un eritema difuso en la encía insertada en las zonas dentarias, con mayor frecuencia por vestibular, y asociado a un área de descamación espontánea del epitelio, zonas de erosión con sangrado y dolor moderado o intenso.(49)

1.3.2.7 Gingivitis asociada a síndromes sistémicos

La Fibromatosis gingival Hereditaria es una enfermedad autosómica dominante, cuya incidencia y severidad varía dependiendo de la penetrancia y expresión del gen mutado. Este síndrome se presenta con hipertrichosis, incapacidad mental y epilepsia, pero en una gran parte de los pacientes la única manifestación clínica es la Fibromatosis gingival. También puede presentar, aunque rara vez, sordera sensorial, hipotiroidismo, condrodistrofia, supernumerarios y anomalías en las extremidades, concretamente en dedos de manos y pies y desarrollo hormonal deficiente. La fibromatosis gingival hereditaria normalmente no se presenta hasta la erupción de los dientes permanentes, a veces antes en algunos pacientes, pero es rara la aparición en el nacimiento. En estudios anteriores se demostró que la presencia de la dentición puede ser esencial para la aparición de aumento gingival.

Se han asociado 2 genes localizados en el brazo corto del cromosoma 2 con la Fibromatosis Gingival Hereditaria. Histológicamente se caracteriza por un aumento proliferativo del tejido gingival. El tejido conectivo aparece altamente colagenizado con escasos y altamente diferenciados fibroblastos y escasos vasos sanguíneos.

No hay infiltrado inflamatorio y el epitelio aparece denso, con hiperqueratosis, a menudo acartonado con papilas elongadas. Además, partículas calcificadas localizadas en el hueso, mucosa ulcerada, depósitos de sustancia amiloide, epitelio odontogénico e inflamación pueden presentarse a veces.

Hasta estudios recientes se ha asumido que el excesivo acúmulo de proteínas en la matriz extracelular del tejido conectivo era resultado del incremento en la producción del colágeno y fibronectina por parte de los fibroblastos y también por un aumento de los mismos. Coletta y col. Demostraron en estudios in vitro con fibroblastos aislados de

[Escriba aquí]

encia sana y con fibromatosis que la producción de MMP-1 y MMP-2 fue significativamente mayor en los tejidos sanos. Se ha demostrado que los fibroblastos derivados de encía con fibrosis tienen una proporción más baja de fagocitos en comparación con los fibroblastos obtenidos de los tejidos normales. La menor cantidad de fibroblastos con actividad fagocítica es un potente mecanismo para la formación de lesiones fibróticas.

La Neurofibromatosis I es una enfermedad hereditaria autosómica dominante con total penetrancia, pero de expresión variable debido a mutaciones en el brazo largo del cromosoma 17. La enfermedad se desarrolla gradualmente y causa displasia neurodérmica. La lesión más frecuente son múltiples fibromas en la piel y melanosis epidérmica localizada, resultado de la proliferación de terminaciones nerviosas cutáneas, que se denominan “manchas café con leche” y malformaciones óseas. Los neurofibromas pueden surgir de una sola célula o varias células de Schwann mutadas. Una célula simple prolifera de manera anormal y genera un neoplasma. (49)

Otras enfermedades relacionadas con el aumento gingival son: el infiltrado gingival en la leucemia; el síndrome de Schinzel Geidon, que causa una atrofia cerebral; el síndrome Dulce, que se presenta con fiebre, neutrofilia, lesiones cutáneas y crecimiento gingival; y el Linfoma de Hodgkin donde la hipertrofia gingival es una manifestación paraneoplásica.

Otras condiciones sistémicas identificadas que afectan a la relación de placa gingivitis incluyen neutropenia (55, 56) leucemia (57,58, 59) y el virus de la inmunodeficiencia humana o síndrome de inmunodeficiencia adquirida.(60) El estrés psicológico, al menos en adultos conduce a un aumento en la expresión de la gingivitis. (61,62) Los niveles de estrés se pueden determinar a través de cuestionarios y deben ser tenidos en cuenta en el análisis de datos.(63)

1.3.2.8 Gingivitis asociadas a Factores Locales

Además, existen factores locales que pueden modular el proceso inflamatorio. Un factor ambiental bien documentado que influye en la inflamación es el tabaquismo. Los fumadores, en comparación con los no fumadores en los estudios experimentales de gingivitis, acumulan placa a la misma velocidad y exponen una inflamación significativamente menor con niveles de placa similares (64,65,66)

[Escriba aquí]

Parece que el efecto del tabaquismo está mediado, al menos en parte, por la modulación de la respuesta vascular local.(64) Por ello los fumadores deben ser excluidos de los ensayos de gingivitis experimental o incluidos en un grupo separado.

Se han encontrado varios medicamentos con efectos adversos en la encía, incluyendo anticonvulsivos como la fenitoína,(67) anti-hipertensivos como los bloqueadores de los canales de calcio tales como nifedipina,(68,69) y el inmunosupresor ciclosporina (70) que causan agrandamiento gingival severo. Por tanto, los medicamentos podrían ser considerados como factores que agravan la respuesta inflamatoria inducida por placa. Estos incluyen tanto esteroideos (71,72,73) y no esteroideos (72) medicamentos anti-inflamatorios, si la administración es sistémica (71,72,73) o se aplica tópicamente. (72)Estos agentes actúan mediante la inhibición de la respuesta inmune, inhibiendo así la expresión clínica de la gingivitis. Finalmente, los agentes sistémicos tópicos o agentes antimicrobianos inhiben la formación de placa y la consiguiente gingivitis. Varios antibióticos sistémicos, tales como la eritromicina (74), metronidazol (75), clindamicina (76), vancomicina (77), y las tetraciclinas (75,78) se ha demostrado que inhiben la acumulación de placa y el desarrollo de la gingivitis. El uso de un producto coadyuvante antimicrobiano como un enjuague, por ejemplo, clorhexidina (79, 80,81), compuestos fenólicos(82,83, fluoruro de amina / fluoruro estañoso (80,83,84) o una pasta de dientes, por ejemplo, triclosán que contiene pasta de dientes(85), para complementar los procedimientos mecánicos de higiene oral, tiene asociado disminución de la placa y la inflamación gingival. Además de su acción directa antimicrobiana (Anti-placa) la actividad de algunos de estos agentes parece ser capaz de modular la respuesta del huésped mediante la alteración de las funciones de varios tipos celulares implicados en enfermedades inflamatorias. (86,87)

Por lo tanto, ciertos agentes antimicrobianos, ya sean utilizados de manera sistémica o localmente, pueden modular la expresión clínica de la gingivitis, y no simplemente reducir la inflamación gingival por reducción de los niveles de placa. En este contexto, cabe destacar que la irrigación como un complemento del cepillado, incluso si se realiza simplemente con agua (88,89), parece inhibir la inflamación inducida por la placa, un efecto atribuido a la reducción en la concentración de mediadores inflamatorios, tales como IL-1beta y prostaglandina E2, en el fluido crevicular gingival.

Otro fármaco causante de agrandamiento gingival son los anticonceptivos orales, aunque la literatura muestra que su efecto suele desaparecer al cesar el tratamiento.

[Escriba aquí]

En un estudio de 2004 se examinó la relación entre los anticonceptivos orales, la inflamación gingival y la periodontitis (90), ya que anteriormente se había encontrado relación. (91) Aunque los efectos son similares a los asociados a cambios en los niveles de hormona sexual durante el embarazo recogidos en estudios anteriores en mujeres jóvenes que tomaban anticonceptivos, (92) estudios recientes sugieren que el efecto de las nuevas pastillas anticonceptivas, con menor contenido hormonal en comparación con las utilizadas en el pasado, sobre la gingivitis es prácticamente nulo. (93) Entre los factores nutricionales examinados durante los últimos 35 años, sólo el escorbuto (vitamina C) ha sido consistentemente demostrado que afecta la expresión de la gingivitis.

En los años 70 hubo variaciones en las formulaciones, ya que se consideraban las dosis ≥ 1 mg de progesterona y $>50\mu\text{g}$ de estrógenos, un riesgo para sufrir problemas periodontales

En 2005 se realizó un estudio con encuestas epidemiológicas de NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey). El análisis de regresión logística demostró que existía asociación entre la gingivitis y los ACO, pero no estadísticamente significativa, por lo que se requieren más estudios al respecto. (90)

1.3.3 Patogenia de la gingivitis producida por placa

Existen factores locales que dificultan la higiene del paciente, favoreciendo el acúmulo de placa y desarrollando gingivitis en el caso de que el cuadro no se resuelva. Entre estos factores encontramos ortodoncia fija, obturaciones desbordantes, apiñamiento, raíces fracturadas, etc. (94)

La evidencia definitiva proporcionada por los estudios pioneros de Løe y col. a mediados de 1960 confirmó que la gingivitis es causada por las bacterias de la placadental. (95) El papel etiológico de la placa en el desarrollo de la gingivitis es apoyada por numerosos estudios de intervención. La reducción o eliminación de la placa, ya sea por medios mecánicos o agentes químicos anti-microbianos conduce a la resolución de la enfermedad.

Anteriormente, estudios de gingivitis experimental han referido posibles diferencias en la susceptibilidad de los sujetos a la gingivitis. Estas diferencias se suelen atribuir a diferencias en las tasas de acumulación de placa (diferencias cuantitativas) y / o diferencias en las especies presentes en la placa (diferencias cualitativas). (96)

[Escriba aquí]

Las bacterias de la placa producen metabolitos, como ácidos grasos de cadena corta, lipopolisacáridos, que hacen que el epitelio de unión secrete mediadores de la inflamación (IL-8, TNF-alfa, IL-1alfa, PGE2, MPM). Las terminaciones nerviosas libres producen neuropéptidos e histamina, que regulan la reacción vascular local. Las células cebadas perivasculares liberan histamina, lo cual lleva al endotelio a liberar IL-8 que atrae a los PMN. Esta reacción vascular provoca la penetración de proteínas séricas en el tejido conjuntivo, activando la reacción inflamatoria local.

Posteriormente se reclutan leucocitos y monocitos. Los macrófagos activados producen mediadores de la inflamación como IL-1b, IL-1ra, IL-6, IL-10, IL-12, TNF-a, PGE2, MPM, IFN-a, y Quimiotaxinas como Proteína Quimiotáctica de monocitos (MCP), Proteína inflamatoria de macrófagos (MIP) y RANTES.

Los linfocitos predominan en el infiltrado inflamatorio. Las células T activadas coordinan la respuesta inmunitaria mediante citoquinas. Las células plasmáticas producen IG y citoquinas. Los PMN activados secretan diversas citoquinas, leucotrienos y MPM. Los fibroblastos activados producen Metaloproteinasas (MPM) e inhibidores tisulares de las MPM (TIMP) en lugar de colágeno. Se produce el desprendimiento del epitelio de unión formándose la bolsa gingival. Posteriormente se produce un aumento de la actividad de los macrófagos, mediadores regulados.

1.3.4 Gingivitis en ortodoncia

La salud gingival se ve comprometida durante el tratamiento de ortodoncia. La aparatología fija puede contribuir al desarrollo de problemas periodontales ya que independientemente del nivel de higiene oral, la mayor parte de los pacientes desarrollan una gingivitis generalizada en un corto período de tiempo tras su colocación. Puesto que la placa es el principal factor etiológico en el desarrollo de la gingivitis, y los aparatos generan gingivitis, puede ser que estos influyan en las poblaciones microbiológicas presentes en la placa. (97, 98)

Baer y Coccaro (99) observaron que se producía un agrandamiento gingival tras la colocación de la ortodoncia. Se produce un cambio local en el ecosistema oral alterando la composición de la placa bacteriana y desarrollando un proceso inflamatorio. Esto puede dificultar la higiene oral incluso a los pacientes más motivados. (100)

Clínicamente los investigadores han encontrado un aumento de los niveles de placa, de la encía y de la profundidad del surco. Este aumento suele ser mayor en la zona

[Escriba aquí]

interproximal y en torno a la zona posterior de los dientes más que la anterior. Hay cuatro razones sugeridas para estos fenómenos, uno es la irritación mecánica por las bandas de ortodoncia, que son más propensas en el margen gingival posterior, la irritación química por el cemento expuesto en el margen gingival, la impactación de alimentos entre el tejido blando y el arco en la zona posterior y la mayor eficacia en el cepillado anterior que posterior.

Se produce una alteración en la composición de la placa bacteriana. En la mayoría de los casos se produce un cambio en la microflora subgingival con la aparición de periodontopatógenos, principalmente anaerobios gram negativos patógenos y disminución de los aerobios facultativos presentes en el fluido crevicular gingival. El GCF refleja la reacción inflamatoria e inmunológica derivada de la interacción con el parásito y el estrés biomecánico. Entre los mediadores inflamatorios e inmunológicos identificados en el fluido crevicular, la IL-1 β ha llamado especialmente la atención por estar aumentado. Esto puede explicar en parte la inflamación producida durante el tratamiento de ortodoncia incluso en pacientes con un excelente control de la placa.

1.3.5 Papel de la interleuquina en la gingivitis

Durante los últimos años, los estudios de gingivitis experimental en humanos han permitido la identificación de factores que determinan la diferente susceptibilidad individual a la inflamación gingival inducida por placa. La respuesta inflamatoria gingival de la bioplaca es en parte mediado y regulado por citoquinas proinflamatorias, entre las que la interleuquina 1-beta desempeña un papel fundamental.(101)

El tejido gingival inflamado se caracteriza por un aumento de las células secretoras de IL-1 β , tales como los macrófagos y neutrófilos, y el contenido de esta citoquina en el tejido se correlaciona positivamente con el grado de infiltrado de células inflamatorias y la gravedad clínica de la inflamación gingival. Además, hay una correlación positiva entre el nivel de interleukina 1 β en el fluido crevicular y la inflamación gingival.

La gingivitis está dirigida por una sobreexpresión de citoquinas inflamatorias, principalmente de IL-1 β y de TNF- α . La IL-1 es una de las citoquinas más producidas en los sitios de inflamación y participan en el inicio y progreso de la degradación del tejido conectivo.

[Escriba aquí]

La IL-1 por tanto participa en la inflamación gingival mediando la producción de moléculas inflamatorias, como las prostaglandinas, leucotrienos, factores activadores de plaquetas y citoquinas, y regulan la adhesión de moléculas al endotelio. Además, va a reclutar a las células inmunológicas que participan en el proceso inflamatorio. Si la gingivitis continua, participa en la reabsorción ósea generando pérdida de inserción.(102)

1.3.6 Tratamiento y prevención de la gingivitis

La gingivitis asociada a placa tiene una gran prevalencia, lo que hace imprescindible su tratamiento. Este proceso es reversible si eliminamos la causa que lo produce, como indican los estudios de Løe y Theilade,(96,103) por lo que la eliminación de la placa es la principal estrategia de tratamiento.

Además, como hemos visto en apartados anteriores, el control de los factores concomitantes es necesario, ya que estos pueden exacerbar la inflamación producida por la placa.

La primera estrategia de tratamiento será motivar al paciente e instruirle en el cepillado, con el objetivo de mantener buenos resultados a largo plazo. En segundo lugar, será necesario un control en clínica mediante profilaxis o tartrectomía para eliminar la placa y el cálculo. Si existiera cálculo subgingival se realizaría raspado y alisado.

Es importante también eliminar aquellos factores locales que favorecen el acúmulo, como son las obturaciones desbordantes, apiñamiento, etc.

Si el paciente presenta agrandamiento o hiperplasia gingival, será necesario un recontorneado quirúrgico de la encía, ya que la eliminación de la placa es insuficiente en estos casos. Hay que tener en cuenta que este problema es bastante recidivante, por lo que para solucionarlo debemos realizar interconsultas con el especialista.

Si la enfermedad gingival esta producida por infecciones de bacterias, como *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* o *Streptococcus*, será necesario una biopsia y un análisis microbiológico para determinar su tratamiento.

[Escriba aquí]

1.4 Medición del grado de inflamación

1.4.1 Índices de inflamación gingival

El diagnóstico de la inflamación gingival debe de comenzar con un examen clínico del tejido periodontal, explorando el color: pigmentaciones, enrojecimientos, lesiones blancas, etc. A veces el eritema asociado a la inflamación puede ser bastante sutil. Si hay dudas sobre la presencia de enrojecimiento gingival asociado a inflamación, es útil comparar el color del sitio en cuestión con el de un sitio probablemente sano, que con frecuencia es la encía insertada adyacente. Otro aspecto que debemos tener en cuenta es la forma: tamaño, contorno, arquitectura y topografía mucogingival anormal. Se explorará la consistencia. La encía sana es firme y resistente, mientras que los tejidos edematosos suelen estar engrosados y blandos. Si hay alguna duda sobre la presencia o ausencia de edema gingival, a veces es útil presionar suavemente la sonda periodontal contra el tejido durante unos segundos y luego retirarla. En los sitios sin edema no se observa huella. Evaluar la textura superficial, si la superficie de la encía adherida es punteada o lisa. Y por último valoraremos la posición, si existe retracción o agrandamiento de la encía.

La sonda periodontal es el instrumento que nos permite valorar la profundidad de las bolsas periodontales y el nivel de inserción epitelial. Existen diferentes tipos, las de primera generación están compuestas de acero inoxidable o plástico. Su diseño puede ser cónico, redondeado, plano, o rectangular con punta redondeada y calibrada en milímetros. Las de segunda generación o de presión controlada utilizan fuerzas de entre 20 y 50 gramos. Las sondas computarizadas o de tercera generación recolectan los datos digitalmente.(104)

Respecto a los índices usados para medir el grado de inflamación gingival, Løe y Silnes desarrollaron uno en 1963, el cual fue modificado por Løe en 1967. Este índice analiza la gingivitis y la enfermedad periodontal reversible sin pérdida ósea. En la actualidad se usa para el análisis de la gingivitis, siendo más adecuado el índice IPMA para medir esta, requiriendo en este último caso el uso de una sonda periodontal.

La medición consiste en analizar mediante un espejo y sonda los cambios de textura, color, la presencia de úlceras y hemorragia de la encía que rodea el diente. Se analiza el margen gingival lingual, vestibular y ambas papilas vestibulares, determinando una

[Escriba aquí]

puntuación de 0 a 3 a cada parte, siendo 0 si la encía se presenta sin inflamación, sangrado o cambios de color. Se considera inflamación leve o 1, a aquella encía que se presenta con un ligero aumento del volumen, sin sangrado, e inflamación moderada o 3 cuando existe una inflamación severa, con sangrado espontáneo, edema y eritema importante.(105)

El valor obtenido en cada diente se suma y se divide entre todos los dientes analizados, obteniendo el IG (índice gingival)del paciente. El IG de una población se obtiene sumando los IG de cada individuo y dividiéndolo entre el número de pacientes examinados.(104)

Lobene y cols. en 1986 desarrollaron una modificación de este índice, denominándolo IGM o Índice Gingival Modificado. Se analiza sin sonda, usando una puntuación de 0 a 4, y se examinan los dos márgenes gingivales y las dos papilas de cada diente, a boca parcial o total.Se considera 0 la ausencia de inflamación, inflamación leve o 1 cuando existe un leve cambio de coloración y textura en una parte de la encía, pero no toda. La inflamación moderada o 2 se adjudica cuando el cambio de color y textura afecta a toda la papila o margen gingival, mientras que será moderada o 3 cuando existe eritema, edema, brillo y/o hipertrofia en la papila o en el margen. Por último, la inflamación intensa o 4, se presentará con hipertrofia, edema y/o eritema en el margen o papila, con hemorragia espontánea, ulceración o congestión. (105)

Schour y Massler en 1947-1948 desarrollan el primer índice que analiza la severidad de la Gingivitis. Se denominó IPMA o Índice Papilar, Marginal, Adherida, ya que sólo se examinaba la inflamación en estas zonas de la encía. Este índice era sencillo y económico, pero se consideraba dificultoso a la hora de unificar criterios para delimitar la inflamación o considerar la encía inflamada o sana. Además, no tenía en cuenta el sangrado y en el caso de que la inflamación se produzca por otras razones como la exfoliación dental o el traumatismo producido por cepillado, se puede sobreestimar el índice.

Su análisis consiste en observar con un espejo la papila, la encía libre alrededor del cuello del diente y la encía adherida que cubre el hueso de soporte. Se determina un valor del 0 al 3, siendo 0 cuando no existe inflamación, 1 cuando existe inflamación en la papila, 2 cuando la inflamación afecta a la encía marginal y papilar, y 3 cuando la inflamación afecta a las tres zonas. El valor obtenido en cada diente se suma obteniendo

[Escriba aquí]

el valor de cada individuo. Si se suma el valor de cada individuo y se divide entre el número de personas se obtiene el valor promedio de la población. (104)

El índice PMA anterior es una modificación del Índice PMA, que sólo analiza el sector anterior de canino a canino.

1.4.2 Índices de hemorragia gingival

Muhleman y Son desarrollaron un índice de hemorragia gingival que consiste en una variación del índice descrito por Løe y Silness, que tiene más en cuenta el sangrado gingival. Consideraron 0 la ausencia de sangrado sin signos de inflamación en el margen y en las papilas, 1 cuando existe hemorragia con el sondaje sin signos de inflamación, 2 cuando el sangrado al sondaje se acompaña de eritema y edema, 3 cuando existe lo anterior acompañado de tumefacción, 4 cuando la hemorragia se acompaña de rubor y edema importante, y 5 con hemorragia espontánea, una importante inflamación ulcerada o no y eritema. Según este criterio, 0 sería una encía sana, 1 encía con inflamación leve, 2 una gingivitis moderada y 3 inflamación severa con sangrado espontáneo.

Saxer y Muhleman (106) en 1975, presentaron el índice de hemorragia papilar (PBI). Se analiza la papila palatina del primer cuadrante, la papila vestibular del segundo cuadrante, lingual en el tercero y vestibular del cuarto. El índice se obtiene puntuando según el sangrado, sumando los puntos y dividiéndolo entre las papilas analizadas. Se considera la aparición de un solo punto de sangrado a los 20-30 segundos tras el sondaje, una línea o varios puntos de sangrado, sangrado en la papila o gotas de sangre.

1.4.3 Métodos de medición del nivel de IL-1 en el fluido crevicular

El fluido crevicular es el exudado inflamatorio proveniente de plasma, células, tejidos y células bacterianas. Este surge del surco gingival y va a la cavidad oral desde el tejido conectivo. Tiene un papel principalmente defensivo, ya que diluye toxinas, posee componentes antibacterianos y células de defensa, y tiene acción de arrastre mecánico.

En las últimas décadas, se ha estudiado la respuesta local del huésped ante la periodontitis mediante el análisis bioquímico del fluido crevicular. Entre los mediadores

[Escriba aquí]

inflamatorios y mediadores inmunológicos identificados en este fluido, los investigadores han mostrado especial interés por las citoquinas, al participar estas en las alteraciones relacionadas con la inflamación y reparar los tejidos periodontales. Ciertas citoquinas se han propuesto como marcadores potencialmente útiles a la hora del diagnóstico o pronóstico, como la interleuquina 1 beta, ya que han mostrado participar en la respuesta inflamatoria. (107)

Preiss y Meyle (39) al igual que Rawlison y col. (108) encontraron IL-1beta en el fluido crevicular de las zonas sanas y afectadas. Por el contrario, otros autores (109, 110, 111) no fueron capaces de detectar valores de IL-1beta en pacientes sanos. Estas discrepancias pueden deberse a los diferentes métodos de recolección de muestras y/o empleo de diferentes kits de ELISA.

Varios estudios (112-115) encontraron el doble en los valores de IL-1 beta en los pacientes con enfermedad periodontal, por lo que concluyen que existe relación entre esta citoquina y la enfermedad periodontal.

Rawlison y col. (108) usaron rollos de algodón y eyector de saliva para aislar la zona evitando la contaminación de la muestra con sangre o saliva, ya que estos fluidos contienen IL-1beta según Dinarello 1991 (24) y Tizard 1995 (116). Se analizaron dientes del maxilar en vez de la mandíbula, y esperaron tres minutos dejando las tiras de papel según las indicaciones de Reinhardt y col. (117)

Por tanto, podemos concluir que existe cierta controversia en la literatura sobre la relación entre la enfermedad periodontal y los niveles de IL-1beta en el FGC.

Respecto a la toma de la muestra del fluido crevicular, el primer paso consiste en retirar previamente la placa supragingival mediante una cureta estéril aislar el campo de saliva secándolo con una jeringa de aire. Se introducen en el surco o bolsa tiras de papel y se mantienen en el sitio seleccionado durante 15 o 30 segundos, desechando aquellas contaminadas con sangre o saliva. Tres minutos después de introducir la primera se inserta una segunda tira. Posteriormente se introducen en un tubo de microcentrifugado y se congelan a -70° hasta el día del análisis. (118)

El análisis de la producción de citoquinas en el fluido crevicular se determina tras el centrifugado usando el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), específico para cada citoquina y el kit específico de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

[Escriba aquí]

1.5 Microbiología de la placa bacteriana

1.5.1 Composición de la placa bacteriana en el ámbito oral

Black describió la placa dental en 1898, por primera vez, como una masa compuesta de microorganismos que cubría la caries. Posteriormente Bowen, en 1976, la define como áculos blandos formando una biopelícula sobre el diente y otras estructuras duras en la cavidad oral. (119)

Moore encontró que, de los 300 tipos de bacterias de la placa, sólo una pequeña parte tenía relación con la enfermedad periodontal.

Marsh y Martin en el 2000, consideran la placa como una comunidad microbiana compleja sobre la superficie dental, dentro de una matriz bacteriana y salival (120) Slots (1979)(121), Leknes y col, (1997)(122) y Timmerman y col, (2001)(123), señalan, que cuando la placa dental presenta especies bacterianas anaerobias específicas se desarrolla la enfermedad periodontal.

La placa bacteriana es una biopelícula. Costerton y col. (12) definieron la biopelícula como una matriz compuesta por poblaciones bacterianas adheridas a una o varias superficies o interfaces. El comportamiento de las bacterias en las biopelículas es diferente que, en los cultivos plactónicos, y la patogenicidad y la expresión del factor de virulencia es significativamente mayor.

En relación a las características de la biopelícula podemos decir que las comunidades ecológicas han evolucionado para permitir la supervivencia ,presentan cooperatividad metabólica, tienen un sistema circulatorio primitivo, hay numerosos microambientes con diferentes pH, concentraciones de oxígeno y potenciales eléctricos. Estas biopelículas resisten las defensas del huésped habitual, los antibióticos sistémicos o locales y los agentes antimicrobianos. Las bacterias de la biopelícula pueden producir un gran número de proteínas y otros componentes que no expresan en cultivo. Hay pruebas de que intercambian información, y construyen complejas estructuras que contienen un sistema circulatorio primitivo y diferentes microambientes que varían enormemente en el pH, y en la disponibilidad de oxígeno y de nutrientes.

[Escriba aquí]

Se han medido diferencias de potencial eléctrico de más de 100 mV en las biopelículas (12). El hecho de que la placa es un biofilm puede arrojar luz sobre por qué algunas bacterianas requieren la presencia de una o más de otras especies para la supervivencia mientras que, en otros casos, la presencia de una especie se opone a la presencia de otra. La evidencia indica que las colonias discretas de especies específicas pueden estar en íntima relación con colonias de otras especies y que los metabolitos y productos pueden ser mutuamente intercambiados.

La placa microbiana es notablemente resistente a los mecanismos normales de defensa del huésped. El fluido gingival contiene anticuerpos y otros complementos, además de otros sistemas presentes en la sangre para prevenir y controlar la infección, como leucocitos viables.

La placa puede ser subgingival o supragingival, dependiendo de su localización, adherente o no adherente dependiendo de sus propiedades, y periodontopatógena o cariogénica.

La placa subgingival esta compuesta por bacterias Gram negativas proteolíticas, entre ellas, bacterias periodontopatógenas. Esta placa esta en los sacos periodontales o dentro del surco gingival. La placa supragingival, es la que se sitúa en la superficie dental, aunque puede extenderse dentro del surco y entrar en contacto con la encía, denominándose placa marginal. Se compone de bacterias sacarolíticas Gram positivas, entre ellas, bacterias cariogénicas.(119)

La placa dental se forma a partir del desarrollo de la película adquirida sobre el esmalte. Esta tiene un grosor de 0.1 a 1.0 micrómetros y se compone de glucoproteínas aniónicas y proteínas. Estas provienen del fluido crevicular, de la saliva, de células de los tejidos y desechos bacterianos. Posterior a la formación de la película se produce la llegada de microorganismos sobre la misma y por último la síntesis de la matriz.(119)

En la formación de la película intervienen fuerzas electroestáticas Van der Waals e hidrofóbicas. La hidroxiapatita contiene grupos fosfatos negativos que interaccionan con glucoproteínas salivales, fluido crevicular y proteínas con carga positiva.

La función de la biopelícula es actuar como una barrera mecánica de protección, lubricando la superficie y proporcionando moléculas de superficie para la unión de enzimas salivales (lizosimas, amilasas, peroxidasas) que favorecen la unión de microorganismos.

[Escriba aquí]

Tras la formación de la película adquirida, tiene lugar la colonización por microorganismos que se depositan, se adhieren, crecen y se reproducen sobre la misma. Las bacterias se unen a las glucoproteínas en un primer momento. Esta unión tiene lugar mediante diferentes mecanismos, como a través de las adhesinas, que son moléculas específicas en la superficie de la bacteria, que se unen a receptores específicos de la película; las fimbrias, que son proteínas fibrosas unidas a la biopelícula; mediante la formación de puentes de magnesio y de calcio, que tienen carga positiva y se unen a la carga negativa de la biopelícula y de las bacterias.; y mediante la unión de los polisacáridos bacterianos de la película a los polisacáridos extracelulares.(121)

Se considera que el *Streptococcus sanguis*, es el primer microorganismo que se une a la película adquirida, formando la placa supragingival, y posteriormente se une el *Actinomyces viscosus*. (120)

Otros estudios señalan que los microorganismos que inician la colonización de la película son *S. sanguis* y *A. Viscosus*, y que estos son imprescindibles para la posterior colonización por otras bacterias como *Veillonella* y *Fusobacterium*.(124,125)

Otras bacterias que inician la colonización son *Actinomyces sp*, *Neisserias sp.*, y *Haemophilus sp* y *Streptococcus* del grupo oralis (*S. oralis*, *S. mitis*). (121)

Tras la colonización, tiene lugar la sucesión autogénica, que es un cambio de bacterias Gram positivas facultativas por Gram negativas facultativas y estrictas Gram negativas. Este proceso tiene lugar por la competencia de sustratos, por consumo de oxígeno y producción de H₂O₂. A la semana de formarse la placa hay un predominio de *Streptococcus*, que a los 14 días pasa a ser de formas filamentosas y bacilos anaerobios. Algunos estudios afirman que *Prevotella loescheii*, *prevotella intermedia*, *Capnocytophaga sp.*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromona Gingivalis*, son los microorganismos que se unen de manera secundaria a las bacterias de la placa. (126)

La coagregación entre las células microbianas conllevan la maduración y el crecimiento de la placa, consistente en la unión de microorganismos sobre la primera capa ya existente sobre el diente. Estas uniones se producen mediante proteínas como lectinas, fuerzas hidrófobas, de Van der Waals o electrostáticas.(126)

En el final del proceso de formación de la placa es frecuente el predominio de Gram negativas aerobias como *Porphyromonas Gingivalis* o *Fusobacterium Nucleatum*,

[Escriba aquí]

fenómeno que favorece la interacción patogénica característica de la enfermedad periodontal. (127)

Tras la maduración y crecimiento de la placa, se forma la placa dental madura, constituida por una matriz intercelular compuesta de productos bacterianos, materiales orgánicos (glucoproteínas, polisacáridos, proteínas), células (macrófagos, leucocitos, epiteliales) y materiales inorgánicos (fósforo y calcio) procedentes del líquido del surco gingival o de la saliva. Sobre esta matriz proliferan bacterias y tiene lugar las interacciones metabólicas.(119).

Las bacterias Gram positivas, como *Streptococcus* y *Actinomyces*, usan el oxígeno, favoreciendo el crecimiento de bacterias anaerobias, especies que usan saliva y azúcares como fuente de energía. Las bacterias anaerobias asacarolíticas usan péptidos y aminoácidos. Los productos derivados del metabolismo como hemina y protohemina favorecen el desarrollo de anaerobios como *Porphyromona gingivalis*.

Por lo tanto, la microflora bacteriana en condiciones no inflamatorias, es predominantemente de formas aerobias Gram + y cocoides con escasa participación de anaerobios Gram -. Sin embargo, cuando este equilibrio se pierde, encontramos que aparece un predominio de periodontopatógenos, fundamentalmente *Actinomyces Actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas Gingivalis* y *Prevotella intermedia*.

Entre las bacterias más documentadas en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal se encuentran *porphyromonasgingivalis*, *Bacteroides forsythus* y *Actinomyces Actinomycetemcomitans* (128).

Hay otras especies que podrían participar en la periodontitis, pero estas actúan más indirectamente que las primeras, y otras como las bacterias entéricas podrían estar relacionadas con algunos casos. Por tanto, las bacterias son necesarias para el desarrollo de la enfermedad, pero insuficientes. En estudios de análisis de multivariantes, las bacterias constituyen una proporción relativamente pequeña (20%) de la etiopatogenia de la enfermedad periodontal. El factor huésped es igual o incluso más importante que la bacteria en el desarrollo de la enfermedad.

1.5.2 Influencia de la ortodoncia fija en la flora bacteriana subgingival

La colocación de la aparatología ortodóncica favorece el acúmulo de placa y la respuesta inflamatoria. Los estudios muestran un cambio en la composición de la flora oral

[Escriba aquí]

subgingival con aumento de bacterias anaerobias. El aumento de patogenicidad de la placa dental y los cambios periodontales durante el tratamiento de ortodoncia han sido descrito por numerosos autores. (129-131) Todos ellos concluyen que se produce inflamación gingival y los signos periodontales decrecientan tras la retirada de los brackets. Este aumento de la salud periodontal se acompañó de una disminución en el número de *Actinomyces actinomycetemcomitans* y *Bacteroides forsythus*. Diversos estudios (132) encontraron un aumento de *Prevotella intermedia* en la placa dental supragingival tras la adhesión de la aparatología y posteriormente un decremento tras su retirada. Algunos de ellos mostraron cambios en la cantidad de este periodontopatógeno durante el seguimiento con la aparatología. (11)

En un estudio en 2011. (100) de dos grupos de pacientes, de 28 y 20 sujetos respectivamente, analizaron la cantidad de *Porphyromona gingivalis* en la placa subgingival. Observaron que la ortodoncia fija conducía a un aumento en la acumulación de placa produciéndose inflamación gingival. Tras la remoción de la aparatología la salud periodontal mejoró y la cantidad de *Porphyromona gingivalis* en la flora subgingival disminuyó. Sin embargo, la cantidad de esta bacteria permaneció alta 6 meses tras la retirada de los aparatos, lo que indica que la ortodoncia puede ser un factor de riesgo en la salud periodontal de ciertos pacientes.

También se encontró un aumento significativo de *Actinomyces Actinomycetemcomitans* en la placa subgingival tras la aplicación de aparatos fijos. Hay estudios que muestran su presencia constante durante todo el tratamiento y su disminución tras la eliminación del aparato (133) mientras que otros señalaron la *Prevotella Intermedia* como patógeno más frecuente (11)

La muestra de fluido crevicular indica un decremento en la ratio arobio/anaerobio con un incremento de la patogenicidad entre el inicio y el final del tratamiento. (134) Esta alteración en la placa ha sido descrita también por otros autores (97,131)

Diamanti-Kipiotti y col. (135) demostraron que con la excepción de *Prevotella intermedia*, el porcentaje de anaerobios y *Actynomyces Odontolyticus* recuperan los niveles basales normales tras el inicial incremento, a pesar de continuar el incremento de la profundidad de bolsa. El efecto en la alteración del ecosistema bacteriano es impredecible, no avanzando siempre de gingivitis a periodontitis. En la región subgingival del surco existe un equilibrio entre las defensas del huésped y el cambio bacteriano.

[Escriba aquí]

Hay estudios clínicos que detectaron mayor pérdida de inserción en los dientes de la parte distal de los arcos. (136) La explicación que se ha dado ha sido por una peor higiene alrededor de las bandas en la zona de molares. En otro estudio se vió mayor pérdida en incisivos. Scheie y cols. (137) concluyeron que los aparatos producen un decremento en el número de colonias de *Streptococos mutans*, asociando la disminución de estos durante el proceso de embandado.

Por tanto, tras la colocación con la aparatología se produce un cambio en la flora subgingival parecida a la de la periodontitis crónica, con incremento de bacterias anaerobias gram negativas, a pesar de que el paciente lleve un buen control de placa. En la mayoría de los casos se resuelve tras la retirada de brackets aumentando las bacterias aerobias y en la mayoría de los casos sin destrucción periodontal. La respuesta del huésped varía de individuo a individuo dependiendo de muchos factores como: edad, hormonas, estado inmunológico, y nutrición. La capacidad de los tejidos gingivales de recuperar la salud tras la remoción de la aparatología fija parece deberse a la falta a largo plazo de establecimiento de este ecosistema patológico. (138,139)

1.6 Genoma Humano

1.6.1 Diversidad del genoma. Polimorfismos

El ADN genómico nuclear varía entre individuos de la misma especie y entre individuos de especies diferentes, responsable de las características diferenciales entre los individuos. Esta variabilidad genética también se denomina polimorfismo genético, cromosómico, de secuencia o de ADN, afectando a regiones codificantes (polimorfismo génico) y no codificantes (genético) del genoma.

El polimorfismo puede conllevar la variación de un par de bases de ADN (de un solo nucleótido) o de millones de pares de bases, denominándose macromutación. Este puede afectar a células no reproductoras o somáticas (polimorfismo no hereditario), o a células reproductoras o germinales (polimorfismo hereditario).

Por lo tanto, hablamos de polimorfismo cuando existe una población de genomas con diferentes alelos para un locus determinado. Los alelos son las variaciones del ADN presentes en esa posición o locus del cromosoma. Las células diploides tienen dos alelos en cada locus autosómico de ambos cromosomas homólogos, de origen materno y

[Escriba aquí]

paterno. El polimorfismo depende de la cantidad de alelos diferentes en un locus. El polimorfismo de una población dependerá de la cantidad de individuos heterocigóticos y será mayor cuando más individuos haya. Se considera un locus polimórfico cuando más del 1% de la población presenta variabilidad.

Las mutaciones del ADN, se consideran situaciones excepcionales y patológicas, son la última causa de polimorfismo, ya que este se relaciona con variaciones genéticas estables, nada o poco perjudiciales.

Un gen está formado por una región promotora donde hay intrones, que son zonas del ADN que no codifican y otra codificadora. Los exones están formados por codones, estos son tripletes de nucleótidos denominados codones, que codifican para un determinado aminoácido. (20)

El genotipo es la constitución de los alelos de un locus o de varios. La individualidad genética es la secuencia específica del genoma que presenta cada individuo y que es único para él. (140)

El polimorfismo tendrá una trascendencia que dependerá de que zona del genoma afecte y cómo.

1.6.1.1 Polimorfismo en regiones codificantes y no codificantes

El Polimorfismo en región codificante o polimorfismo génico es la parte del genoma común (de referencia) que determina las características y define la especie. Este está formado la mayor parte por monomorfos, que son genes únicos compartidos sin variación entre todos los individuos, casi idénticos a los correspondientes en la especie más cercana (aproximadamente 30.000 genes). El resto determinan el polimorfismo génico (unos 75.000 genes) y son los polimorfos. Podemos distinguir dos tipos de polimorfismo génico, con o sin efecto fenotípico.

Sin efecto fenotípico. Este polimorfismo es el más común. Ocurre porque dicha variación afecta a una región de la proteína que no es esencial para su función (mutación silenciosa), como intrones o regiones génicas no codificantes, o porque no altera la secuencia proteica codificada por la degeneración del código genético (mutación conservadora).

[Escriba aquí]

Este polimorfismo aparece, por ejemplo, en proteínas plasmáticas como, α -antitripsina, transferrina, inmunoglobulinas, haptoglobina y ceruloplasmina, y en otras proteínas tanto intracomo extracelulares.

Con efecto fenotípico. Ocurre cuando la variación modifica la función de la proteína, pudiendo alterar sus características fisiológicas, bioquímicas y morfogenéticas. En la mayoría de los casos esta variación es patológica, aunque también puede ser beneficiosa. Dentro de este grupo encontramos, polimorfismos con efecto fenotípico que no influyen en la susceptibilidad a enfermedades como aquellos responsables de la estatura, color de pelo, grupo sanguíneo, etc. Otro grupo son los que desarrollan ciertos procesos patológicos como los polimorfismos responsables de rasgos morfológicos complejos. El tercer polimorfismo con afectación fenotípica son los que producen la aparición de una patología (enfermedad genética). (140)

El polimorfismo de las regiones génicas no codificantes del genoma, como los intrones, promotores o regiones 5' y 3' que no son traducidas, no afectan a la secuencia de la proteína, pero si pueden cambiar su expresión dependiendo de la función que ejerza la secuencia no codificante que lo sufre. Esto puede afectar al corte y empalme generando un polimorfismo proteico o no tener efecto alguno siendo equivalente al polimorfismo en regiones no génicas. Por lo tanto, este tipo de polimorfismo puede o no tener efecto fenotípico. (140)

Las variaciones genéticas en regiones no génicas no tienen efecto fenotípico ya que no altera la secuencia, estructura o función proteica. La mayoría de las mutaciones ocurren en esta región del ADN, son polimorfismos de gran utilidad para identificar individuos genéticamente y para buscar la identificación de los genes que codifican las enfermedades.

En el ADN no codificante existe una gran cantidad de loci polimórficos, este se perpetua libremente de generación en generación, gracias a la falta de trascendencia funcional de las alteraciones, por lo que es el ADN más diferente entre individuos.

Todos los individuos poseen un perfil genético exclusivo, excepto los hermanos gemelos univitelinos, ya que son individuos clónicos con los mismos alelos en cada loci, aunque pueden tener diferencias por mutaciones somáticas.

La huella genética o huella dactilar genética, consiste en el uso de los polimorfismos para la identificación de individuos con una gran fiabilidad. Se usa principalmente los

[Escriba aquí]

polimorfismos de las regiones no codificantes, mini y microsatélite, ya que, entre otras razones, no proporcionan información de características especiales del individuo y evita conflictos éticos. (140)

1.6.2. Las variaciones genéticas en el *cluster* de genes de la Interleuquina 1

Dentro de los productos bioquímicos que participan en la respuesta inflamatoria nos encontramos las prostaglandinas, las interleuquinas y las metaloproteinasas de la matriz. Estas están relacionadas con la enfermedad periodontal. Nosotros nos hemos centrado en la interleuquina 1.

Los genes de la IL-1 se encuentran en el cromosoma 2q13. Existen tres genes que regulan la producción de IL-1. El gen de la interleuquina 1A (*IL1A*), que controla la síntesis de la proteína IL-1alfa (IL-1 α), el gen *IL1B*, que controla la síntesis de la proteína (IL-1 β) y el gen del receptor antagonista de la interleuquina (*IL1RN*) que regula la producción de la proteína antagonista del receptor (IL1-ra), que inhibe la acción de las proteínas IL-1alfa e IL-1beta. El gen *IL1A* e *IL1B* son polimórficos, pues los alelos de ese locus varían entre individuos. (141)

El polimorfismo de los genes *IL1A* y *IL1B*, tiene lugar mediante la sustitución de un par de bases nitrogenadas en un alelo o en los dos, y tiene lugar en un único nucleótido (SNP).

Kornman (142) afirma que los individuos son genotipo positivo para los genes de la IL-1, cuando presentan al menos un polimorfismo (alelo 2) en uno de los alelos del gen *IL1B* y *IL1A*.

El alelo 2 es una de las formas más frecuentes de la secuencia de nucleótidos de un alelo.

Los genes de la *IL1* son autosómicos dominantes ya que ante el polimorfismo en un solo alelo aparecen mayores cantidades de la proteína.

1.6.3 Pacientes con variaciones genéticas específicas a nivel del genotipo del *cluster* de genes de la *IL1* y su variación en la respuesta inflamatoria frente a microorganismos.

[Escriba aquí]

La literatura asocia la interleuquina 1, en especial la IL-1beta con la enfermedad periodontal. En un estudio, González y cols. (143) encontraron un aumento de IL-1beta en las zonas con gingivitis. Examinaron el FGC de 12 pacientes sanos.

Estos resultados se obtuvieron en otros estudios similares. (144,145) Se afirma en diferentes estudios que hay una concentración 10 veces mayor de IL-1beta en zonas con enfermedad periodontal que en zonas sanas. (108, 112, 113)

También Stashenko y colaboradores (146), encontraron una concentración significativamente mayor de IL-1beta en las zonas con enfermedad periodontal, en comparación con zonas inactivas y zonas sanas. A pesar de la controversia natural de la temática numerosos autores han corroborado dichas observaciones. (110, 39)

La IL-1 junto con el TNF alfa, tienen un efecto estimulador de la reabsorción ósea, por lo que la sobreproducción se ha relacionado con la destrucción ósea del tejido periodontal.

En un estudio realizado sobre monos, se observó que se inhibía la reabsorción ósea de la enfermedad periodontal mediante la inhibición de la IL-1 y el TNF. (40).

Algunos polimorfismos en el cluster de genes de la *IL1* producen un aumento de la proteína ante cierta carga bacteriana. Esto se hereda dentro de una familia. Los estudios muestran una mayor síntesis de IL-1beta en células de la serie blanca incubadas con bacterias gramnegativas de pacientes genotipo positivo. (147-149)

En un estudio Pociot y cols. analizaron la síntesis de IL-1beta de monocitos de pacientes. Observaron que los individuos que eran heterocigóticos positivos para el gen *IL1B* producían un 30-40% más de IL-1beta en presencia de *Escherichia Coli*, mientras que los que eran homocigóticos para este gen generaban un 50% más de IL-1beta que los genotipos negativos. (149)

En un estudio se observó que los pacientes genotipo positivo presentaban mayores niveles de IL-1 β en FGC que los pacientes genotipo negativo. (150).

Por tanto, la literatura sugiere que existe una conexión entre los individuos con polimorfismo para el gen *IL1*, un aumento en la producción de IL-1beta en fluido crevicular, y alteraciones a nivel de los tejidos óseos y gingivales de soporte en el paciente. Al menos, se ha llegado a sugerir que un paciente con un perfil genético con respuesta acentuada en cuanto a la sobreexpresión de citoquinas pro-inflamatorias pueda desembocar en daños producidos por un mismo tipo de bacterias residentes o colonizadoras a nivel supra y subgingival.

[Escriba aquí]

JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS DE TRABAJO

[Escriba aquí]

2. Justificación e hipótesis de trabajo

El tratamiento ortodóncico mediante aparatología fija, tiene como efectos adversos, entre otros, la inflamación gingival más o menos severa. Dada la importancia de los eventos inflamatorios en el curso del tratamiento ortodóncico y la influencia de los mismos en los resultados de salud oral finales (presencia de caries, sangrado, dolor, halitosis, retardo en la finalización, entre otros), es necesario la determinación y estudio de aquellos factores desencadenantes, favorecedores e implícitos en la misma. En la actualidad biomédica, la profundización en la predisposición genética a diversas enfermedades es una realidad también extensible al ámbito ortodóncico. El agrandamiento gingival por inflamación gingival secundaria a ortodoncia es una enfermedad de alta prevalencia, pero sin embargo altamente variable en su presentación. Las existencias de perfiles genéticos establecidos podrían representar el sustrato biológico necesario para el establecimiento de un nicho biológico favorable para la colonización de microflora proinflamatoria en un paciente predispuesto de base. Todo ello resalta la necesidad de detectar perfiles de pacientes con un alto moderado y elevado padecimiento de enfermedades orales que han de ser identificadas y diagnosticadas, en cuanto al riesgo de su aparición, de modo previo a la inserción de la aparatología ortodóncica y que han de ser monitorizados con protocolos individualizados durante el tratamiento ortodóncico con pautas profilácticas acordadas y adaptadas a estos perfiles de riesgo.

Por todo ello, la hipótesis de trabajo planteada en el presente trabajo de investigación es: ***“Existen alteraciones específicas a nivel del cluster del gen de la IL1, específicamente, IL1A(rs1800587), IL1B(rs1143634), IL1RN(rs419598), que determinan perfiles genéticos comunes de riesgo que se asocian con un grado de variabilidad y severidad del agrandamiento gingival observable clínicamente y secundario al tratamiento ortodóncico con aparatología fija”.***

[Escriba aquí]

OBJETIVOS

[Escriba aquí]

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos generales.

- Dar sustento bibliográfico actual a la incorporación de parámetros genéticos predictivos de inflamación gingival en pacientes en tratamiento ortodóncico
- Recapitular y analizar de modo crítico aquellos parámetros biológicos que pueden tener valor predictivo en la evaluación de la gingivitis o hiperplasia gingival

3.2 Objetivos específicos

- Profundizar en el uso del análisis genotípico de las variaciones genéticas a nivel del gen de *IL1A(rs1800587)*, *IL1B(rs1143634)*, *IL1RN(rs419598)*, en población ortodóncica española con valor predictivo de inflamación gingival en pacientes con ortodoncia fija.
- Desarrollar y aplicar un método de cuantificación, monitorización del agrandamiento gingival en ortodoncia y establecer su potencial correlación con el perfil de riesgo genético y clínico del paciente.
- Determinar el grado de influencia de parámetros diagnósticos y clínicos, previamente validados en la literatura que puedan estar relacionados con el agrandamiento gingival en pacientes con tratamiento ortodóncico y establecer su grado de asociación en base a su homo/heterocigosidad a nivel de las variaciones genéticas analizadas en el cluster de la *IL1*.

[Escriba aquí]

MATERIAL Y METODOS

[Escriba aquí]

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. Población de estudio y cálculo del tamaño muestral

4.1.1 Población de estudio

El presente trabajo se desarrolló con pacientes obtenidos del Máster de Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial de la Universidad de Sevilla que fueron invitados a participar en el estudio de modo consecutivo. Este estudio se llevó a cabo con el total conocimiento y el consentimiento escrito de cada sujeto, y de acuerdo con los principios éticos regidos por la investigación médica en sujetos humanos, con la aprobación de experimentación por parte del correspondiente Comité Ético de la Universidad de Sevilla.

Todos los sujetos seleccionados en la fase inicial del estudio fueron analizados en cuanto al cumplimiento de los criterios de inclusión: se sometieron a tratamiento de ortodoncia, todos los dientes tenían completada la formación radicular, sin retratamiento de ortodoncia, sin signos de gingivitis o periodontitis. Previo a la colocación de la aparatología, los pacientes fueron instruidos en el cepillado oral por el mismo ortodoncista. Buena salud general sin historia de enfermedades sistémicas, sin pérdida visible de hueso en radiografía, sin tratamiento periodontal en los últimos 6 meses, sin terapia antibiótica en los últimos 6 meses, sin consumo de medicamentos causantes de hiperplasia gingival incluido fenitoína, ciclosporina, nifedipina, verapamilo, diltiazem, felodipino o nicardipina, poco o ningún apiñamiento, sin consumo de pastas dentríficas y enjuagues bucales compuestos por agentes antimicrobianos y sin obturaciones desbordantes.

4.1.2. Cálculo del tamaño muestral

El cálculo del tamaño muestral se realizó atendiendo al grado de severidad de presentación de la variable agrandamiento gingival según el índice establecido para su cuantificación (AIG). De este modo considerando como referencia un error alfa del 5% y una potencia estadística del 80%, se estableció la varianza a partir de los resultados preliminares observados. Se tomó un valor de varianza de 190 en el grupo control y un grado de precisión de 3,9, para encontrar una relación entre la aparición de la lesión y los factores descritos a nivel clínico o en la variación en la secuencia genómica de los

[Escriba aquí]

individuos afectos. Se estimó una necesidad de 155 individuos a lo que se añadió un porcentaje marginal de potenciales pérdidas de un 13%, por tanto, el tamaño muestral requerido fue de 178 sujetos.

4.2 Toma de la muestra y análisis del ADN

Las muestras para el análisis del ADN se obtuvieron a partir de un raspado intraoral de la mucosa yugal del paciente por el mismo técnico, utilizando un hisopo bucal estéril. Estas muestras se colocaron en 1 mL de fluido de transporte reducido y se llevaron al laboratorio.

El ADN se extrajo utilizando el kit DNeasy Spin Column (QIAGEN, Düsseldorf, Alemania), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La amplificación por PCR se realizó mediante PCR multiplex de 16S rDNA (microIDENT®, Hain Lifescience, Hehbrein, Alemania). Un volumen de reacción de 50 µl, que consta de 5 µl de extracción de ADN y 45 µl de mezcla de reacción que contiene 35 µl de mezcla cebador / nucleótido (microDent®), 5 µl de tampón de PCR x 10, 5 µl de MgCl₂ 25 mM y 1 U Taq polimerasa (MBI Fermentas, Vilnius, Lituania). El ciclo de PCR comprende una etapa de desnaturalización inicial a 95°C durante 5 min, 10 ciclos a 95°C durante 30 s y 60°C durante 2 min, de 20°C a 95°C durante 10 s, a 55°C durante 30 s y a 72 ° C durante 30 s con una etapa de extensión final a 72 ° C durante 10 min. Se analizaron las variables contenidas a nivel del cluster del gen *ILI*, específicamente a nivel del gen *IL1A*(rs1800587), *IL1B* (rs1143634), *IL1RN*(rs419598), en las posiciones -889, +3953 y +2018, respectivamente.

4.3 Cuantificación numérica mediante el índice Área de Inflamación Gingival (AIG).

4.3.1 Conceptualización y desarrollo matemático del AIG.

Se desarrolló un modelo matemático para poder cuantificar la superficie de inflamación gingival durante el tratamiento ortodóncico, el índice de Área de Inflamación Gingival (AIG). Este consistió en la toma de tres medidas en la foto sin aparatología o T0; (a) la anchura del bracket, (I_1) la distancia desde el margen gingival a la papila, (I_2) la distancia desde el borde incisal al borde inferior del bracket, (i^*) la distancia desde el

[Escriba aquí]

margen gingival al borde superior del bracket. Se tomaron tres medidas en foto T1, tres meses después de la colocación de la aparatología fija; (d1) distancia desde la papila al margen gingival, (d2) distancia desde la parte superior del bracket a la papila, (d3) distancia desde el borde incisal a la papila.

Tiempo T₀: la superficie del diente estaría formada por media elipse de semiejes l₁ y a y rectángulo de lado l₂ y a. La superficie de ese diente es: $S_0 = a(\pi l_1 + 4l_2)/2$. La distancia l* es la comprendida entre la parte superior del bracket y la del diente.

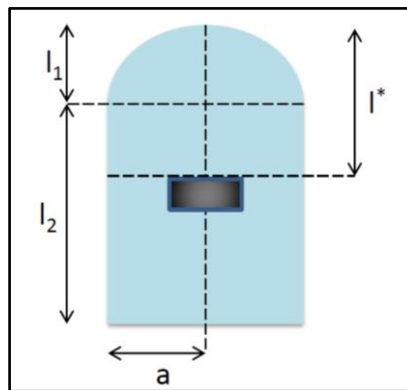


Figura 2. Índice Área de Inflamación gingival en T₀

Tiempo T₁: se miden las distancias d. En este caso la inflamación ocuparía parte de la superficie libre del diente con lo cual estaría compuesta por el espacio entre dos mediaselipses de superficie $S_1 = \pi(a l_1 - (l_1 - (l^* - d_1))(a - (l^* - d_1)))/2$, el cuarto de elipse de la izquierda de superficie $S_2 = \pi(l^* - d_1)(l^* - l_1 - d_2)/4$, el cuarto de elipse de la derecha de superficie $S_3 = \pi(l^* - d_1)(l^* - l_1 - d_3)/4$. Hay que tener en cuenta que en este caso la distancia d₃, como está por debajo del bracket, hay que tomarla como negativa. La superficie total de la inflamación es $S_i = S_1 + S_2 + S_3$. El porcentaje de inflamación es $\vartheta(\%) = 100S_i/S_0$.

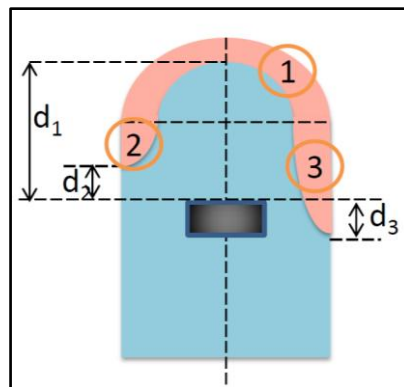


Figura 3. Índice Área de Inflamación gingival en T₁:

[Escriba aquí]

4.3.2 Protocolo de toma de muestra y empleo del AIG.

Los participantes seleccionados para la muestra no presentaban signos clínicos de gingivitis o periodontitis antes del inicio del tratamiento ortodóncico. Para controlar estos parámetros, 4 semanas antes del cribado, los participantes seleccionados fueron sometidos a un estudio periodontal. Se evaluaron los índices de placa siguiendo el Sistema de índice de Placa de Silness y Løe (PI, Silness & Loe modificado por Rateitschak et al (1989) y los índices de sangrado papilar (PBI, Saxer y Mühlemann modificados por Rateitschak et al (1989) (Es decir, 16 sitios por condición de higiene) por dos examinadores entrenados y calibrados. Se realizó un examen radiológico para dos examinadores incluyendo el supervisor radiológico, quien analizó la altura ósea. Los pacientes con pérdida ósea se descartaron del estudio. Para lograr una salud gingival perfecta y, por lo tanto, estandarizar las condiciones basales gingivales, todos los sujetos recibieron una limpieza 2 semanas antes del estudio. En ese momento los sujetos también fueron instruidos en el mantenimiento de una perfecta higiene bucal. A ellos se les enseñó la técnica de Bass modificada. Todos los sujetos fueron instruidos en el uso de hilo dental en todos los sitios. El cumplimiento de estas instrucciones se controló al menos una vez por semana mediante la evaluación de los niveles de placa y sangrado al sondaje. Si era necesario, se repetían las instrucciones hasta que la salud gingival y la higiene bucal fueran perfectas.

Todos los sujetos se abstuvieron de usar pasta con componentes antiinflamatorios entre el cribado y las visitas de confirmación.

En este punto de partida de salud oral, se realizó un análisis fotográfico estandarizado y calibrado. Estas fotografías fueron tomadas por la misma persona, con el paciente en posición frontal al fotografiador y en posición natural de la cabeza, utilizando una cámara digital Canon EOS 500D proporcionando 15,10 megapíxeles efectivos, con un flash anular macro Ring Lite MR-14 EX, y una lente macro EF de 50mm f/2.5.

La escala métrica de referencia usada en todas las fotografías, fue la anchura y altura del bracket de cada diente sobre el que se realizó la medición de la encía del paciente.

Después de la adquisición de la imagen se realizaron las mediciones con el programa Adobe Photoshop. La calibración y el análisis de las imágenes se llevó a cabo utilizando el software Image Pro Plus, que permitió configurar la escala de la imagen y realizar la cuantificación del agrandamiento gingival durante la evolución ortodóncica. Se usaron

[Escriba aquí]

dos fotografías de cada paciente, una antes de la colocación del aparato fijo y otra 3 meses después. Sobre ellas se examinó la encía de los cuatro incisivos superiores en T0 (adhesión de la aparatología fija) y monitorizadas hasta T1 (3 meses).

4.4. Variables clínicas analizadas

Adicionalmente se examinaron todos los factores clínicos descritos en los estudios como desencadenantes del proceso inflamatorio gingival, o aquellos que podían enmascarar o alterar este proceso, siguiendo la metodología modificada previamente validada.

En un primer lugar se analizó mediante un test aquellos pacientes que presentaban hábitos tabáquicos. Estos fueron excluidos del estudio, ya que los pacientes fumadores podrían tener mermados los signos de inflamación, alterando los resultados. (151,152)

Otro factor que se analizó mediante el test fue el consumo de alcohol, atribuyendo una puntuación desde 0, si no ingería alcohol frecuentemente, a 3 con dos o más vasos al día. En la bibliografía se ha encontrado relación entre el consumo de alcohol y la enfermedad periodontal, ya que existían niveles más altos de biofilm en pacientes con una ingesta excesiva de alcohol. (153) Este hecho se relaciona con la deshidratación oral y la reducción del flujo salival, además de la capacidad del alcohol de alterar los niveles de citoquinas en una gran variedad de órganos y tejidos, disminuyendo la respuesta del huésped frente a las bacterias. (154, 155)

Se analizó el nivel de estrés del paciente medido mediante el test de Holmes. (63) A través del cuestionario se recogieron los eventos negativos vitales y su impacto experimentado en los últimos 12 meses. Los autores muestran una relación positiva entre los eventos negativos y la patogénesis de determinados trastornos en el entorno periodontal. (156) Este hecho se ha explicado por una posible alteración en los niveles de interleucina 1 (157), la quimiotaxis, la fagocitosis de los polimorfos nucleares y la proliferación reducida de linfocitos. El estrés puede conllevar cambios en la circulación gingival, alteración del flujo salival y sus componentes (158) e incluso cambios endocrinos, con mayores niveles de glucocorticoides que podrían tener un efecto de supresión inmunológica, por ello se recogió entre las potenciales variables diagnósticas influyentes. (159)

[Escriba aquí]

Adicionalmente se analizó el estado hormonal del paciente mediante el cuestionario, determinando aquellos pacientes que se encontraban en la pubertad, menopausia, gestación o consumían anticonceptivos.(160)

Otro factor analizado fue si el paciente presentaba enfermedades sistémicas que cursaran con problemas periodontales, tales como la diabetes, (161,162) y si esta estaba controlada o no en los últimos 6 meses. Se analizó si presentaban algún tipo de inmunodeficiencia como neutropenia, leucemia, síndrome del Virus de inmunodeficiencia humana adquirida (VIH) o escorbuto.

Se analizó el consumo de medicamentos que pueden afectar al estado gingival del paciente, consumidos 6 meses antes de comenzar el tratamiento de ortodoncia o durante el mismo. Estos medicamentos fueron anticonvulsivos(67), antihipertensivos como bloqueadores del calcio(68,70) ya que causan agrandamientos gingivales, antihistamínicos, analgésicos antiinflamatorios, antibióticos (eritromicina,(74)metronidazol,clindamicina (76) vancomicina, (77) tetraciclina (75) u otros.

Por último, determinamos que el paciente no consumiera enjuagues con componentes antimicrobianos que pudieran modificar la expresión clínica de la gingivitis, tales como la clorhexidina (79), los compuestos fenólicos (82), compuestos con fluoruro de amina o estañoso (80), triclosán, bicarbonato sódico o incluso si usaban irrigación, ya que esta podría disminuir la concentración de mediadores inflamatorios en el fluido crevicular.

4.5 Análisis estadístico

4.5.1 Cálculo del error intra-observador y precisión del método

Todos los procedimientos que se han descrito fueron realizados por el mismo observador experimentado y calibrado (I.M.M) para prevenir el error interobservador. Adicionalmente se determinó el coeficiente de correlación intraexaminador (índice k) para determinar la concordancia y fiabilidad intra-examinador en la clasificación de existencia de inflamación en los sujetos de ambos grupos.

Para determinar el error del método, se realizaron mediciones dobles sobre 60 registros tomados a partir de 15 pacientes seleccionados aleatoriamente. Las mediciones se realizaron en diferentes momentos, con un intervalo de diferencia entre ellas de 3

[Escriba aquí]

semanas, y luego fueron comparadas estadísticamente mediante el test *t de Student* para muestras pareadas y el coeficiente de correlación intraclase, considerando como indicativo de concordancia, entre los valores medios, la ausencia de significancia estadística ($p > 0,05$) y valores superiores a 0.9, respectivamente.

La precisión del método se calculó a partir de la siguiente ecuación: $SE = \sqrt{(\Sigma d^2/2n)}$, donde d es la diferencia entre las mediciones dobles realizadas y n el número de pares de mediciones dobles.

4.5.2 *Determinación de la asociación de variables clínicas y genéticas con la inflamación gingival.*

El análisis univariable de los resultados consistió en un análisis descriptivo de las variables continuas y categóricas.

Las frecuencias alélicas y las distribuciones genóticas se establecieron mediante el test de chi-cuadrado. Asimismo, se empleó un análisis de regresión logística condicional “backward” para obtener una estimación ajustada entre el agrandamiento gingival y las variaciones genéticas a nivel del cluster del gen de la *IL1* permitiendo la evaluación conjunta de la influencia genética y de las variables clínicas. De este modo, adicionalmente se empleó un análisis de regresión logística binaria para evaluar interferencias de todos los parámetros clínicos cuantificados en la inflamación gingival. El riesgo de agrandamiento gingival asociado con los alelos y genotipos se calculó usando la Odds Ratio ajustada (OR), con un intervalo de confianza del 95% y una significación estadística de $p < 0.05$. Se usó el programa estadístico SPSS para el análisis de los datos (versión 13.0, SPP, Chicago, III).

[Escriba aquí]

RESULTADOS

[Escriba aquí]

5. RESULTADOS

5.1 Muestreo y distribuciones genotípicas y alélicas en la población diana

Un total de 177 pacientes de población española, caucásicos, 100 mujeres y 77 hombres, cumplieron el criterio para ser incluidos en el estudio. Estos iniciaron el tratamiento con aparatología fija de Ortodoncia en la Universidad de Sevilla. La media de edad cronológica del grupo fue de 20,19 años. El promedio de edad para las mujeres fue de 19,6 +/- 8,95 años con un rango de 46, mientras que para los hombres fue de 20,96 +/- 10,7 años con un rango de 43. Figura 4

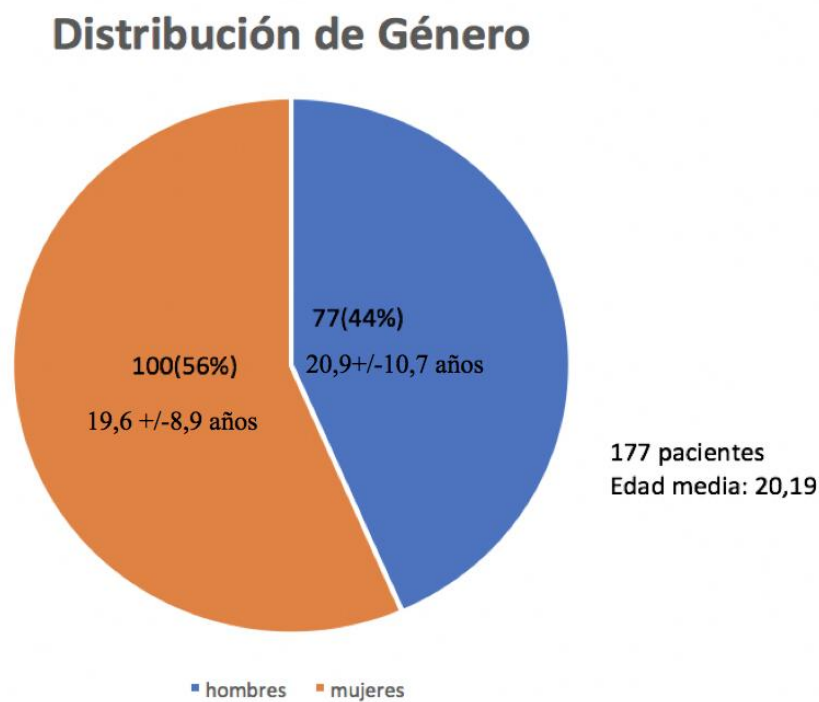


Figura 4. Distribución de género de la muestra

[Escriba aquí]

De los factores clínicos analizados en la muestra, el primer factor fue el consumo de tabaco. Respecto a la distribución de este, hubo 149 pacientes no fumadores (84,2%), 3 personas (1,7%) con un consumo menor a 200 cigarillos al año, un paciente (0,6%) con un consumo mayor de 200 cigarillos al año, 20 pacientes (11,3%) con menos de 10 cigarillos al día y 4 personas (2,3%) que fumaban más de 18 cigarillos al día, como se observa en la Figura 3.

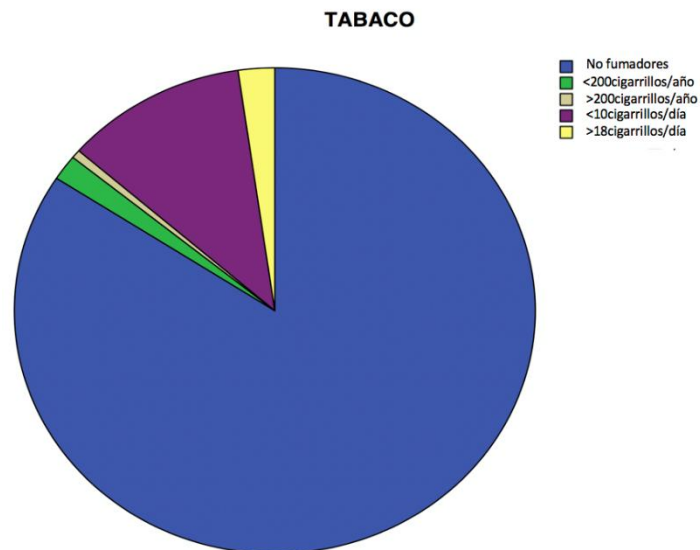


Figura 5. Distribución de consumo de tabaco de la muestra

El segundo factor analizado fue el consumo de alcohol. De los 177 pacientes de la muestra, hubo 174 pacientes que no lo consumían de manera frecuente, un 1.1 % tomaba un vaso al día y el 0.6% menos de dos vasos al día.

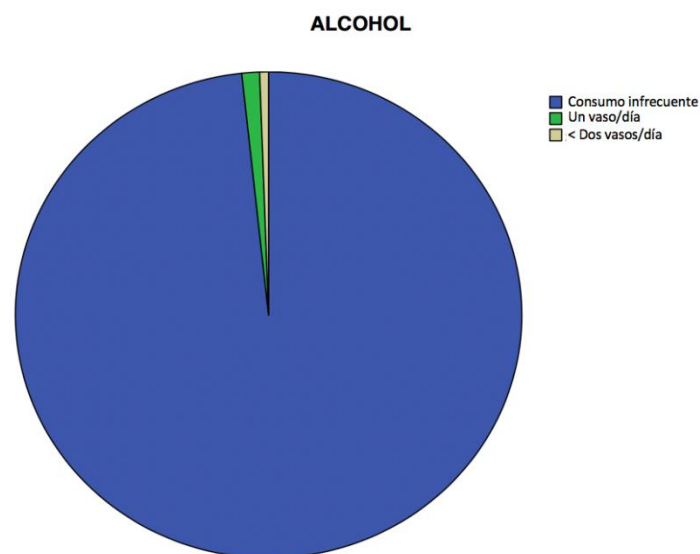


Figura 6. Distribución de consumo de alcohol de la muestra

[Escriba aquí]

El tipo de respiración fue otro valor analizado. De los 177 pacientes hubo 136, es decir un 76,8% con respiración nasal, y 40 personas (22,6%) con respiración oral (22,6%).
Figura 7.

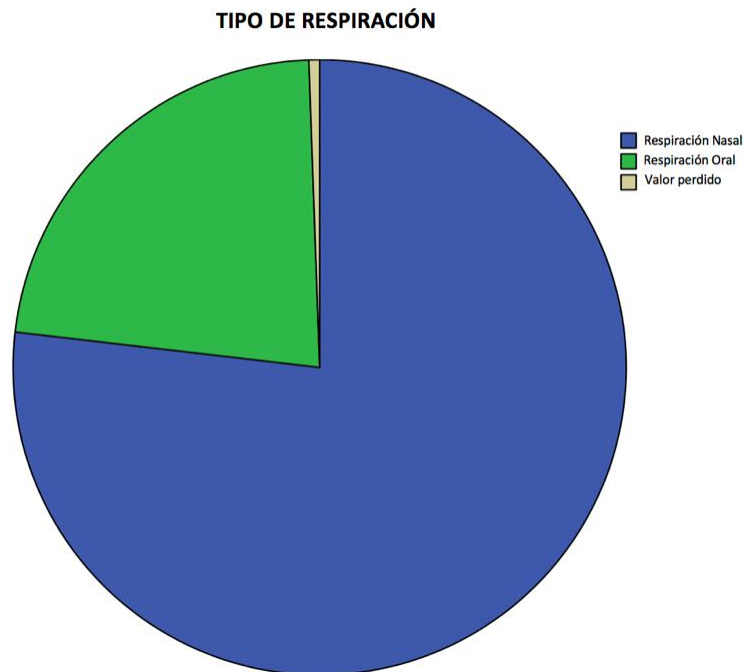


Figura 7. Distribución del tipo de respiración de la muestra

Se analizó la higiene de los pacientes usando el índice de placa. Hubo 35 pacientes (19,8%) que no presentaron placa, 105 que tenían placa en 1/3 de la corona supragingival, 27 pacientes (15,3%) con más de 1/3 de la corona supragingival y 10 pacientes (5,6%) que presentan placa en más de 2/3 de la corona supra y subgingival.
Figura 8.

[Escriba aquí]

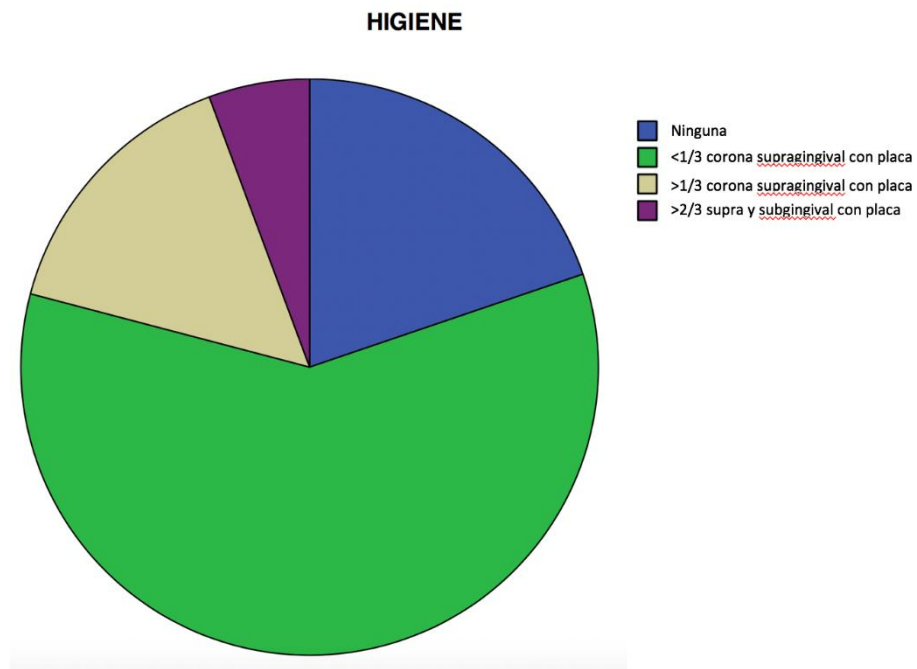


Figura 8. Distribución del Índice de Placa

De la muestra analizada, hubo 4 pacientes (2,3%) con alergia por contacto con componentes de la pasta dentrífica, mientras que 173 no tenían ninguna (97,7%). Figura 9.

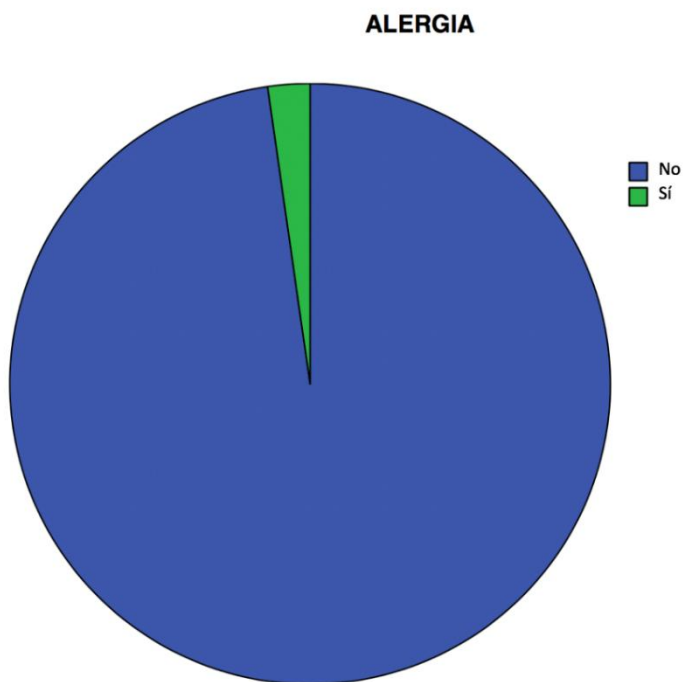


Figura 9. Distribución de pacientes con afectación positiva a cualquier tipo de alergia

[Escriba aquí]

Respecto a la distribución de enfermedades sistémicas, no hubo pacientes con ningún tipo de inmunodeficiencia, sólo un paciente presentaba escorbuto (0,6%), y no hubo ningún paciente con diabetes.

Se analizó el nivel estrés mediante el test de Holmes. El 96% (170 pacientes) presentaban una puntuación de 0, el 2,3% (4 pacientes) tenían un riesgo bajo con una puntuación por debajo de 150, el 2 % presentaba un riesgo moderado con una puntuación entre 151 y 299, y un 1 % un riesgo alto con más de 300 puntos. Figura 10.

Respecto a la distribución de hormonas sexuales, como se observa en la figura 11, el 66,1% (117) de la muestra se encontraba en estado de pubertad, el 26,6% (47) en la menopausia, un 2,3% (4) estaban embarazadas, y un 5,1% (9) consumían anticonceptivos. Figura 11.

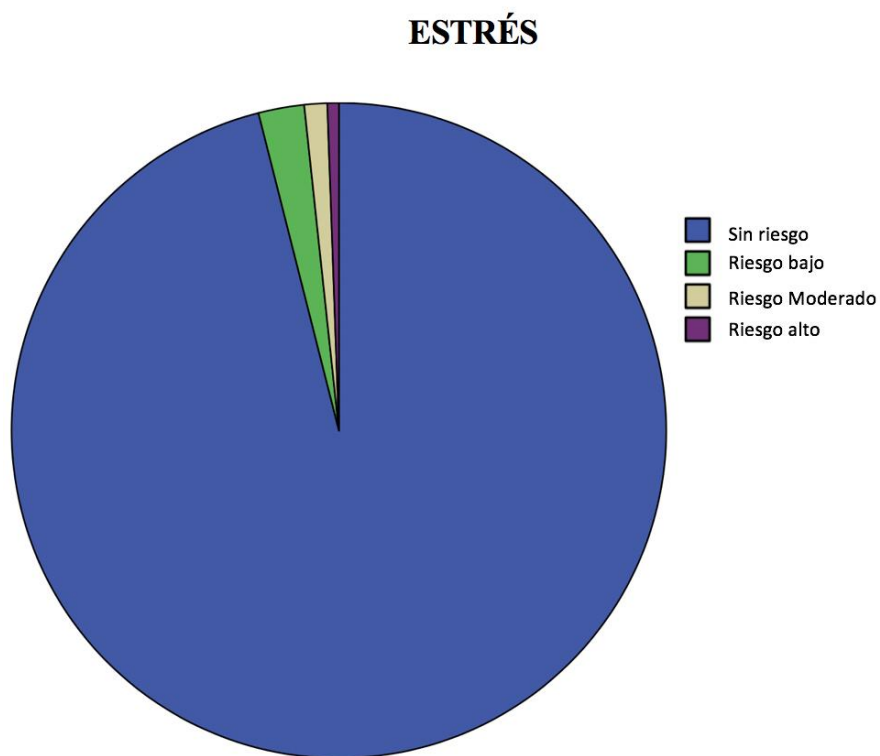


Figura 10. Distribución del riesgo de Estrés según el Test de Holmes. (63)

[Escriba aquí]

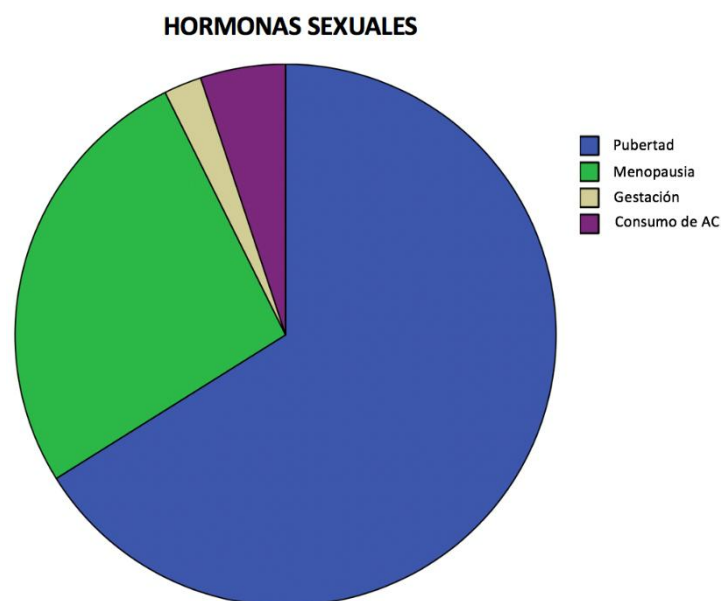


Figura 11. Distribución de afectaciones y hábitos evaluables con componente de interacción hormonal (hormonas sexuales) determinadas en la literatura. AC: Anticonceptivos

En relación al genotipo secuenciado para las variables analizadas, las distribuciones genotípicas fueron las esperadas para población general, siguiendo datos de estudios de población previos.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?geneId=3553

Tabla 1. Genotipo y frecuencia de alelos para el grupo de genes del cluster de la IL 1: IL1A(-889), IL1B(+3953), IL1RN (+2018)

GENES (SNP)	Pacientes n=177				
	Genotipo fr. [n(%)]			Alelos fr. [n(%)]	
	CC	CT	TT	C	T
IL1A-889 (rs1800587)	82 (46.3)	65 (36.7)	30(16.9)	229 (31.89)	125(38.34)
IL1B+3953 (rs1143634)	99(55.9)	70 (39.5)	8 (4.5)	268 (37.32)	68 (20.85)
IL1RN +2018 (rs419598)	77(43.5)	67 (37.9)	33 (18.6)	221 (30.77)	133 (40.79)

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido. IL1: Interleuquina 1. IL1A: Gen que codifica la IL-1 α . IL1B: Gen que codifica la aIL1 β . IL1RN: Gen que codifica la IL1r α

[Escriba aquí]

Como se muestra en la tabla 1 se encontró una frecuencia para el genotipo CC del 55.9%

para la *IL1B*, del 46.3% para la *IL1A* y del 43.5% para la *IL1RN*. La frecuencia del genotipo CT fue del 36.7 % para la *IL1A*, 39.5% y del 37.9% para la *IL1RN*. En la muestra incluida en el presente trabajo se detectaron 30 pacientes con el genotipo homocigótico para el alelo T a nivel del gen de *IL1A*, 8 pacientes con la *IL1B* y 33 para la *IL1RN*.

Las frecuencias alélicas determinadas en la presente muestra fueron del 31.89 % del C para la *IL1A*, 37.32 % para la *IL1B* y del 30.77 % para la *IL1RN*. El alelo T fue más frecuente para la *IL1RN* con un porcentaje del 40.79, del 20.85 % para la *IL1B* y 38.34 % para la *IL1A* como se muestra en la figura 12.

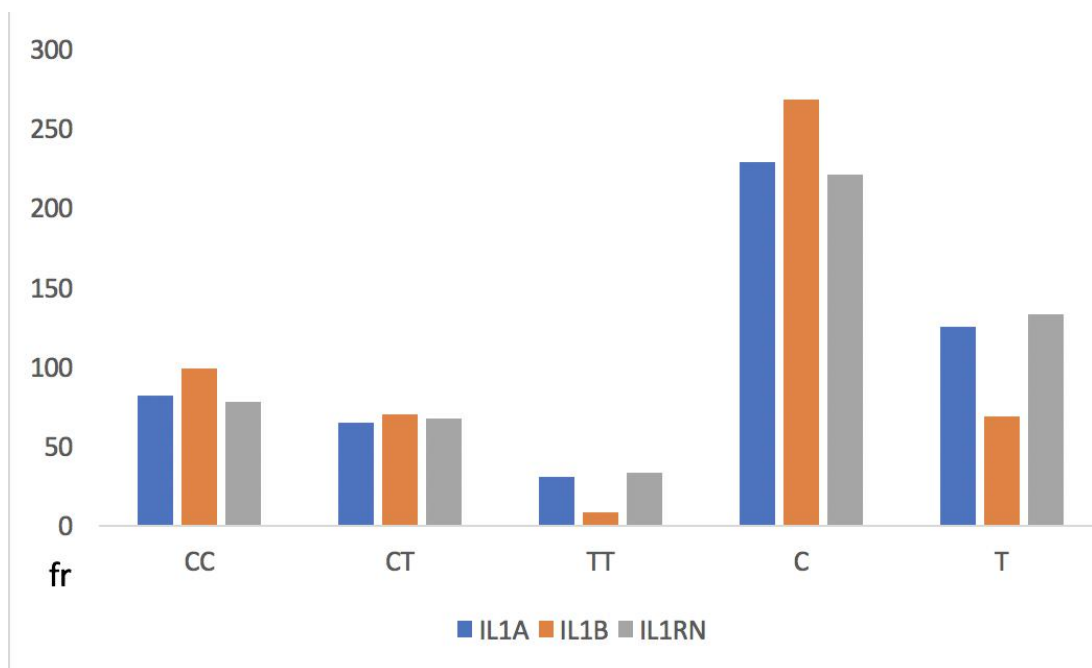


Figura12. Distribuciones genotípicas y frecuencias alélicas para el gen de la *IL1*

[Escriba aquí]

5.2 Asociación del riesgo agrandamiento gingival inflamatorio secundario a tratamiento ortodóncico y el perfil genético a nivel del *cluster* de genes de la *IL1*.

En cuanto a la fiabilidad del método empleado, el error intraobservador cuantificado fue admisible ($k:0.86$) en las mediciones realizadas, así como el coeficiente de correlación intraclass absoluto (0.91) y la precisión del método estableciendo un valor máximo de diferencia de $1,57$ en las diferencias del cálculo de porcentaje de agrandamiento analizado.

Los sujetos homocigóticos para el alelo 1 del gen *IL1RN* presentaron una susceptibilidad aumentada al padecimiento de inflamación gingival [OR:4.32;2.198-8.49; $p=0.001$; CI:95%]. Específicamente, los sujetos homocigóticos presentan un riesgo cuatro veces aumentado de sufrir un proceso inflamatorio comparativamente con los sujetos homocigóticos o heterocigóticos para el alelo T . Asimismo los individuos heterocigóticos u homocigóticos para el alelo menos frecuente describieron una tendencia protectora frente al padecimiento de dicha inflamación de un modo estadísticamente significativo [OR:0.35;0.164 - 0.747; $p=0.006$;CI:95% // OR:0.11;0.025-0.491; $p=0.001$;CI:95%].

Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para los sujetos homocigóticos y heterocigóticos para los alelos más frecuentes de los genes *IL1A* e *IL1B* [OR:2.9;3.1-9.2; $p=0.09$; CI:95%] y [OR:1.48;0.81-2.73; $p=0.4$; CI:95%], respectivamente.

5.3 Normalización de la interferencia del agrandamiento gingival inflamatorio secundario a tratamiento ortodóncico con diferentes factores clínicos asociados.

Con la intención de normalizar el impacto de las observaciones realizadas en cuanto al agrandamiento detectado y su potencial etiología multifactorial se realizó un análisis de regresión logística condicional considerando los factores más frecuentemente asociados en la literatura con el agrandamiento gingival inflamatorio como el tabaco(151,152), el alcohol(153), el estrés (63,156,157,159), el estado hormonal (160), la diabetes o cualquier estado de inmunodeficiencia, (161,162), el consumo de medicamentos como anticonvulsivos (67), antihipertensivos (68,70), antihistamínicos, analgésicos, antiinflamatorios, antibióticos como eritromicina (74), metronidazol, clindamicina (76), vancomicina (77), tetraciclina(75), consumo de enjuagues con clorhexidina, (79)

[Escriba aquí]

compuestos fenólicos (82) o compuestos con fluoruros de amina o estañoso (80).

Tabla 2. Factores influyentes en la inflamación gingival y su normalización

	OR	S.E	Wald	Df	Valor de P
<i>Edad</i>	0,016	0,036	0,203	1	0,653
<i>Sobremordida</i>	-0,279	0,359	0,604	1	0,437
<i>Apiñamiento</i>	0,425	0,557	0,582	1	0,554
<i>Respiración Oral</i>	1,043	0,585	3,181	1	0,075
<i>Higiene</i>	3,19	,799	,160	1	0,690
<i>Alergia</i>	20,336	22655,014	,000	1	0,999
<i>Tabaco</i>	-,071	,259	,074	1	0,786
<i>Alcohol</i>	,672	1,962	,117	1	0,732
<i>Clorhexidina</i>	-,419	,537	0,609	1	0,435
<i>Hormonas sexuales</i>	-,146	,555	,069	1	,793
<i>Obturaciones debordantes</i>	-1,616	1,884	,736	1	0,391
<i>Estrés</i>	,902	1,148	,618	1	0,432
<i>Sexo</i>	,848	,481	3,112	1	0,078

OR: Odd ratio

Analizando en detalle la matriz de resultados obtenida en la población diana estudiada, una vez realizados los ajustes pertinentes, se observó la no interacción de factores clínicos potenciadores con un grado de asociación estadísticamente significativas, entre los factores clínicos de confusión que pudieran afectar al agrandamiento gingival (Tabla 2). Entre estos valores clínicos analizados, se midió el apiñamiento mediante el Índice de Little, asociándose éste con un riesgo 0.279 veces mayor de sufrir agrandamiento gingival. La edad y la sobremordida no aumentaron el riesgo de sufrir inflamación, con una OR de 0.016 y 0.279 respectivamente.

Se analizaron los pacientes que presentaban respiración oral y estos obtuvieron un riesgo 1.043 veces mayor. Aquellos pacientes que presentaban algún tipo de alergia tuvieron un riesgo 20.33 veces mayor que el resto. El consumo de tabaco aumentó 0.071 veces el riesgo de sufrir inflamación, mientras que el alcohol 0.672.

El uso de enjuagues con clorhexidina estuvo asociado con un riesgo 0.419 veces mayor, el aumento de hormonas sexuales por estados de pubertad, menstruación, gestación o consumo de anticonceptivos aumentó el riesgo 0.146 veces.

Las obturaciones desbordantes, el estrés y el sexo tampoco interaccionaron con las medidas gingivales, con una OR de 1.616, 0.92 y 0.848 respectivamente.

[Escriba aquí]

Tabla 3. Correlación entre los genes de la IL-1 y la inflamación gingival.

	Inflamación	<i>IL1A</i> . 11	<i>IL1A</i> . 12	<i>IL1A</i> . 22	<i>IL1B</i> .11	<i>IL1B</i> . 12	<i>IL1B</i> .22	<i>IL1RN</i> . 11	<i>IL1RN</i> .12	<i>IL1RN</i> .22
Correlación de Pearson	1	-,097	,071	,038	-,088	,097	-,019	-,247**	,172*	,163*
Sig. (2 series)		,201	,351	,619	,246	,198	,799	,001	,022	,030
N	177	177	177	177	177	177	177	177	177	177

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido. IL1: Interleuquina 1. *IL1A*: Gen que codifica la IL-1 α . *IL1B*: Gen que codifica la a *IL1* β . *IL1RN*: Gen que codifica la IL1 γ

No se encontró correlación entre los genes *IL1A*, *IL1B* y la inflamación en la muestra analizada, en esta línea señalada en el epígrafe anterior, las variaciones genéticas en el gen *IL1RN* se observó influyen de modo estadísticamente significativo con el agrandamiento gingival durante el tratamiento de ortodoncia, así como se corrobora en las tendencias del coeficiente de correlación de Pearson. (Tabla 3)

[Escriba aquí]

DISCUSIÓN

[Escriba aquí]

La inflamación gingival es un problema muy frecuente en los pacientes con ortodoncia fija. (97,99,130,163,164,) Esto dificulta el tratamiento con aparatología y puede evolucionar produciendo problemas periodontales, aunque en la mayoría de los casos esta inflamación es reversible.(165)

En nuestro estudio los valores de inflamación gingival aumentaron entre el inicio y el final del tratamiento en todos los pacientes tratados con ortodoncia fija. Este hecho esta muy contrastado en la literatura.

Zachrisson y Zachrisson (98) encontraron que incluso después de mantener una excelente higiene oral, los pacientes experimentaban gingivitis de leve a moderada 1-2 meses después de la colocación de la aparatología.

La causa se ha relacionado con varios factores como un acúmulo de placa por el aumento en la dificultad del cepillado, un cambio en la flora producido por la aparatología y una predisposición genética diferente entre individuos.

Liu y col. (166) sugirieron que la explicación podía deberse a una mayor acumulación de placa dental como consecuencia de la aparatología, produciendo inflamación gingival, con un aumento significativo del índice de placa (PI) y el índice gingival (GI) en un corto tiempo después del inicio del tratamiento.

En nuestro estudio se realizó una profilaxis previamente al inicio del tratamiento de ortodoncia, se llevó a cabo instrucciones de cepillado y se controló la placa durante los tres meses de tratamiento para descartar la placa como factor de confusión.

Boyd y col(167), Eid y cols (168) en sus estudios encontraron mayor inflamación gingival en el grupo de adolescentes durante la ortodoncia comparado el grupo adulto. Ellos afirman que este hallazgo puede deberse a un mayor compromiso con la higiene oral por parte de los adultos, ya que la decisión para el tratamiento de ortodoncia no esta influenciado por padres o compañeros. Además, afirman que las coronas clínicas de los adultos son más largas facilitando la eliminación de la placa. Otro factor puede ser el período que atraviesan los adolescentes con cambios a nivel hormonal, que puede contribuir a la inflamación en algunos casos.

Nuestro estudio se llevó a cabo en pacientes con una media de edad de 20,19 años, ya que la mayoría de los agrandamientos gingivales durante la ortodoncia se dan a esta edad, y es un problema frecuente en el tratamiento de adolescentes en la clínica. Por ello, una limitación de este estudio fue la posible influencia de los factores hormonales

[Escriba aquí]

de la adolescencia en la inflamación gingival desarrollada por estos pacientes, como un factor de confusión.

Karkhanechi y cols. (169) observaron a los 6-12 meses de tratamiento, un menor acúmulo de placa en los pacientes tratados con alineadores removibles en comparación con el grupo con ortodoncia fija. Este hecho lo atribuyeron a un mayor acceso para la higiene oral. El decremento de los niveles de placa se asoció con el decremento en la inflamación gingival. Estos resultados son similares a los encontrados en los estudios de Miethke y Brauner (170) que compararon el estado periodontal en pacientes tratados con invisalign y ortodoncia fija, encontrando mejor índice periodontal en el primer grupo.

Sallum y cols. (171) observaron una reducción significativa en el índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje con la retirada de la aparatología.

En relación al tratamiento de ortodoncia fija y el cambio de flora microbiana, son muchos los estudios que afirman que la terapia con aparatología fija produce una disminución de aerobios gram positivos y un aumento de bacterias anaerobias periodontopatógenas gram negativas por lo general, desencadenando inflamación gingival (11,133,135,172,173,174,209). Paolantonio y cols. (133) demostraron que los sujetos jóvenes que usaban aparatos ortodónticos fijos presentaban un aumento de *Actinomyces comitans* en comparación con los pacientes sin aparatos. Ristic y cols. (11) encontraron un aumento de *Prevotella Intermedia* anaerobios periodontopatógenos como *actinomyces comitans* con la ortodoncia fija. Scheie y cols. (137) concluyeron en su estudio que la colocación de ortodoncia producía una disminución transitoria en la cantidad de *Streptococcus mutans*, este hecho lo atribuyeron al proceso de embandado.

Speer y cols. (175) observaron una reducción de bacterias aerobias y anaerobias subgingivales con la ortodoncia, hecho que atribuyeron a la corrosión de los metales y a la liberación de níquel con efecto tóxico sobre las bacterias.

Liu y cols. (176) observaron una reducción de *porphyromonas gingivalis* a los 6 meses de la retirada de la aparatología, hecho que relacionaron con una disminución de la inflamación gingival. Dichos resultados también se encontraron en estudios anteriores. (134,177,178)

[Escriba aquí]

La gravedad de la inflamación varía dependiendo de muchos factores como son la higiene del paciente, enfermedades sistémicas, hábitos tabáquicos, ciclos hormonales y otros factores locales que se escapan de nuestro control

Respecto al método de medición de la inflamación, muchos métodos actuales (210) son derivados de sistemas existentes anteriores, como Harris y el sistema 0-3 de Ewart.(179) Las mediciones de la encía se realizaban sobre fotografías dando una puntuación de 0-3 según el grado de invasión gingival sobre la superficie del diente y la gravedad. Entre otros métodos, encontramos el sistema fotográfico de Ellis y cols., (180) que usó fotografías de los dientes de los pacientes, proyectadas en una pantalla grande. Se les asignó una puntuación que indicaba el nivel de invasión de la papila anterior de 0 a 3. Este método se aplicó a superficies labiales de los dientes anteriores. La limitación de la mayoría de los índices está relacionada con la subjetividad de la puntuación del examinador y el nivel de normalización del método alcanzable. Con el índice AIG desarrollado en nuestro estudio se obtuvo una gran reproductibilidad y fiabilidad del método. La repetición de las mediciones permitió descartar la subjetividad del mismo, con un alto grado de precisión y cuantificación.

Smith y cols. (181) en un estudio en 2008, realizaron un análisis de un método de medición de inflamación gingival, consistente en una toma de fotografías con un aparato descrito por Smith y cols. con una plataforma de montaje para una cámara digital y un marco alrededor de un aparato cefalométrico de posicionamiento de la cabeza. Colocaron un disco rojo sobre la fotografía, que se usó de referencia para valorar el tamaño de la encía y el color comparándolo con el color del disco. Este método mostró fiabilidad, pero fue probado sólo en 20 pacientes, por lo que se requieren más estudios al respecto.

El método AIG que hemos desarrollado y utilizado en este estudio, a diferencia de otros métodos permite evaluar de forma rápida sobre fotografías los cambios superficiales producidos por el agrandamiento gingival, que es el signo clínico más común en la ortodoncia. Al realizar la medición sobre una fotografía en dos dimensiones, este método no permite medir el volumen, este problema será solventado en el futuro con la introducción del escáner intraoral que permitirá la conversión volumétrica de estas mediciones. La ventaja de este método es la capacidad de informatización del mismo cálculo y la digitalización de las imágenes, permitiendo el seguimiento fotográfico del paciente en cuanto al grado de inflamación desarrollado.

[Escriba aquí]

Respecto a la relación entre el aumento de biomarcadores y el padecimiento de inflamación gingival, autores como Petra y cols. (182) en un estudio en 2010, encontraron un aumento de MMP8 en las primeras horas tras la colocación de ortodoncia fija, por lo que concluyeron que el aumento de este factor en el GCF podía ser predictivo de inflamación gingival en cortos periodos de tiempo.(183,184)

Recientes estudios relacionan la expresión de biomarcadores como el factor *kb* ligando y la osteoprotegerina en el fluido crevicular con pacientes fumadores y periodontitis.

La concentración de algunas citoquinas parece ser factor pronóstico de algunas enfermedades como la periodontitis o la inflamación gingival, ya que esta respuesta inflamatoria esta en parte mediada y regulada por citoquinas proinflamatorias, como la IL-1beta, que juega un papel fundamental. (29,211,212,213)Estudios recientes han mostrado también que estas citoquinas son determinandes de otras enfermedades provocadas por la ortodoncia, como la reabsorción radicular. Al- Qawasmi y cols. (185) en 2003 establecieron evidencia de la asociación entre el polimorfismo de la interleuquina 1beta (*IL1B*) con la manifestación clínica de la reabsorción radicular en un estudio de 35 familias blancasBastos Lages y cols.(186)

en 2009 determinó que los sujetos portadores de un polimorfismo del gen *IL1B* (+3594T) tenían un riesgo aumentado de sufrir reabsorción radicular.

Iglesias-Linares y cols.(187) en un estudio en 2012, afirmaron que las variaciones en el gen antagonista del receptor de la interleuquina 1 (rs419598), y no sólo en el gen *IL1B(rs1800587)* son determinantes de una predisposición a sufrir reabsorción radicular tras la ortodoncia.

En nuestro estudio encontramos relación entre la inflamación y los niveles de IL-1beta en pacientes con ortodoncia. En este sentido, Ejeil y cols. (188)demostraron que había mayores concentraciones de IL-1beta en muestras de encía con inflamación que en encía sana. Deinzer y cols. observaron mayor acúmulo de placa y mayores concentraciones de IL-1beta en pacientes con gingivitis espontánea que en sujetos sanos. (189) Por el contrario, diversos estudios mostraron concentraciones muy bajas de IL-1beta en pacientes periodontalmente sanos. (190, 191)

En un estudio de gingivitis experimental, encontraron un aumento de IL-1beta en el fluido crevicular, con una respuesta más baja y retrasada en el grupo femenino en comparación con el masculino. (192)Resultados similares encontraron Galbraith y

[Escriba aquí]

cols.(193) En la literatura no parece haber más datos sobre diferencias de género en la secreción de IL-1beta, de hecho, es un factor que raramente se monitoriza o se controla.

Ante una misma cantidad de placa no todos los pacientes desarrollan la misma respuesta inflamatoria. Numerosos estudios muestran que existe diferente predisposición genética entre individuos determinando la interacción huésped- bacteria.

Scarpoli(194)encontró diferencias significativas en la respuesta inflamatoria a la ortodoncia en dos grupos de sujetos con diferente polimorfismo de la *IL1B*, y con tasas similares de placa.

Trombely L y col (101) investigaron la asociación entre la expresión de IL-1beta en GCF y suero, con dos polimorfismos para el gen *IL1B* en la región promotora (en 511) y en el exón V (en 13954). Sus resultados confirman datos de estudios previos en los que el genotipo *IL1B13954* se ha relacionado con la producción de IL-1beta.(149)

Hay estudios que apoyan la hipótesis de que las respuestas inflamatorias sistémicas a la infección crónica son moduladas por factores genéticos del huésped, y que la producción local de mediadores inflamatorios determina la concentración sérica de reactivos en fase aguda, como PCR. Un estudio en 2003(195) afirmaba que la asociación entre la aterosclerosis y la carga patógena estaba modulada por el polimorfismo de la *IL6/G* y 174c. Este alelo mostraba concentraciones más altas de IL-6 en suero.

En otro estudio en 2004 (196)se encontraron resultados similares. En pacientes con periodontitis severa, se encontró asociación entre los niveles séricos de IL-6 y el polimorfismo en el alelo 2 de los genes *IL-1alfa, TNF-A e IL-6*.

Jan Van Gastel, encontró mayores concentraciones de interleuquina-6 e interleuquina-8 antes del tratamiento ortodóncico. Se demostró que eran factores predictivos significativos para la inflamación gingival. Este estudio a diferencia del nuestro contaba con una muestra pequeña de 24 pacientes. (197)

Numerosos estudios sobre periodontitis crónica y biomarcadores han mostrado un aumento de citoquinas proinflamatorias en el GCF, incluyendo la IL-1beta en sitios activos de la enfermedad en comparación con sitios inactivos. (198) A este respecto, los genotipos *IL-1B¹³⁹⁵⁴*CT y TT se han asociado con una mayor expresión de IL-1beta mRNA en pacientes con periodontitis, pero no con gingivitis. Además, se encontró un efecto positivo del genotipo *IL-1B¹³⁹⁵⁴* en la regulación de la IL-1beta en los tejidos con

[Escriba aquí]

periodontitis. (199)

Se ha demostrado que los sujetos positivos al genotipo *IL-1B13954* son más propensos a albergar mayor cantidad de especies periodontopatógenas en comparación con sujetos genotipo negativo. (200)

En el nuestro estudio, observamos que los sujetos homocigóticos para el alelo 2 del gen *IL1B* presentaron una susceptibilidad aumentada al padecimiento de inflamación gingival

A este respecto, se necesitan más estudios para determinar el papel de la IL-1beta, no sólo como un marcador en la gingivitis producida por placa, si no en la compleja interacción parásito-huésped y en la evolución de gingivitis a periodontitis. En nuestro estudio encontramos que existe predisposición genética al desarrollo de gingivitis. Los sujetos en tratamiento ortodóncico con polimorfismo para *IL1B* tenían un mayor riesgo de inflamación gingival.

El receptor antagonista de la IL-1 es una citoquina antiinflamatoria, que inhibe las funciones de la IL-1. Hay evidencia de que parte de la producción de la IL-1Ra esta genéticamente mediada por el gen *IL1RN*.

Muchos estudios han relacionado el alelo de la *IL1RN*2* con diferentes enfermedades inmunológicas como la Espondilitis Anquilosante (201), el Síndrome de Sjögren, (202) o la Alopecia Areata. (203)

Laine y cols. (204) encontraron una mayor frecuencia del alelo 2 en la *IL1A* (-889), *IL1B* (+3954) e *IL1RN* en pacientes caucásicos con periodontitis que no presentaban *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.

Meisel y cols. (205) mostraron que los pacientes caucásicos fumadores positivos al alelo 2 de la *IL-1RN* y al gen de la *IL1A* tenían una mayor frecuencia de pérdida de soporte óseo.

Waschul y cols. (192) observaron en su estudio de gingivitis experimental, un aumento de IL-1 beta en el fluido crevicular, hecho que no se acompañó del aumento de su receptor antagonista IL-1ra. Este resultado fue inesperado, sin embargo, se ajusta a los resultados equívocos de estudios anteriores sobre la IL-1ra en periodontitis. (108,113,206)

[Escriba aquí]

El papel de la IL-1ra parece no estar claro en la literatura. Dashash y col. realizaron un estudio de gingivitis experimental con placa en 21 días y observaron que *IL1RN* * 2 es un factor protector en lugar de un factor de riesgo contra la gingivitis en niños caucásicos. Este alelo fue significativamente más frecuente en los controles que en los niños con gingivitis mientras que observaron un aumento del riesgo de tener gingivitis en pacientes negativos al alelo *IL1RN**2 que en los pacientes positivos a este. La inflamación producida por placa estaba mediada por un aumento de IL- 1 beta, que era especialmente mayor en los pacientes con genotipo positivo para la *IL1B*.(207)

Los datos de nuestro estudio muestran que la hipertrofia está mediada indirectamente por el gen del receptor antagonista de IL-1 (*IL1RN*). Al contrario que los resultados obtenidos en el artículo de M. Dashash, nuestros datos indican que los altos niveles del gen *IL1RN* en pacientes con hipertrofia gingival podrían producir este tipo de respuesta defensiva. Por lo tanto, los niveles aumentados de esta citoquina pueden indicar una mayor susceptibilidad a la inflamación gingival. En el presente estudio los sujetos homocigotos para el alelo 1 del gen de la *IL1RN* SNP (rs419598) tuvieron un riesgo mayor de sufrir hiperplasia gingival durante la ortodoncia.

Estos resultados deberían ser corroborados y estudiados a largo plazo, con el fin de desarrollar métodos predictivos rápidos que puedan ser usados en clínica para determinar la predisposición genética de los pacientes que van a ser tratados con ortodoncia fija, a sufrir inflamación gingival, para así poder tomar medidas preventivas rentables en la práctica privada adecuadas a cada paciente. Además, los esfuerzos para desarrollar agentes contra la gingivitis siguen siendo un objetivo importante en la prevención de la periodontitis. (208)

En el contexto de estos esfuerzos, el desarrollo de criterios o pruebas para identificar aquellos sujetos altamente susceptibles a la gingivitis, puede proporcionar una herramienta única y poderosa para diseñar e implantar ensayos clínicos dirigidos a la evaluación de agentes antimicrobianos sistémicos y tópicos, y otros agentes modificadores de la respuesta del huésped.

[Escriba aquí]

CONCLUSIONES

[Escriba aquí]

7. CONCLUSIONES

- El índice de área de inflamación gingival (AIG) es un método de medición que permite evaluar sobre fotografías de manera efectiva y rápida los cambios gingivales en cuanto a superficie, producidos por agrandamientos gingivales.
- Las variaciones en la base genética del gen *IL1RN* de los pacientes en tratamiento ortodóncico tienen una mayor tendencia a presentar agrandamiento gingival secundario a tratamiento con ortodoncia fija.
- Los sujetos homocigóticos presentan un riesgo cuatro veces aumentado de sufrir un proceso de agrandamiento gingival comparativamente con los sujetos homocigóticos o heterocigóticos para el alelo T, [OR:4.32; p=0.001].
- Los individuos heterocigóticos u homocigóticos para el alelo menos frecuente describieron una tendencia protectora frente al padecimiento de esta alteración gingival [OR: 0.35; p= 0.006 // OR: 0.11; p= 0.001].
- No se observaron diferencias estadísticamente significativas para los sujetos homocigóticos y heterocigóticos para los alelos más frecuentes de los genes *IL1A*e*IL1B* [OR:2.9; p=0.09] y [OR: 1.48; p=0.4], respectivamente.

[Escriba aquí]

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[Escriba aquí]

1. Baldwin A. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol.* 1996;14:649-83.
2. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol.* 2001;2(8):675-80.
3. Zandi E, Chen Y, Karin M. Direct phosphorylation of IkappaB by IKKalpha and IKKbeta: discrimination between free and NF-kappaB-bound substrate. *Science.* 1998;281(5381):1360-3.
4. Letterio J, Roberts A. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:137-61.
5. Massague J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *EMBO J.* 2000;19(8):1745-54.
6. Ihle JN. Cytokine receptor signalling. *Nature.* 1995;377(6550):591-4.
7. Ihle JN. STATs: signal transducers and activators of transcription. *Cell.* 1996;84(3):331-4.
8. Darnell J. STATs and gene regulation. *Science.* 1997;277(5332):1630-5.
9. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13(4-5):413-21.
10. Lara-Carrillo E, Montiel-Bastida N, Sánchez-Pérez L, Alanís-Tavira J. Effect of orthodontic treatment on saliva, plaque and the levels of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(6):924-9.
11. Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. *Int J Dent Hyg.* 2008;6(2):129-36.
12. Pan S, Liu Y, Zhang L, Li S, Zhang Y, Liu J, et al. Profiling of subgingival plaque biofilm microbiota in adolescents after completion of orthodontic therapy. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171550
13. Darveau R, Tanner A, Page R. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997;14:12-32.
14. Page R, Schroeder H. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;34(3):235-49.
15. Mártha K, Lörinczi L, Bica C, Gyergyay R, Petcu B, Lazar L. Assessment of periodontopathogens in subgingival biofilm of banded and bonded molars in early phase of fixed orthodontic treatment. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2016;63(1):103-13.

[Escriba aquí]

16. Page R, Offenbacher S, Schroeder H, Seymour G, Kornman K. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol*2000. 1997;14:216-48.
17. Waerhaug J. The angular bone defect and its relationship to trauma from occlusion and down-growth of subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1979;6(2):61-82.
18. Valderrama G, Vijande F, Escribano J, Garrido-Pertierra A, Bascones A. La IL-1 y su eventual asociación con la enfermedad periodontal crónica. Una revisión de la literatura (I). *Av Periodon Implantol*. 2005;17,2: 89-95.
19. Morley J. Prostaglandins and lymphokines in arthritis. *Prostaglandins*. 1974;8(4):315-26.
20. Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 3ªed. Panamérica; 2000. (5,13).
21. Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour G, Hara K. IL-4 and IL-6 producing cells in human periodontal disease tissue. *J Oral Pathol Med*. 1994;23(8):347-53.
22. Murray K, Parry-Jones A, Allan S. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 2015;9:18.
23. Dinarello C. Interleukin-1. *Rev Infect Dis*. 1984;6(1):51-95.
24. Dinarello C. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*. 1991;77(8):1627-52.
25. Dinarello C. Biology of interleukin 1. *FASEB J*. 1988;2(2):108-15.
26. Dinarello C. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol*. 1989;44:153-205.
27. Dinarello C, Goldin N, Wolff S. Demonstration and characterization of two distinct human leukocytic pyrogen. *J Exp Med*. 1974;139(6):1369-81.
28. Arend W. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(4-5):323-40.
29. Barksby H, Lea S, Preshaw P, Taylor J. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clin Exp Immunol*. 2007;149(2):217-25.
30. Black R, Kronheim S, Cantrell M, Deeley M, March C, Prickett K, et al. Generation of biologically active interleukin-1- beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. *J Biol Chem* 1988;263(19):9437-42

[Escriba aquí]

31. Horuk R, Huang J, Covington M, Newton R. A biochemical and kinetic analysis of the interleukin-1 receptor. Evidence for differences in molecular properties of IL-1 receptors. *J Biol Chem.* 1987;262(34):16275-8.
32. Gallis B, Prickett K, Jackson J, Slack J, Schooley K, Sims J, et al. IL-1 induces rapid phosphorylation of the IL- 1 receptor. *J Immunol* 1989;143(10):3235-40.
33. Dayer J. Evidence for the biological modulation of IL-1 activity: The role of IL-1Ra. *Clin Exp Reumathol.* 2002;20(5 Suppl 27):14-20.
34. Roitt I. *Inmunología. Fundamentos.* 9º Ed. Médica Panamericana. 1998.
35. Seckinger P, Williamson K, Balavoine J, et al. A urine inhibitor of interleukin 1 activity affects both interleukin-1alpha and 1beta but not tumor necrosis factor alpha. *J Immunol.* 1987;139(5):1541-5.
36. Dripps D, Brandhuber B, Thomson R, Eisenberg S. Interleukin- 1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80 KDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem.* 1991;266(16):10331-6.
37. Colotta F, Dower S, Sims J, Mantovani A. The type II “decoy” receptor: a novel regulatory pathway for interleukin- 1. *Immunol Today.* 1994;15(12):562-6.
38. Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Inmunología Celular y Molecular* . 2da ed. Editorial Interamericana-McGraw-Hill. México. 1995.
39. Preiss S, Meyle J. Inteleukin-1beta concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1994;65(5):423-8.
40. Assuma R, Oates T, Cochran D, Amar S, Graves D. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. *J Immunol.*1998;160(1):403-9.
41. Kusano K, Muyauro C, Inada M, Tamura T, Ito A, Nagase H, et al. Regulation of matriz metalloproteinases (MMP.2, -3, -9 and -13) by interleukin-1 and interleukin- 6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinology.* 1998;139(3):1338-45.
42. Hönig J, Rordorf-Adam C, Siegmund C, Wiedemann W, Erard F. Increases interleukin-1 beta (IL-1beta) concentration in gingival tissue from periodontitis patients. *J Periodont Res.* 1989;24(6):362-7.
43. Takahashi K, Takashiba S, Nagai A, Takigawa M, Mioukai F, Kurihara H, et al. Assessment of interleukin-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont.* 1994;65(2):147-53.

[Escriba aquí]

44. Babb J, Kiyono H, McGhee J, Michalek S. LPS regulation of the immune response: suppression of immune responses to orally administered T-independent antigens. *J Immunol.* 1981;127(3):1052-7.
45. Draghici E, CraiToiu S, Mercu T, Scriciu M, Popescu S, Diaconu O, et al. Local cause of gingival overgrowth. Clinical and histological study. *Rom J Morphol Embryol.* 2016;57(2):427-35.
46. Løe H, Theilade E, Jensen S. Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol.* 1965;36:177-87.
47. Theilade E, Wright W, Jensen S, Løe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res.* 1966;1:1-13.
48. 1999 International International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Papers. Oak Brook, Illinois, October 30-November 2, 1999. *Annals of Periodontology.* 1999; 4(1): i, 1-112.
49. Mariotti A. Dental plaque-induced gingival diseases. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):7-19
50. Tatakis D, Trombelli L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. I. Background review and rationale. *J Clin Periodontol.* 2004;31(4):229-38
51. Hugoson A. Gingivitis in pregnant women. A longitudinal clinical study. *Odontol Revy.* 1971;22(1):65-84
52. Mealey B, Rethman M. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dent Today.* 2003;22(4):107-13.
53. Solskone W, Klinger A. The Relationship Between Periodontal Diseases and Diabetes Mellitus: an Overview. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):91-8.
54. Nishida M, Grossi S, Dunford R, Ho A, Trevisan M, Genco R. Dietary vitamin C and the risk for periodontal disease. *J Periodontol.* 2000;71(8):1215-23.
55. Andrews R, Benjamin S, Shore N, Canter S. Chronic benign neutropenia of childhood with associated oral manifestations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;20(6):719-25.
56. Rylander H, Attström R, Lindhe, J. Influence of experimental neutropenia in dogs with chronic gingivitis. *J Periodontal Res.* 1975;10(6):315-23.
57. Reichart P, Dornow H. Gingivo-periodontal manifestations in chronic benign neutropenia. *J Clin Periodontol.* 1978;5(1):74-80.

[Escriba aquí]

58. Levin S, Kennedy J. Relationship of plaque and gingivitis in patients with leukemia. *Va Dent J.* 1973;50(5):22-5.
59. Bergmann O, Ellegaard B, Dahl M, Ellegaard J. Gingival status during chemical plaque control with or without prior mechanical plaque removal in patients with acute myeloid leukaemia. *J Clin Periodontol.* 1992;19(3):169-73.
60. Glick M, Pliskin M, Weiss R. The clinical and histologic appearance of HIV-associated gingivitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1990;69(3):395-8.
61. Deinzer R, Rüttermann S, Möbes O, Herforth A. Increase in gingival inflammation under academic stress. *J Clin Periodontol.* 1998;25(5):431-3.
62. Vanderas A, Kavvadia K, Papagiannoulis L. Urinary catecholamine levels and gingivitis in children. *J Periodontol.* 1998;69(5):554-60.
63. Holmes T, Rahe R. The social readjustment rating scale. *J Psychosom Res.* 1967;11(2):213-8.
64. Bergström J, Preber H. The influence of cigarette smoking on the development of experimental gingivitis. *J Periodontal Res.* 1986;21(6):668-76.
65. Danielsen B, Manji F, Nagelkerke N, Fejerskov O, Baelum V. Effect of cigarette smoking on the transition dynamics in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1990;17(3):159-64.
66. Lie M, Danser M, Van Der Weijden G, Timmerman M, de Graaff J, van der Velden U. Oral microbiota in subjects with a weak or strong response in experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1995;22(8):642-7.
67. Angelopoulos A. Diphenylhydantoin gingival hyperplasia. A clinicopathological review 1. Incidence, clinical features and histopathology. *Dent J.* 1975;41(2):103-6.
68. Nery E, Edson R, Lee K, Pruthi V, Watson J. Prevalence of nifedipine-induced gingival hiperplasia. *J Periodontol.* 1995;66(7):572-8.
69. O'Valle F, Mesa F, Aneiros J, Gomez- Morales M, Lucena M, Ramírez C, et al. Gingival overgrowth induced by nifedipine and cyclosporin A. Clinical and morphometric study with image analysis. *J Clin Periodontol.* 1995;22(8):591-7.
70. Seymour R. Drug-induced gingival overgrowth. *Adverse Drug React Toxicol Rev.* 1993;12(4):215-32.
71. Sutton R, Smales F. Cross-sectional study of the effects of immunosuppressive drugs on chronic periodontal disease in man. *J Clin Periodontol.* 1983;10(3):317-26.

[Escriba aquí]

72. Vogel R, Copper S, Schneider L, Goteiner D. The effects of topical steroidal and systemic nonsteroidal antiinflammatory drugs on experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1984;55(4):247-51.
73. Markitziu A, Zafirooulos G, Flores de Jacoby L, Pisanty S. Periodontal alterations in patients with pemphigus vulgaris taking steroids. A biannual assessment. *J Clin Periodontol.* 1990;17(4):228-32.
74. Helovuo H, Paunio K. Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *J Periodontol.* 1989;60(8):467-72.
75. Listgarten M, Lindhe J, Parodi R. The effect of systemic antimicrobial therapy on plaque and gingivitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1979;14(1):65-75.
76. Heijl L, Lindhe J. Effect of selective antimicrobial therapy on plaque and gingivitis in the dog. *J Clin Periodontol.* 1980;7(6):463-78.
77. Jensen S, Løe H, Schiött C, Theliade E. Experimental gingivitis in man. 4. Vancomycin induced changes in bacterial plaque composition as related to development of gingival inflammation. *J Periodontal Res.* 1968;3(4):284-93.
78. Atilla G, Balcan M, Bicakci N, Kazandi A. The effect of non-surgical periodontal and adjunctive minocycline–HCl treatments on the activity of salivary proteases. *J Periodontol.* 1996;67(1):1-6.
79. Bosman C, Powell R. The reversal of localized experimental gingivitis. A comparison between mechanical tooth-brushing procedures and a 0.2% chlorhexidine mouthrinse. *J Clin Periodontol.* 1977;4(3):161-72.
80. James P, Worthington H, Parnell C, Harding M, et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;3CD008676.
81. Cappelli D, Holt S, Singer R, Pickrum H, Ebersole J. Effects of 0.12% chlorhexidine gluconate on experimental gingivitis in non-human primates: clinical and microbiological alterations. *Oral Dis.* 2000;6(2):124-31.
82. Tadikonda A, Pentapati K, Urala A, Acharya S. Anti-plaque and anti-gingivitis effect of Papain, Bromelain, Miswak and Neem containing dentifrice: A randomized controlled trial. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(5):e649-e653.
83. Kolip D, Yilmaz N, Gökkaya B, Kulan P, Kargul B, MacDonald K, et al. Efficacy of Dentaq® Oral and ENT Health Probiotic Complex on Clinical Parameters of Gingivitis in Patients Undergoing Fixed Orthodontic Treatment: A Pilot Study. *J Clin Dent.* 2016;27(3):66-70.

[Escriba aquí]

84. Zimmermann A, Flores-de-Jacoby L, Pan P. Gingivitis, plaque accumulation and plaque composition under long-term use of meridol. *J Clin Periodontol.* 1993;20(5):346-51.
85. Lindhe J, Rosling B, Socransky S, Volpe A. The effect of a triclosan containing dentifrice on established plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.* 1993;20(5):327-34.
86. Shapira L, Schatzker Y, Gedalia I, Borinski R, Sela M. Effect of amine and stannous fluoride on human neutrophil functions in vitro. *J Dent Res.* 1997;76(7):1381-6.
87. Yanagihara K, Tomono K, Sawai T, Hirakata Y, Kadota J, Koga H, et al. Effect of clarithromycin on lymphocytes in chronic respiratory *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155(1):337-42.
88. Flemmig T, Newman M, Doherty F, Grossman E, Meckel A, Bakdash M. Supragingival irrigation with 0.06% chlorhexidine in naturally occurring gingivitis. I. 6 month clinical observations. *J Periodontol.* 1990;61(2):112-7.
89. Cutler C, Stanford T, Abraham C, Cederberg R, Boardman T, Ross C. Clinical benefits of oral irrigation for periodontitis are related to reduction of pro-inflammatory cytokine levels and plaque. *J Clin Periodontol.* 2000;27(2):134-43.
90. Taichman L, Eklund S. Oral contraceptives and periodontal diseases: rethinking the association based upon analysis of National Health and Nutrition Examination Survey data. *J Periodontol.* 2005;76(8):1374-85
91. Soory M. Hormonal factors in periodontal disease. *Dent Update.* 2000;27(8):380-3
92. Kalkwarf K. Effect of oral contraceptive therapy on gingival inflammation in humans. *J Periodontol.* 1978;49(11):560-3.
93. Klinger G, Eick S, Pfister W, Graser T, Moore C, Oettel M. Influence of hormonal contraceptives on microbial flora of gingival sulcus. *Contraception.* 1998;57(6):381-4.
94. Brown L, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 1993;2:57-71.
95. Loe H, Holm-Pederson. P. Absence and presence of fluid from normal and inflamed gingiva. *Periodontics.* 1965;3:171-7.
96. Loe H, Theilade E, Jensen S. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965;36:177-87.

[Escriba aquí]

97. Kloehn J, Pfeifer J. The effect of orthodontic treatment on the periodontium. *Angle Orthod.* 1974;44(2):127-34.
98. Zachrisson S, Zachrisson B. Gingival condition associated with orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 1972;42(1):26-34.
99. Baer P, Cocco J. Gingival enlargement coincident with orthodontic therapy. *J Periodontol.* 1964;35:436-9
100. Liu H, Sun J, Dong Y, Lu H, Zhou H, Hansen B, et al. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromonas gingivalis* during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2011;81(4):609-15.
101. Trombelli L, Scapoli C, Carrieri A, Giovannini G, Calura G, Farina R. Interleukin-1b levels in gingival crevicular fluid and serum under naturally occurring and experimentally induced gingivitis. *J Clin Periodontol* 2010;37(8):697-704
102. Rescala B, Rosalem W, Teles R. Immunologic and microbiologic profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. *J Periodontol.* 2010;81(9):1308-16.
103. Theilade E, Wright W, Jensen S, Løe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res.* 1966;1:1-13
104. Armitage G. The complete periodontal examination. *Periodontology* 2000. 2004;34:22-33.
105. Armitage G. Research, Science and Therapy Committee of the American Academy Report. Diagnosis of Periodontal Diseases. *J Periodontol.* 2003;74(8):1237-47.
106. Saxer U, Mühlemann H. Motivation and education. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd.* 1975;85(9):905-19.
107. Giannopoulou C, Kamma J, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003;30(2):145-53.
108. Rawlinson A, Dalati M, Rahman S, Walsh T, Fairclough A. Interleukin-1 and IL-1 receptor antagonist in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 2000;27(10):738-43.

[Escriba aquí]

109. Altman L, Page R, Vandesteen G, Dixon L, Bradford C. Abnormalities of leukocyte chemotaxis in patients with various forms of periodontitis. *J Periodontal Res.* 1985;20(6):553-63.
110. Masada M, Persson R, Kenney J, Lee S, Page R, Allison A. Measurement of interleukin-1 alpha and 1 beta in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1990;25(3):156-63.
111. Wilton J, Bampton J, Griffiths G, et al. Interleukin-1 beta (IL-1b) levels in gingival crevicular fluid from adults with previous evidence of destructive periodontitis. A cross sectional study. *J Clin Periodontol.* 1992;19(1):53-7.
112. Lee H, Kang I, Chung C, Choi S. The subgingival microflora and gingival crevicular fluid cytokines in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1995;22(11):885-90.
113. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontal Res.* 1997;32(6):524-9.
114. Suwatanapongched P, Laohapand P, Surarit R, Ohmoto Y, Ruxrungham K. Interleukin-1b level in gingival crevicular fluid of patients with active periodontitis. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2000;18(4):201-7.
115. Gamonal J, Jorge O, Silva A. Interleukina-1b e interleukina- 8 en pacientes adultos con periodontitis destructiva: efectos del tratamiento periodontal. *Av. Periodontal Implantology O.* 1999;11:183-93.
116. Tizard I. *Immunology: an introduction*, 4th edn. Florida: Saunders College Publishing
117. Reinhardt R, Masada M, Kaldahl W, DuBois L, Kornman K, Choi J, et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1993;20(3):225-31.
118. Lamster I, Hartley L, Oshrain R, Gordon J. Evaluation and modification of spectrophotometric procedures for analysis of lactate dehydrogenase, beta-glucuronidase and arylsulphatase in human gingival crevicular fluid collected with filter-paper strips. *Arch Oral Biol.* 1985;30(3):235-42.
119. Carranza F, Newman M. *Periodontología Clínica*. 8va ed. Méjico: Mc Graw-Hill Interamericana; 1997.
120. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. 4 ed. England; 2000.

[Escriba aquí]

121. Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1979;6(5):351-82.
122. Leknes K, Lie T, Bøe O, Selvig K. A correlation Study of Inflammatory Cell mobilization in response to subgingival Microbial Colonization. *J Periodontol.* 1997;68(1):67-72.
123. Timmerman M, Van der Weijden G, Arief E, Armand S, Abbas F, Winkel E, et al. Untreated periodontal disease in Indonesian Adolescents. Subgingival microbiota in relation to experienced progression of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001;28(7):617-27.
124. Kamma J, Nakou M, Manti F. Predominant microflora of severe, moderate and minimal periodontal lesions in young adults with rapidly progressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 1995;30(1):66-72.
125. Petsios A, Nakou M, Manti F. Microflora in adult. Periodontitis. *J Periodontal Res.* 1995;30(5):325-31.
126. Kolenbrander P, Phucas C. Effect of saliva on coaggregation of oral Actinomyces and Streptococcus species. *Infect Immun.* 1984;44(2):228-33.
127. Sundqvist G. Pathogenicity and virulence of Black-Pigmented Gram negatives anaerobes. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1993;6(2-3):125-37.
128. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):926-32.
129. Petti S, Barbato E, Simonetti D. Effect of orthodontic therapy with fixed and removal appliances on oral microbiota: a six-month longitudinal study. *New Microbiol.* 1997;20(1):55-62.
130. Naranjo A, Triviño M, Jaramillo A, Betacourth M, Botero J. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;130(3):275.
131. Van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Influence of bracket design on microbial and periodontal parameters in vivo. *J Clin Periodontol.* 2007;34(5):423-31.
132. Van Gastel J, Quirynen M, Teughel W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal parameters after removal of fixed orthodontic appliances. *Eur J Orthod.* 2011;33(1):15-21.

[Escriba aquí]

133. Paolantonio M, Festa F, di Placido G, D'Attilio M, Catamo G, Piccolomini R. Site-specific subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999;115(4):423-8.
134. Socransky S, Haffajee A, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol.* 1991;18(10):766-75.
135. Diamanti-Kipiotti A, Gusberti F, Lang N. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. *J Clin Periodontol.* 1987;14(6):326-33.
136. Alexander S. Effects of orthodontic attachments on the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1991;100(4):337-40.
137. Scheie A, Arneberg P, Krogstad O. Effect of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res.* 1984;92(3):211-7.
138. Sadowsky C, BeGole E. Long-term effects of orthodontic treatment on periodontal health. *Am J Orthod.* 1981;80(2):156-72.
139. Polson A, Subtelny J, Meitner S, Polson A, Sommers E, Iker H, et al. Long-term periodontal status after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988;93(1):51-8.
140. Luque J, Herráez A. Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética. Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud. Ed: Harcourt Brace. 2002 tema: 26
141. Nicklin M, Weith A, Duff G. A physical map of the region encompassing the human interleukin-1 alpha, beta and interleukin 1 receptor antagonist genes. *Genomics.* 1994;19(2):382-4.
142. Kornman K, Crane A, Wang H, di Giovanni F, Newman M, Pirk F, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997;24(1):72-7.
143. González J, Hermann J, Boedeker R, Franecz P, Biesalski H, Meyle J. Concentration of interleukin-1 β and neutrophil elastase activity in gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2001;28(6):544-9.
144. Heasman P, Collins J, Offenbacher S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandin E2, thromboxane B2 and

[Escriba aquí]

- tumor necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodontal Res.* 1993;28(4):241-7.
145. Kinane D, Winstanley F, Adonogianaki E, Moughal N. Bioassay of interleukin 1 (IL-1) in human gingivitis crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch Oral Biol.* 1992;37(2):153-6.
146. Stashenko P, Fujiyoshi P, Obernesser M, Probst L, Haffajee A, Socransky S. Levels of interleukin 1 β in tissue from sites of active periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1991;18(7):548-54.
147. Mark L, Haffajee A, Socransky S, Ken R, Guerrero D, Kornman K, et al. Effect of the interleukin-1 genotype on monocyte IL-1 β expression in subjects with adult periodontitis. *J Periodontal Res.* 2000;35(3):172-7.
148. Di Giovine F, Cork M, Crane A. Novel genetic association of an IL-1 β gene variation at +3953 with IL-1 β protein production and psoriasis. *Cytokine.* 1995;7:606.
149. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 β) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest.* 1992 Jun;22(6):396-402.
150. Engebrestson S, Lamster I, Herrera-Abreu M, et al. The influence of interleukin gene polymorphism on expression of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α in periodontal tissue and gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 1999;70(6):567-73.
151. Preber H, Bergström J. Occurrence of gingival bleeding in smoker and non-smoker patients. *Acta Odontol Scand.* 1985;43(5):315-20.
152. Bergström J, Eliasson S, Dock J. Exposure to tobacco smoking and periodontal health. *J Clin Periodontol.* 2000;27(1):61-8.
153. Enberg N, Alho H, Loimaranta V, Lenander-Lumikari M. Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(3):292-8.
154. Amaral C, Luiz R, Leao A. The relationship between alcohol dependence and periodontal disease. *J Periodontol.* 2008;79(6):993-8.
155. Lages E, Costa F, Cortelli S, Cortelli J, Cota L, Cyrino R, et al. Alcohol Consumption and Periodontitis: Quantification of Periodontal Pathogens and Cytokines. *J Periodontol.* 2015;86(9):1058-68

[Escriba aquí]

- 156.Green L, Tryon W, Marks, B, Huryn J. Periodontal disease as a function of life events stress. *J Human Stress*. 1986;12(1):32-6.
- 157.Deinzer R, Förster P, Fuck L, Herforth A, Stiller-Winkler R, Idel H. Increase of crevicular interleukin 1beta under academic stress at experimental gingivitis sites and at sites of perfect oral hygiene. *J Clin Periodontol*. 1999;26(1):1-8.
- 158.Gupta O. Psychosomatic factors in periodontal disease. *Dent Clin North Am*. 1966; 11-9.
- 159.Davis C, Jenkins C. Mental stress and oral diseases. *J Dent Res*. 1962;41:1045-9.
- 160.Figuero E, Carrillo-de-Albornoz A, Martin C, Tobias A, Herrera D. Effect of pregnancy on gingival inflammation in systemically healthy women: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2013;40(5):457-73.
- 161.Mealey B, Rethman M. Periodontal disease and diabetes mellitus. Bidirectional relationship. *Dent Today*. 2003;22(4):107-13.
162. Solskone W, Klinger A. The Relationship Between Periodontal Diseases and Diabetes Mellitus: an Overview. *Ann Periodontol*. 2001;6(1):91-8.
- 163.Zachrisson B, Zachrisson S. Caries incidence and oral hygiene during orthodontic treatment. *Scand J Dent*. 1971;79(6):394-401.
- 164.Sandere N. Evidence-based care in Orthodontics and Periodontics: a review of the literature. *J Am Dent Assoc*. 1999;130(4):521-7.
- 165.Lindhe J, Hamp S, Løe H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *J Periodontal Res*. 1973;8(1):1-10.
- 166.Liu C, Hou L, Wong M, Rossomando E. Relationships between clinical parameters, interleukin 1B and histopathologic findings of gingival tissue in periodontitis patients. *Cytokine*. 1996;8(2):161-7.
- 167.Boyd R, Leggott P, Quinn R, Eakle W, Chambers D. Periodontal implications of orthodontic treatment in adults with reduced or normal periodontal tissues versus those of adolescents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1989;96(3):191-8.
- 168.Eid H, Assiri H, Kandyla R, Togoo R, Turakhia V. Gingival enlargement in different age groups during fixed Orthodontic treatment. *J Int Oral Health*. 2014;6(1):1-4.
- 169.Karkhanechi M, Chow D, Sipkin J, Sherman D, Boylane R, Norman R, et al. Periodontal status of adult patients treated with fixed buccal appliances and removable aligners over one year of active orthodontic therapy. *Angle Orthod*. 2013;83(1):146-51.

[Escriba aquí]

170. Miethke R, Vogt S. A comparison of the periodontal health of patients during treatment with the Invisalign system and with fixed orthodontic appliances. *J Orofac Orthop.* 2005;66(3):219-29.
171. Sallum E, Nouer D, Klein M, Gonçalves R, Machion L, Wilson Sallum A, et al. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004;126(3):363-6.
172. Yáñez- Vico R, Iglesias-Linares A, Ballesta Mudarra S, Ortiz Ariza E, Solano Reina E, Perea E. Short-term effect of removal of fixed orthodontic appliances on gingival health and subgingival microbiota: a prospective cohort study. *Acta Odontol Scand.* 2015;73(7):496-502.
173. Lee S, Yoo S, Kim H, Kim K, Yoon Y, Lim S, et al. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival dental plaques from gingivitis lesions in Korean orthodontic patients. *J Microbiol.* 2005;43(3):260-5.
174. Lo B, Di Marco R, Milazzo I, Nicolosi D, Cali G, Rossetti B, et al. Microbiological and clinical periodontal effects of fixed orthodontic appliances in pediatric patients. *New Microbiol.* 2008;31(2):299–302.
175. Speer C, Pelz K, Hopfenmuller W, Holtgrave E. Investigations on the influencing of the subgingival microflora in chronic periodontitis. A study in adult patients during fixed appliance therapy. *J Orofac Orthop.* 2004;65(1):34–47.
176. Liu H, Sun J, Dong Y, Lu H, Zhou H, Hansen B, Song X. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromonas gingivalis* during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2011;81(4):609-15
177. Griffen A, Becker M, Lyons S, Moeschberger M, Leys E. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol.* 1998;36(11):3239-42.
178. Dahlén G. Microbiological diagnostics in oral diseases. *Acta Odontol Scand.* 2006;64(3):164-8.
179. Harris T, Ewalt J. Complications following the use of sodium diphenyldantoinate (dilantin) therapy. *J Okla State Med Assoc* 1942;35:365–370.
180. Ellis J, Seymour R, Robertson P, Butler T, Thomason J. Photographic scoring of gingival overgrowth. *J Clin Periodontol.* 2001;28(1):81-5.

[Escriba aquí]

181. Smith R, Lath D, Rawlinson A, Karmo M, Brook A. Gingival inflammation assessment by image analysis: measurement and validation. *Int J Dent Hygiene*. 2008;6(2):137-42.
182. Surlin P, Rauten A, Mogoanta L, Siloși I, Oprea B, et al. Correlations between the gingival crevicular fluid MMP8 levels and gingival overgrowth in patients with fixed orthodontic devices. *Rom J Morphol Embryol*. 2010;51(3):515-9.
183. Ingman T, Apajalahti S, Mäntylä P, Savolainen P, Sorsa T. Matrix metalloproteinase-1 and -8 in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement: a pilot study during 1 month of follow-up after fixed appliance activation. *Eur J Orthod*. 2005;27(2):202–207.
184. Mäntylä P, Stenman M, Kinane D, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, et al. Gingival crevicular fluid collagenase-2 (mmp-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res*. 2003;38(4):436–439.
185. Al-Qawasmi R, Hartsfield J, Everett Flury L, Liu L, Foroud T, et al. Genetic predisposition to external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2003;123(3):242-52.
186. Bastos Lages E, Drummond A, Pretti H, Costa F, Lages E, Gontijo A, et al. Association of functional gene polymorphism IL-1beta in patients with external apical root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009;136(4):542-6.
187. Iglesias-Linares A, Yanez-Vico R, Ballesta-Mudarra S, Ortiz-Ariza E, Ortega-Rivera H, Mendoza-Mendoza A, et al. Postorthodontic external root resorption is associated with IL1 receptor antagonist gene variations. *Oral Dis*. 2012;18(2):198-205.
188. Ejeil A, Gaultier F, Igondjo-Tchen S, Senni K, Pellat B, Godeau G, et al. Are cytokines linked to collagen breakdown during periodontal disease progression?. *J Periodontol*. 2003;74(2):196-201.
189. Deinzer R, Weik U, Kolb-Bachofen V, Herforth A. Comparison of experimental gingivitis with persistent gingivitis: differences in clinical parameters and cytokine concentrations. *J Periodontal Res*. 2007;42(4):318-24.
190. Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour G. Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 2006;21(4):256-60.

[Escriba aquí]

191. Mengel R, Bacher M, Flores-De-Jacoby L. Interactions between stress, interleukin-1beta, interleukin-6 and cortisol in periodontally diseased patients. *J Clin Periodontol.* 2002;29(11):1012-22.
192. Waschul B, Herforth A, Stiller-Winkler R, Idel H, Granrath N, Deinzer R. Effects of plaque, psychological stress and gender on crevicular IL-1beta and IL-1ra secretion. *J Clin Periodontol.* 2003;30(3):238-48.
193. Galbraith G, Hagan C, Steed R, Sanders J, Javed T. Cytokine production by oral and peripheral blood neutrophils in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1997;68(9):832-8.
194. Scapoli C, Tatakis D, Mamolini E, Trombelli L. Modulación de la expresión clínica de la gingivitis inducida por placa: polimorfismos de grupos de genes de interleuquina-1. *J Periodontol.* 2005;76(1):49-56.
195. Georges J, Rupprecht H, Blankenberg S, Poirier O, Bickel C, Hafner G, et al. Impact of pathogen burden in patients with coronary artery disease in relation to systemic inflammation and variation in genes encoding cytokines. *Am J Cardiol.* 2003;92(5):515-21.
196. Aiuto F, Parkar M, Brett P, Ready D, Tonetti M. Gene polymorphisms in pro-inflammatory cytokines are associated with systemic inflammation in patients with severe periodontal infections. *Cytokine.* 2004;28(1):29-34.)
197. Van Gastel J, Teughels W, Quirynenc M, Struyf S, Van Damme J, Coucke W, et al. Longitudinal changes in gingival crevicular fluid after placement of fixed orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;139(6):735-44.
198. Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon J, et al. Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. *J Clin Periodontol.* 2008;35(3):206-14.
199. Ferreira S, Trombone A, Repeke C, Cardoso C, Martins W, Santos C, et al. An interleukin 1beta (IL-1beta) single nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively modulate the levels of IL-1beta in diseased periodontal tissues. *Infect Immun.* 2008;76(8):3725-34.

[Escriba aquí]

- 200.Socransky S, Haffajee A, Smith C, Duff G. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2000;27(11):810-8.
- 201.Van der Paardt M, Crusius J, Garcia-Gonzalez M, et al. Interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in ankylosing spondylitis.*Rheumatology (Oxford).* 2002;41(12):1419-23.
- 202.Perrier S, Coussediere C, Dubost J, et al. IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) gene polymorphism in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1998;87(3):309-13.
- 203.Clay F, Cork M, Tarlow J, et al. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism association with lichen sclerosus. *Hum Genet.* 1994;94(4):407-10.
- 204.Laine M, Farre M, Gonzalez G, et al. Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis. *J Dent Res.* 2001;80(8):1695-9.
- 205.Meisel P, Siegemund A, Dombrowa S, Sawaf H, Fanghaenel J, Kocher T. Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 2002;73(1):27-32.
- 206.Boström L, Linder L, Bergström J. Smoking and GCF levels of IL-1beta and IL-1ra in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2000;27(4):250-5.
- 207.Dashash M, Drucker D, Hutchinson I, Bazrafshani M, Blinkhorn A. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and gingivitis in children.*Oral Dis.* 2007 May;13(3):308-13.
- 208.Robinson P. Gingivitis: a prelude to periodontitis?. *J Clin Dent.* 1995;6:41-5.
- 209.Arnold S, Koletsi D, Patcas R, Eliades T. The effect of bracket ligation on the periodontal status of adolescents undergoing orthodontic treatment. A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2016;54:13-24.
- 210.Mayer Y, Ginesin O, Machtei E. Photometric CIELAB Analysis Of The Gingiva: A Novel Approach To Assess Response To Periodontal Therapy. *J Periodontol.* 2017;19:1-10
- 211.Huang W, He B, Chao J, Jia X, Yuan Y. Interleukin-1 β rs1143627 polymorphism with susceptibility to periodontal disease. *Oncotarget.* 2017;8(19):31406-31414

[Escriba aquí]

- 212.Lavu V, Venkatesan V, Venugopal P, Lakkakula B, Paul S,et al. Clinical Relevance of Cytokines Gene Polymorphisms and Protein Levels in Gingival Cervical Fluid from Chronic Periodontitis Patients. Iran J Immunol. 2017;14(1):51-58
- 213.Sin W, Pan Y, Lin L. Association between IL-1 α rs17561 and IL-1 β rs1143634 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. Genet Mol Res. 2016;15(1)

[Escriba aquí]

ANEXO I. ABREVIATURAS

[Escriba aquí]

ACO: Anticonceptivos orales

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

COX 2: ciclooxigenasa 2

CTX: Factor quimiotáctico derivado de leucocitos

FGC: Fluido gingival crevicular

GM-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular 1

IFN γ : Interferón gamma

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

Ikb: Proteína inhibitoria de NF-kB

IL- 1: Interleuquina 1

IL-1 α : Interleuquina-1 alfa

IL-1B : Gen de la IL-1B

IL-1 β : Interleuquina-1 beta

IL-1AcP: Proteína accesoria del receptor a IL-1

IL-1Ra: IL-1 receptor antagonista

IL-1RI: Receptor a IL-1 tipo I

IL-1RII: Receptor a IL-1 tipo II

iNOS: Oxidasa del óxido nítrico

IRAK: Cinasa asociada al receptor de la interleuquina 1

Jak: Janus quinasas

LT: Linfotaxina

LIF: Factor inhibitorio de leucemia

LOS: Lipo-oligosacárido

LPS: Lipopolisacárido bacteriano

MAF: Factor activador de macrófagos

MAPK: Proteína cinasa activadora de mitosis

MCP: Proteína Quimiotáctica de monocitos

MIF: Factor inhibidor de la migración

MIP: Proteína inflamatoria de macrófagos

MMPs: Metaloproteinasas de matriz

[Escriba aquí]

MPM: Metaloproteinasas de matriz

NF- κ B: Factor NUCLEAR κ B

NHANES : Nacional Health and Nutrition Examination Survey

NK: Leucocitos asesinos naturales o natural killer

OAF: Factor activador de Osteoclastos

ODF: Factor activador de la diferenciación de osteoclastos

PAF: Factor activador de plaquetas

PCA: Factor tisular procoagulante

PGE₂: prostaglandina E₂

PGI₂: prostaglandina I₂

PMN: Leucocitos polimorfonucleares

RANKL: Factor activador del ligando NF- κ B

RANTES

STAT: Transductores de señal y activadores de transcripción

TGF α : Factor de crecimiento alfa

TH₂: Linfocito T ayudante 2

TIMPs: Factores inhibidores de metaloproteinasas de matriz

TNF α : Factor de necrosis tumoral

TRAF 6: Factor asociado al receptor de TNF