

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Estomatología III (Medicina y Cirugía Bucofacial)



TESIS DOCTORAL

**Estudio de la influencia de los factores genéticos y microbiológicos en
la progresión de la periodontitis**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Susana Isabel Castro Santos do Canto de Noronha

Directores

David Herrera González
Mariano Sanz Alonso

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Medicina y Cirugía Buco-Facial



ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES GENÉTICOS Y

MICROBIOLÓGICOS EN LA PROGRESIÓN DE LA

PERIODONTITIS

TESIS DOCTORAL

SUSANA ISABEL DE CASTRO SANTOS DO CANTO DE NORONHA

MADRID, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Medicina y Cirugía Buco-Facial



**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES
GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS EN LA
PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

DIRECTORES:

DAVID HERRERA GONZÁLEZ

MARIANO SANZ ALONSO

SUSANA ISABEL DE CASTRO SANTOS DO CANTO DE NORONHA

MADRID, 2015

ÍNDICE

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

ÍNDICE	I
AGRADECIMIENTOS.....	IX
RESUMEN	XIII
ABSTRACT.....	XV
A. INTRODUCCIÓN.....	1
A.I. ENFERMEDAD PERIODONTAL.....	3
A.I.1 PREVALENCIA.....	4
A.I.2 INCIDENCIA	5
A.I.3 MORBILIDAD.....	7
A.II. MODELO ETIOPATOGÉNICO DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES	7
A.II.1 PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS.....	8
A.II.1.1 PLACA BACTERIANA COMO UN BIOFILM.....	9
A.II.1.2 PLACA BACTERIANA COMO FACTOR ETIOLÓGICO PRIMARIO	12
A.II.1.3 DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS	14
A.II.1.4 CRITERIOS PARA DEFINIR A LOS PATÓGENOS PERIODONTALES.....	15
A.II.1.5 LOS PATÓGENOS PERIODONTALES.....	18
A.II.1.6 MECANISMOS DE PATOGENECIDAD DE LOS PATÓGENOS PERIODONTALES.....	23
A.II.2 PAPEL DE LA RESPUESTA DEL HUÉSPED	25
A.II.2.1 MECANISMOS BÁSICOS	26
A.II.2.2 MECANISMOS ESPECÍFICOS.....	30
A.II.2.3 MEDIADORES INFLAMATORIOS.....	32
A.III. FACTORES DE RIESGO.....	34
A.III.1 FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES O COMPORTAMENTALES	35
A.III.1.1 PRESENCIA DE MICROBIOTA ESPECÍFICA	35
A.III.1.2 TABACO	35
A.III.1.3 DIABETES MELLITUS.....	36
A.III.1.4 OBESIDAD	37
A.III.1.5 OSTEOPOROSIS.....	37
A.III.1.6 ESTRÉS FISIOLÓGICO.....	38
A.III.2 FACTORES DE RIESGO NO MODIFICABLES	39
A.III.2.1 EDAD	39
A.III.2.2 FACTORES GENÉTICOS	39
A.IV. PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS.....	45
A.IV.1 MODELOS PROPUESTOS PARA DEFINIR LA PROGRESIÓN	46

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

A.IV.2	PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA PROGRESIÓN	47
A.IV.2.1	PARÁMETROS CLÍNICOS	47
A.IV.2.2	PARÁMETROS RADIOGRÁFICOS	49
A.IV.2.3	PÉRDIDA DE DIENTES	50
A.IV.3	RELACIÓN DE LOS FACTORES MICROBIOLÓGICOS CON LA PROGRESIÓN	50
A.IV.4	MÉTODOS UTILIZADOS EN EL CÁLCULO DEL RIESGO DE PROGRESIÓN	52
A.V.	IMPORTANCIA DE IDENTIFICAR A LOS INDIVIDUOS SUSCEPTIBLES	55
B.	JUSTIFICACIÓN	59
C.	OBJETIVOS	63
D.	MATERIAL Y MÉTODOS	67
D.I.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	69
D.II.	CRITERIOS DE ADMISIÓN	69
D.II.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	69
D.II.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	70
D.III.	DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO	70
D.IV.	GRUPOS DE ESTUDIO	70
D.V.	DISEÑO DE ESTUDIO	71
D.VI.	VARIABLES EVALUADAS	71
D.VI.1	VARIABLES CLÍNICAS	71
D.VI.1.1	ÍNDICE DE PLACA (IP)	71
D.VI.1.2	ÍNDICE GINGIVAL (IG)	71
D.VI.1.3	PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PS)	72
D.VI.1.4	SANGRADO AL SONDAJE (SS)	72
D.VI.1.5	RECESIÓN GINGIVAL (RG)	72
D.VI.1.6	NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO (NIC)	72
D.VI.2	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	73
D.VI.2.1	TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS	73
D.VI.2.2	PROCESADO DE LAS MUESTRAS	73
D.VI.2.3	IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES BACTERIANAS	74
D.VI.3	VARIABLES BIOQUÍMICAS	74
D.VI.3.1	TOMA DE MUESTRAS	75
D.VI.3.2	ANÁLISIS DEL FCG	75
D.VI.3.3	PROCESADO DE LAS MUESTRAS	75
D.VI.3.4	CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS	75
D.VI.4	ANÁLISIS DE INMUNOHISTOQUÍMICA	76

D.VI.4.1	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE TEJIDO CONECTIVO GINGIVAL	76
D.VI.4.2	PROCESADO DE LAS MUESTRAS	77
D.VII.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	78
E.	RESULTADOS	79
E.I.	DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO EN LA VISITA INICIAL	81
E.I.1	DATOS DEMOGRÁFICOS	81
E.I.2	DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA	81
E.I.2.1	ÍNDICE DE PLACA (IP)	81
E.I.2.2	ÍNDICE GINGIVAL (IG)	81
E.I.2.3	PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PS) – PROMEDIO	82
E.I.2.4	DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PS	82
E.I.2.5	SANGRADO AL SONDAJE (SAS)	82
E.I.3	DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE LOCALIZACIONES SELECCIONADAS	82
E.I.3.1	ÍNDICE DE PLACA	82
E.I.3.2	PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PROMEDIO)	83
E.I.3.3	SANGRADO AL SONDAJE	83
E.I.3.4	NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO (NIC)	83
E.I.4	DATOS MICROBIOLÓGICOS	83
E.II.	COMPARACIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO EN LA VISITA INICIAL	90
E.II.1	DATOS DEMOGRÁFICOS	90
E.II.2	DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA	90
E.II.2.1	ÍNDICE DE PLACA	90
E.II.2.2	ÍNDICE GINGIVAL	91
E.II.2.3	PROFUNDIDAD DE SONDAJE	91
E.II.2.4	DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PROFUNDIDAD DE BOLSA	91
E.II.2.5	SANGRADO AL SONDAJE	91
E.II.3	DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE LAS LOCALIZACIONES SELECCIONADAS	92
E.II.3.1	ÍNDICE DE PLACA	92
E.II.3.2	PROFUNDIDAD DE SONDAJE	92
E.II.3.3	SANGRADO AL SONDAJE	92
E.II.3.4	NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO	92
E.II.4	DATOS MICROBIOLÓGICOS	93
E.III.	ANÁLISIS INTERGRUPO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS DURANTE EL ESTUDIO	111
E.III.1	VARIABLES CLÍNICAS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA	111
E.III.1.1	ÍNDICE DE PLACA	111
E.III.1.2	ÍNDICE GINGIVAL	111
E.III.1.3	PROFUNDIDAD DE SONDAJE	111
E.III.1.4	DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PROFUNDIDAD DE BOLSA	112

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

E.III.1.5	SANGRADO AL SONDAJE	112
E.III.2	VARIABLES CLÍNICAS: ANÁLISIS DE LAS LOCALIZACIONES SELECCIONADAS	113
E.III.2.1	ÍNDICE DE PLACA	113
E.III.2.2	PROFUNDIDAD DE SONDAJE	113
E.III.2.3	SANGRADO AL SONDAJE	113
E.III.2.4	NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO	114
E.III.3	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	114
E.IV.	EVALUACIÓN DE LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS: ASOCIACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS EN LA EVALUACIÓN INICIAL CON LA PÉRDIDA DE INSERCIÓN FUTURA	140
E.IV.1	ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES: TOTAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	143
E.IV.1.1	VARIABLES CLÍNICAS	143
E.IV.1.2	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	146
E.IV.2	ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES: GRUPOS DE ESTUDIO (GEN – Y GEN +)	151
E.IV.2.1	VARIABLES CLÍNICAS	151
E.IV.2.2	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	154
E.IV.3	ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y DOCE MESES: TOTAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	159
E.IV.3.1	VARIABLES CLÍNICAS	159
E.IV.3.2	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	163
E.IV.4	ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y DOCE MESES: GRUPOS DE ESTUDIO (GEN – Y GEN +)	168
E.IV.4.1	VARIABLES CLÍNICAS	168
E.IV.4.2	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	171
E.V.	EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN: ANÁLISIS MULTIVARIANTE	176
E.V.1	ANÁLISIS MULTIVARIANTE EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES	176
E.V.2	ANÁLISIS MULTIVARIANTE EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y DOCE MESES	178
F.	DISCUSIÓN	183
F.I.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	186
F.II.	DIAGNÓSTICO PERIODONTAL	188
F.III.	CRITERIOS DE PROGRESIÓN	189
F.IV.	RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS ESTUDIADAS Y EL POLIMORFISMO GENÉTICO 190	
F.V.	RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO GENÉTICO Y LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS	195
F.VI.	INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO GENÉTICO EN EL RESULTADO DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL	196

F.VII. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN..... 198

F.VIII. OTROS FACTORES ASOCIADOS AL RIESGO DE PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS 200

F.IX. TEST GENÉTICO UTILIZADO 201

F.X. TÉCNICAS GENÉTICAS 202

F.XI. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO 204

F.XII. INVESTIGACIONES FUTURAS..... 208

F.XIII. LIMITACIONES 209

G. CONCLUSIONES 211

H. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 215

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo imprescindible de muchas personas, a las cuales presto el merecido reconocimiento

A mi orientador, Prof. Dr. Mariano Sanz

Por haberme recibido en Madrid y facilitado, de forma excepcional, mi integración, por haberme transmitido sus conocimientos y experiencia, con una disponibilidad incuestionable, por haberme ayudado a crecer como profesional y como persona y, sobretudo, por haber creído en mi capacidad, aportándome la motivación necesaria para la realización de este trabajo.

A mi orientador, Prof. Dr. David Herrera

Por haberme motivado en el gusto por la Periodoncia, a través de su sabiduría y exigencia, por su disponibilidad y capacidad de trabajo ejemplares, por su esfuerzo y apoyo en todo momento y, en especial, por su vocación que me ha servido de ejemplo

À minha querida amiga Helena Rebelo

Por ter sido a principal responsável pelo meu gosto pela Periodontologia, por me ter motivado e apoiado quando decidi aprofundar os meus conhecimentos em Madrid. Muito obrigada por me aceitar e respeitar, por me aturar nos momentos difíceis, por me ajudar a tomar as decisões acertadas e pelo apoio, excepcional, na execução deste trabalho!

Ao meu querido amigo Gil Alcoforado.

Por estar sempre presente, em todas as fases da minha vida, por me ter incentivado a nunca desistir, a pesar de todos os contratemplos, mas, sobretudo por ser para mim uma referência de dedicação e disponibilidade para com os outros. Muito obrigada por me ter estimulado sempre, a por em prática os valores e princípios em que acredito!

Ao meu querido amigo Ricardo Faria e Almeida

Por ter sido um forte apoio durante os anos em que tivemos a oportunidade de conviver em Madrid, por ser para mim, indiscutivelmente, um exemplo de dedicação e excelência na nossa profissão, por estar sempre lá, quando é preciso, por me fazer sentir uma sortuda por ser sua amiga. Muito obrigada por seres um amigo extraordinário!

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Aos meus queridos amigos, Inês, João, Paulo e Francisco.

Por me animarem a terminar esta tarefa e me apoiarem, com palavras de incentivo, mesmo durante os momentos mais difíceis. Porque a vossa amizade é fundamental para mim, muito obrigada!

Ao departamento de Periodontologia da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

A todos os meus colegas do departamento pelo apoio que me deram e por compreenderem as minhas ausências durante o período de realização deste trabalho

A mis queridas amigas Sagrario y Isabel.

Por vuestra amistad y cariño, por me ayudaren a sentir siempre en casa, por me escucharen y apoyaren incondicionalmente. Sin vosotras, mi español sería, seguramente, un desastre!

Por fim, mas seguramente o agradecimento mais importante, à minha família.

Aos meus pais, Yvette e António Luís, por me terem educado no respeito e carinho pelos outros; por se terem sacrificado, muitas vezes, para me proporcionar o melhor para o meu crescimento como pessoa, por me terem criado as condições necessárias para que todo este trabalho se tornasse uma realidade. Muito obrigada pais por acreditarem em mim!

Às minhas irmãs, Margarida, Luísa e Inês, por me acompanharem em todos os momentos, mais ou menos complicados da minha vida, por apoiarem, incondicionalmente, as minhas opções e por serem exigentes e perfeccionistas como eu!

Aos meus queridos filhos, Sebastião e Duarte, pela força que me deram ao longo destes últimos anos, sempre prontos a dar um abraço apertado, tantas vezes fundamental. Muito obrigada pela vossa alegria, pelos vossos sorrisos. Nada me traz mais contentamento do que a vossa felicidade!

Aos meus queridos Teresa e Vasco, por serem tão boas pessoas! Por me permitirem fazer parte das vossas vidas de uma forma tão saudável e por me fazerem sentir um orgulho enorme em todas as vossas conquistas. Sou consciente da sorte que tenho em contar com o vosso carinho diariamente.

Ao meu querido marido, Bruno, por ser como é! Sem o teu apoio inquestionável, nunca teria terminado esta tarefa nem ultrapassado todas as adversidades que surgiram ao longo destes anos. Muito obrigada por me fazeres sentir sempre capaz de ultrapassar todos os obstáculos que a vida me tem criado; por me ajudares a terminar esta fase, que apesar de não ter sido a mais difícil foi, felizmente, a mais longa! Muito obrigada por todas as vezes que me perguntaste “quanto falta?” – foi, sobretudo, esse estímulo que me deu forças para continuar!

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

RESUMEN

La periodontitis es una enfermedad multifactorial de etiología bacteriana caracterizada por una respuesta inflamatoria desarrollada por el huésped frente a los microorganismos de la placa bacteriana, capaces de estimular la liberación de mediadores, como IL-1, responsables de la destrucción del tejido conectivo y hueso alveolar. A pesar del papel de las bacterias como factor etiológico primario de la periodontitis, la extensión y severidad de la enfermedad también se ve influenciada por distintos factores de riesgo relacionados con el huésped, no modificables como la susceptibilidad genética, o modificables como el tabaco. Esto significa que puede existir una variación considerable entre los individuos en el riesgo de progresión de la periodontitis.

Los estudios longitudinales que han evaluado los resultados del tratamiento periodontal concluyeron que es posible detener la pérdida de tejidos de soporte y prevenir la progresión de la enfermedad, a través de una terapia exhaustiva y citas de mantenimiento periodontal regulares. No obstante, hasta en los grupos de pacientes bien controlados, se han descrito episodios de pérdida de inserción clínica o pérdida de dientes. En ese sentido, la identificación de localizaciones o pacientes con mayor riesgo, o susceptibilidad, de progresión de la periodontitis representa un desafío permanente y tiene, actualmente, particular relevancia por distintos aspectos: porque la periodontitis tiene impacto considerable en la calidad de vida de los pacientes, por las secuelas estéticas y funcionales de la enfermedad y/o de su tratamiento, por la relación entre la periodontitis y diferentes patologías sistémicas y, finalmente, por ser considerada un factor de riesgo para las complicaciones biológicas en el tratamiento con implantes. A fin de valorar el riesgo de pérdida de inserción futura se han evaluado, en los últimos años, distintas variables clínicas, microbiológicas, inmunológicas y genéticas.

La IL-1 β es la citoquina más estudiada en la literatura periodontal. Su papel preponderante en la patogénesis de la periodontitis está comprobado. El polimorfismo del gen que codifica la IL-1 β ha sido asociado a una mayor producción de la citoquina y relacionado con la severidad de la periodontitis en diferentes poblaciones. Sin embargo, la existencia de resultados contradictorios publicados en la literatura, y la variabilidad de los componentes genéticos en distintas poblaciones, justificó la realización de este trabajo de investigación. El objetivo principal fue estudiar la progresión de la periodontitis,

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

definida como pérdida de inserción clínica, y los factores que influyen en ella, en dos cohortes de pacientes, con periodontitis avanzada, tratados y en la fase de mantenimiento, pero con distinto polimorfismo genético respecto a IL-1 β . Adicionalmente, evaluó la relación de las distintas variables clínicas y microbiológicas con la progresión y se estudió el papel de cada variable en el riesgo de pérdida de inserción futura.

Para cumplir los objetivos propuestos fueron seleccionados 30 pacientes adultos, caucasianos, posteriormente agrupados en dos grupos, con genotipo negativo (GEN-) y con genotipo positivo (GEN+), de acuerdo con el resultado del test genético realizado. Los pacientes fueron evaluados cada tres meses durante un año. En cada visita se evaluaron y registraron las variables clínicas y microbiológicas, según el criterio previamente definido.

Los resultados de nuestro estudio no demostraron diferencias significativas en la progresión de la periodontitis entre los pacientes GEN- y GEN+. Tampoco se encontraron diferencias relevantes en las variables clínicas y en el análisis microbiológico y la cuantificación de los patógenos periodontales, entre los dos grupos evaluados. La cantidad de placa bacteriana evaluada en la visita inicial fue la variable más relevante en la predicción de futura pérdida de inserción entre las visitas inicial y a doce meses.

ABSTRACT

Periodontitis is a multifactorial disease with microbial aetiology and characterized by an inflammatory response in the host in which different mediators are released, such as interleukin (IL)-1, that are responsible for the connective tissue and alveolar bone destruction. Although bacteria are the primary etiologic factor in this disease, several risk factors related to the host have key importance in the onset, severity and extension of tissue destruction. Some of these risk factors are genetic, impossible to modify, and others are environmental, manageable to eliminate. This means that there is a great variability between different individuals in the susceptibility to periodontal destruction.

The main goal of periodontal treatment is to stop connective tissue and bone destruction, prevent future disease progression and avoid tooth loss. The longitudinal studies that have evaluated treatment results have shown that this goal can be accomplished by the means of comprehensive treatment followed by regular supportive therapy. But the literature has also shown that, even in well-controlled patients, there are episodes of loss of clinical attachment and even tooth loss, in approximately one fifth to one fourth of treated population. For this reason, the identification of patients or sites at a greater risk of periodontal destruction is presently a great challenge, for multiple reasons: because of the impact that periodontitis has on quality of life of the patients, because of the aesthetic and functional sequelae of the disease, because periodontitis as proved to be related to multiple other systemic diseases and, finally, because it is a risk factor for the biological complications of implant therapy.

With the aim of determining the future attachment loss, several clinical, microbiological immunologic and genetic parameters have been investigated, in the recent years. In terms of clinical parameters, bleeding on probing and residual probing depth, are associated, in the literature, with periodontitis progression. In terms of microbiology, although periodontitis is considered an opportunistic infection, there is a particular group of periodontal pathogens that have been demonstrated to be associated to disease progression and whose presence is considered, in the literature, as a predictor of future attachment loss. These microorganisms are: *A. actinomycetemcomitans*; *P. gingivalis*; *T. forsythia*; *P. intermedia*; *C. rectus*; *P. micra* and *T. denticola*. Longitudinal and retrospective studies have shown that the presence, at baseline, of relevant proportions of

one or a group of these pathogens can be considered a prognostic indicator of periodontitis progression. Anyway the existing evidence on its real prognostic value is still limited. As for the genetic parameters, in recent years, a significant number of papers have been published on the role of the genes or its variants, in the host response in periodontitis. Based on the results of research centred on the study of family groups and twins, it was concluded that bacteria are essential for the beginning of periodontitis but the genetic factors determine the level of susceptibility to periodontal destruction and consequently on the severity and rate of progression of attachment loss. Presently, most of the research is centred in genetic polymorphisms that play an important role in the recognizing and elimination of the bacteria by the immune system, in the tissue destruction process, in the associated metabolic mechanisms namely certain molecules such as cytokines, chemokines, receptors on cellular membranes, enzymes and also antigen recognizing. IL-1 β is the most investigated cytokine in periodontal literature. Its important role in the pathogenesis of periodontitis has been clearly demonstrated. Although polymorphism in IL-1 β genetic location has been shown to be associated to a greater cytokine production leading to a more pronounced severity of periodontitis in different populations, this research was justified by the fact that the results published in the literature are contradictory and there is a great variability in the genetic characteristics in different populations.

The main objective of this prospective cohort longitudinal clinical study was to characterize the progression of periodontitis, defined as clinical periodontal attachment loss and also the factors that influence it, in two cohorts of patients with treated periodontitis, in supportive periodontal program, with different genetic polymorphism in terms of IL-1 β . Additionally, the study aims to evaluate the association of clinical and microbiologic variables with periodontal destruction in an attempt to define their role in future disease progression. The study population was composed of 30 adult Caucasian patients, divided in two groups-cohorts, according to the genetic test result, positive genotype positive (GEN +) and negative genotype (GEN-).

As for the study design, the patients were evaluated every three months during one year, with a total of five study visits: baseline, three, six, nine and twelve months. In each patient, eight sites, two per quadrant were initially selected, based on clinical and radiographic criteria, as the sites presenting greater clinical attachment loss.

At each visit, clinical, microbiological and immunological variables were assessed.

The clinical parameters, evaluated by one experienced and trained examiner included dichotomous Plaque Index, Bleeding on Probing, Pocket Probing Depth, Gingival Recession and Clinical Attachment Level. In addition, at the eight selected sites, Relative Attachment Level was assessed using a pressure-controlled electronic probe (Florida Probe®, Florida Probe Corporation, Florida, EE.UU) and an acrylic stent.

At baseline, a pooled microbiological sample of subgingival plaque was taken from the eighth selected sites. After baseline, microbiological analysis was made, exclusively, at those sites in which disease activity (attachment loss) was detected. Total anaerobic counts were calculated, as well as counts of the detected periodontal pathogens (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *P. micra* and *F. nucleatum*). In addition to the quantitative microbiological data, the frequency of detection and proportions for each bacterial species were also calculated.

Gingival crevicular fluid (GCF) was collected at baseline to quantify the levels of interleukin-1 β by means of ELISA in the eighth selected sites. After baseline, the GCF analysis was made, exclusively, in those sites that presented attachment loss between two visits. To quantify the volume of the obtained fluid was used the Periotron 8000 (Harco, Irvine, California, EE.UU.). In addition, a gingival connective tissue sample from each patient was obtained to carry out an immunological analysis to detect populations of lymphocytes using different monoclonal antibodies (anti CD3, anti CD8, anti CD20 and anti CD57).

The study results were analysed with various approaches. First, an intergroup comparison was made related to the baseline clinical and microbiological situation. No statistical significant differences were found between GEN+ and GEN- groups, in terms of the clinical and microbiological parameters selected for this study. Secondly, another intergroup comparison was performed, taking into account the clinical and microbiological data at all the study visits (three, six, nine and twelve months). Also, this analysis was not able to detect any statistically significant difference between GEN- and GEN+ groups, in terms of the progression of the clinical parameters in the successive visits. Relative to the microbiological parameters, although it is difficult to compare the changes in bacterial composition, it was not possible to detect statistically significant differences between the groups. According to the data of the baseline visit, the most frequent periodontal

pathogens detected were *F. nucleatum* and *P. intermedia*; *P. gingivalis*, represented the greatest proportion of the periodontal microbiota.

Additionally, the progression of periodontal destruction was evaluated, based essentially on the measurements of attachment loss. The attachment loss was related to clinical and microbiological parameters, in order to try to define a pattern of risk of future progression of periodontitis. Attachment loss was defined at a patient level and at a site level: a patient presenting attachment loss was a patient that lost attachment in, at least, a) one site between baseline and 3 months, or b) two sites during the twelve months of the study, comparing any of the sequential visits. At the site level: one site with attachment loss has to present a change in the relative attachment level greater than 0,9mm between two consecutive study visits.

At the patient level, the number of patients with attachment loss was similar in the two groups, GEN+ and GEN-. Globally it was not possible to find statistically significant differences in any of the clinical and microbiological parameters in the patients/sites with and without attachment loss.

Finally, the results were submitted to a bivariable analysis. Patients with attachment loss were compared with stable patients in terms of baseline clinical full-mouth variables, clinical variables at selected sites, microbiological, immunological and immunohistochemical variables. The multivariate analysis was performed to identify which were the factors, present at baseline, with influence on the event of attachment loss, between baseline and three months or between baseline and twelve months. The quantity of IL-1 β , identified at baseline, was the parameter most related to attachment loss at three months. As for the future attachment loss, during the twelve months of the study, plaque index was the most relevant parameter detected.

In conclusion, the results of this study were not able to identify significant differences between the groups GEN+ and GEN-, in terms of periodontitis progression. Also, no differences were found in terms of clinical parameters, microbiological analysis and periodontal pathogens counts. The quantity of bacterial plaque, evaluated in the first study visit, was the most helpful variable in predicting attachment loss between initial and twelve months visits.

The main limitation of this research project is the limited number of patients, having a direct impact in statistical significance of the data and on the possibility of extrapolation of the results obtained.

Although research is in constant progress, there is not yet available a specific and sensitive method able to identify an individual susceptible to periodontitis before the onset of the disease. Additionally, the available scientific evidence relating to diagnostic methods able to identify individuals or sites “at risk” is still limited.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

A. INTRODUCCIÓN

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

A. INTRODUCCIÓN

A.I. ENFERMEDAD PERIODONTAL

Las enfermedades periodontales, gingivitis y periodontitis, están entre las patologías crónicas más comunes en humanos (Williams 1990).

Mientras que la gingivitis tiene una prevalencia casi universal, y la importancia de poder progresar a periodontitis, la periodontitis es también muy prevalente (entre 25-40% de adultos) y está asociada a una mayor morbilidad. La periodontitis es una enfermedad multifactorial de etiología bacteriana caracterizada por una respuesta inflamatoria desarrollada por el huésped frente a los microorganismos de la placa bacteriana y sus productos (Genco 1992). La periodontitis se caracteriza por presencia de inflamación gingival en localizaciones donde se ha perdido la inserción de fibras de colágeno al cemento y migración apical del epitelio de unión. Además, al proceso inflamatorio de pérdida de inserción del tejido conectivo se asocia reabsorción de la porción coronal del hueso alveolar de soporte (Armitage 1995).

En las últimas décadas se ha evolucionado de forma extraordinaria en el conocimiento de la etiología, patogénesis y tratamiento de la periodontitis. Los estudios longitudinales indican que se puede prevenir la periodontitis, que una vez presente puede ser tratada y que los dientes se pueden mantener para toda la vida (Hirschfeld y cols. 1978, McFall 1982).

El conocimiento actual de las consecuencias de la periodontitis y de los efectos del tratamiento periodontal es fundamental a varios niveles: en la comprensión de la percepción del paciente del impacto de la salud oral en su calidad de vida, en el planeamiento del tratamiento de acuerdo con las preocupaciones y expectativas del paciente, en la evaluación de los resultados del tratamiento teniendo en consideración la opinión del paciente y en la llamada de atención de la importancia de la prevención y tratamiento periodontal en la sociedad (McGrath y cols. 1999).

La pérdida de dientes naturales tiene, actualmente, una importancia fundamental y puede ser considerada un acontecimiento grave en la vida de nuestros pacientes. En realidad, la pérdida de dientes puede llevar a alteraciones funcionales que afectan las actividades diarias como la masticación, la selección de alimentos y la forma de hablar (Allen y cols.

1999). Asimismo tiene un impacto importante en el comportamiento psíquico social de tal forma que los individuos con dientes son más felices (Fiske y cols. 2001).

La situación periodontal tiene un impacto directo en la calidad de vida de los individuos (Needleman y cols. 2004). Además existe una diferencia significativa entre la calidad de vida de los pacientes periodontales que visitan regularmente el clínico y los pacientes menos regulares. La destrucción periodontal, mínima o avanzada, está relacionada directamente con los síntomas asociados con periodontitis identificados por los pacientes y consecuentemente con la calidad de vida referida (Ng y cols. 2006). De manera adicional, la periodontitis puede incrementar el riesgo de sufrir diferentes patologías sistémicas, como diabetes, enfermedades cardiovasculares, resultados adversos del embarazo o infecciones respiratorias (Borgnakke y cols. 2013, Dietrich y cols. 2013, Ide y cols. 2013, Linden y cols. 2013)

A.I.1 PREVALENCIA

Prevalencia es el número de casos de una enfermedad en una población específica en un determinado momento.

Los avances en la investigación periodontal durante los últimos años han producido un cambio profundo en el conocimiento de la prevalencia de la enfermedad.

Los estudios realizados hasta la década de 1970 describían un modelo epidemiológico de las enfermedades periodontales basado en cuatro determinaciones: 1) todos los individuos son igualmente susceptibles a la periodontitis severa; 2) la periodontitis resulta de la progresión de una gingivitis no tratada con consecuente pérdida de hueso de soporte y eventual pérdida de dientes; 3) cerca de 90% de variación en la severidad de la periodontitis en una determinada población está relacionada con la edad y el control de placa bacteriana; 4) la susceptibilidad a la periodontitis aumenta con la edad y representa la principal causa de pérdida de dientes a partir de los 35 años (Scherp 1964). El modelo epidemiológico descrito anteriormente se basaba en asignar los individuos en uno de dos grupos: “enfermedad” o “salud”, basado en la presencia o ausencia de pérdida de soporte periodontal o de hueso alveolar. La prevalencia de la periodontitis en adultos se ha determinado a través de evaluación clínica de los tejidos periodontales (Loe y cols. 1992), valoración radiográfica de la pérdida de hueso alveolar (Papapanou y cols. 1988) o de la combinación de los dos parámetros (Papapanou y cols. 1990).

Los estudios realizados a partir de los años 80 han permitido describir los parámetros sitio-específicos de la enfermedad periodontal y la variación de condición periodontal entre las diferentes poblaciones. Los datos epidemiológicos respecto a la enfermedad periodontal presentan una serie de limitaciones relacionadas, por un lado, con la ausencia de uniformización de los criterios de diagnóstico utilizados y, por otro lado con la clasificación considerada, ya que la mayoría de los estudios hace referencia a clasificaciones anteriores a la aceptada actualmente (Armitage 1999). Los estudios se basan en la *extensión* de la dentición afectada por la destrucción periodontal (el porcentaje de localizaciones involucradas) y la *severidad* de los defectos (cantidad de pérdida de soporte detectada). Los resultados de los estudios realizados en diferentes poblaciones han permitido concluir que la periodontitis severa afecta un pequeño porcentaje de la población de los países desarrollados, probablemente no superior al 10%. Este porcentaje aumenta con la edad hasta los 50-60 años (Locker y cols. 1998).

Sin embargo, la determinación de la prevalencia de la periodontitis depende de la definición de enfermedad utilizada. Si la periodontitis se define como la identificación de una localización con pérdida de inserción clínica ≥ 2 mm, cerca de 80% de los adultos están afectados, 90% entre los 55 y 64 años. Cuando se limita enfermedad a los casos con pérdida de inserción clínica ≥ 4 mm en una localización, la prevalencia disminuye al 50% en la mismo cohorte de 55 a 64 años. Cuando la pérdida de inserción clínica es ≥ 6 mm, la prevalencia es inferior al 20% (Oliver y cols. 1998) .

Los datos disponibles de estudios epidemiológicos realizados en diferentes países permiten concluir que la forma moderada de periodontitis es frecuente y universal mientras que la prevalencia de la forma severa de periodontitis es baja (Loe y cols. 1978, Baelum y cols. 1986, Brown y cols. 1990, Hugoson y cols. 1998, Albandar y cols. 1999) Adicionalmente, la evidencia actual apunta a que la prevalencia de la periodontitis no es uniforme entre razas, etnias y grupos socio-económicos (Hobdell 2001). Cualquier dato de prevalencia necesita de parámetros de referencia de enfermedad y de la definición clara del grupo etáreo al cual se aplica.

A.I.2 INCIDENCIA

Incidencia es el número de nuevos casos en una población durante un determinado periodo de tiempo.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

En el caso de la periodontitis, el término incidencia se aplica a nuevas localizaciones con pérdida de inserción clínica (CAL, por sus siglas en inglés, *clinical attachment loss*) o pérdida de hueso alveolar, en individuos que ya presentaban otras localizaciones afectadas. Además, también se aplica al aumento de CAL o pérdida de hueso en una localización ya afectada.

La evaluación de la incidencia de la periodontitis se ha realizado a través de estudios longitudinales. Algunos estudios longitudinales han confirmado los resultados de los estudios transversales, identificando la edad como un factor de riesgo para progresión de la CAL (Ismail y cols. 1990, Nelson y cols. 1990, Papapanou y cols. 1990). Sin embargo, otros estudios han concluido que la progresión de CAL se relaciona directamente con la extensión de CAL inicial y no con la edad (Papapanou y cols. 1990, Haffajee y cols. 1991).

El estudio Piedmont (Beck y cols. 1994, Brown y cols. 1994, Beck y cols. 1997), realizado durante 3 años en una población entre los 65 y los 80 años, ha permitido concluir que hay una mayor CAL en los individuos afro-americanos comparados con los caucasianos y que cerca de 50% de la población estudiada había perdido inserción (≥ 3 mm) en, al menos, una localización durante los primeros 18 meses de observación. Además, la pérdida de inserción inicial ha sido relacionada con pérdida de inserción subsiguiente pero no siempre en la misma localización, lo que apoya el modelo episódico aleatorizado de la periodontitis (los individuos con mayor pérdida de inserción inicial tenían mayor probabilidad de perder dientes durante los 5 años siguientes a la realización del estudio).

Löe y cols. (Loe y cols. 1986) evaluaron la incidencia y progresión de la periodontitis en una población de 480 trabajadores de plantaciones de té en Sri Lanka durante 15 años. El grupo de individuos, con edades comprendidas entre los 14 y 31 años, nunca habían recibido programas de prevención o tratamiento odontológico o periodontal. De acuerdo con la pérdida de inserción interproximal y la pérdida de dientes se concluyó que el 8% de la población estudiada demostraba una progresión rápida de la periodontitis (pérdida de inserción: 9 mm a los 35 años y 13mm a los 45 años), 81% una progresión moderada (pérdida de inserción: 4 mm a los 35 años y 7 mm a los 45 años) y 11% de los individuos han mantenían signos de gingivitis sin progresión a periodontitis.

La determinación de la incidencia de la periodontitis depende de la definición de enfermedad utilizada. Cuanto más severa es la pérdida de inserción clínica o la pérdida de hueso definida, menor la incidencia de periodontitis registrada (Oringer y cols. 1998).

A.I.3 MORBILIDAD

Morbilidad es la proporción de personas que padecen los efectos de una enfermedad en una población.

En el caso de la periodontitis, el término morbilidad se aplica, fundamentalmente, a los efectos de CAL o pérdida de hueso alveolar y se puede evaluar en poblaciones de estudio que no han recibido tratamiento.

La evaluación de la morbilidad de la periodontitis se ha realizado a través de estudios longitudinales. Becker y cols. (Becker y cols. 1979) estudiaron 30 pacientes con periodontitis que no habían aceptado tratarse pero que realizaron una segunda evaluación periodontal de 18 a 115 meses después de la primera (media 3,72 años).

Todos los pacientes manifestaron evidencia de pérdida ósea radiográfica. El aumento de la profundidad de sondaje varió entre los 0,24 a 2,46 mm/año y la media de pérdida de dientes de 0,36 por paciente al año.

Lindhe y cols. (Lindhe y cols. 1983) estudiaron dos poblaciones distintas: un grupo de 64 pacientes europeos monitorizados durante 3 a 6 años sin tratamiento periodontal y un grupo de 36 pacientes americanos durante 1 año. En el primer grupo de pacientes la pérdida de inserción fue de $0,82 \pm 0,87$ mm durante los primeros 3 años y de $0,45 \pm 0,84$ mm en los 3 siguientes. En el segundo grupo hubo pérdida de inserción ≥ 2 mm en 3,2% de las localizaciones y ganancia de inserción ≥ 2 mm en 4,3% de las localizaciones estudiadas. Los resultados del estudio permiten concluir que los pacientes con periodontitis no tratada pueden presentar localizaciones sin pérdida de inserción pero también que la pérdida de inserción, cuando está presente, puede ser rápida.

Otros estudios han demostrado que la pérdida de inserción es variable entre los individuos y algunos pacientes pierden o ganan de 4 a 5 mm de inserción al año (Goodson y cols. 1982). Estos hallazgos parecen indicar que la periodontitis es una condición dinámica con periodos de remisión y exacerbación.

A.II. MODELO ETIOPATOGÉNICO DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

El modelo etiopatogénico aplicado a las enfermedades periodontales ha evolucionado en las últimas décadas. El primer modelo propuesto, en los años 1960, implicaba que la presencia de bacterias conducía directamente a la aparición de signos clínicos de

enfermedad (Loe y cols. 1965, Lindhe y cols. 1973). Posteriormente, en los años 1980, el modelo formulado involucraba la presencia de bacterias y sus productos en el área subgingival como responsables por la activación secuencial de diversos componentes de la respuesta del huésped, que se dirigen en primer lugar a la defensa de los tejidos ante la agresión bacteriana pero además funcionan como mediadores de la destrucción observada (Offenbacher 1996). La presencia de bacterias es esencial pero insuficiente para producir enfermedad, por lo tanto, la periodontitis es una infección mixta que provoca destrucción periodontal en un hospedador susceptible (Seymour 1991).

En 1997 se propuso un modelo no lineal; los mecanismos inmunológicos y inflamatorios son activados por bacterias; sin embargo, la severidad y progresión de la periodontitis depende de la presencia de distintos factores de riesgo, comportamentales y no modificables, que determinan las respuestas inflamatoria inmediata e inmunológica y, consecuentemente, la manifestación clínica de enfermedad (Page y cols. 1997).

La evolución del conocimiento ha permitido diseñar un modelo biológico, propuesto por Kornman (2008). Los productos bacterianos activan los mecanismos inmunológicos que, a su vez, influyen en el metabolismo del tejido conectivo y del hueso; los factores genéticos y comportamentales modifican la expresión de mediadores activados por los productos bacterianos, produciendo alteraciones en los tejidos que resultan en los signos clínicos de enfermedad (Kornman 2008).

A.II.1 PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS

La cavidad bucal está habitada por bacterias desde el nacimiento y constituye la única localización del organismo con superficies que no sufren descamación, los dientes (Socransky y cols. 2002). Las bacterias colonizan los tejidos blandos, encía, mejillas y lengua pero también las superficies supra y subgingivales de los dientes. La composición de la microbiota oral en las distintas superficies varía considerablemente (Dewhirst y cols. 2010). Se ha estimado la presencia de más de 700 especies bacterianas residentes en la boca y en un solo individuo se pueden encontrar más de 150 especies diferentes. La placa bacteriana supragingival de un solo diente presenta más de 10^9 bacterias mientras que el área subgingival, en casos de salud periodontal, entre 10^3 y cerca de 10^8 en bolsas periodontales profundas (Socransky y cols. 2005).

A pesar de los miles de millones de bacterias que colonizan continuamente el diente y el medio subgingival, la relación ecológica entre la microbiota periodontal y el huésped está en equilibrio sin que se produzcan alteraciones. No obstante, ocasionalmente un subgrupo de especies bacterianas se introduce o se sobre-desarrolla o muestra nuevas propiedades que conducen a la destrucción del periodonto (Darveau 2010). Esta modificación del equilibrio bacteria/huésped puede ser corregida espontáneamente o a través de tratamiento específico. Sin embargo, las especies bacterianas colonizan perpetuamente el área supragingival y subgingival sin que se manifieste clínicamente la enfermedad, es decir, con un equilibrio nuevo y estable (Socransky y cols. 2005).

Teniendo en cuenta los principios básicos de etiopatogénesis de las enfermedades infecciosas, la periodontitis puede ser considerada una enfermedad poco común. El motivo principal está relacionado con la anatomía excepcional del área ya que una parte de la estructura mineralizada del diente se encuentra en un medio externo, el medio bucal, sin embargo la otra parte está localizada en el tejido conectivo. Las características anatómicas únicas del conjunto diente-periodonto influyen de forma decisiva en la capacidad de adhesión y colonización bacteriana y en la complejidad de la respuesta inflamatoria e inmunológica del huésped (Socransky y cols. 1997).

A.II.1.1 PLACA BACTERIANA COMO UN BIOFILM

La placa bacteriana se define como una comunidad microbiana que se encuentra en las superficies dentarias embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y del huésped (Marsh 2004). Las bacterias de la placa bacteriana representan microorganismos altamente desarrollados y especializados que han conseguido adaptarse a su medio de una forma excepcional. En condiciones de salud desafían al huésped a mantener una respuesta eficaz. En ciertas condiciones, que pueden involucrar adquisición de nuevas especies, combinaciones de especies o disminución de las defensas del huésped, pueden producir inflamación y destrucción de los tejidos periodontales (Darveau y cols. 1997).

El crecimiento y maduración de la placa bacteriana se ha estudiado en los distintos ecosistemas orales, sean naturales, como el esmalte o la dentina, o artificiales, como metal o acrílico (Theilade y cols. 1985). A pesar de las diferencias en los determinantes ecológicos que influyen directamente en la capacidad de los microorganismos para

sobrevivir en la cavidad oral, las características fundamentales para el desarrollo inicial de la placa bacteriana son semejantes en todas las superficies (Siegrist y cols. 1991)

El crecimiento y maduración de la placa bacteriana tiene lugar en varias fases. Inmediatamente después de la formación de la película adquirida, constituida por glicoproteínas salivares e anticuerpos, se inicia la adhesión de las bacterias colonizadoras iniciales a través de receptores específicos como proteínas ricas en prolina. Algunas bacterias, como los estreptococos, presentan estructuras de unión específicas como sustancias extracelulares y fimbrias que permiten la adhesión a la película (Darveau y cols. 1997). Además, tienen la capacidad de co-agregación intra-género, proceso fundamental en la formación de la placa bacteriana, ya que indica la adherencia entre dos células bacterianas del mismo género en suspensión (Gibbons y cols. 1970).

Después de la colonización inicial, el cambio de comportamiento de las bacterias adheridas permite su multiplicación y la producción de componentes de la matriz extracelular. Esta fase precede la llegada de nuevas especies, los colonizadores secundarios, que se unen o reemplazan las anteriores favoreciendo un incremento en la complejidad del ecosistema. Con el aumento secuencial de la dimensión de la placa bacteriana madura, la difusión es cada vez más difícil y las bacterias de las capas inferiores tienen la capacidad de adaptación a condiciones de anaerobiosis y de disminución de la disponibilidad de nutrientes. En la segunda fase, los bacilos gram-positivos aumentan gradualmente en número pero los filamentos gram-positivos, en particular del género *Actinomyces*, son predominantes (Scheie 1994). Los receptores de superficie de los cocos y bacilos gram-positivos permiten la adhesión de microorganismos gram-negativos que no tienen la capacidad de adhesión directa a la película, como los géneros *Veillonella*, *Prevotella* o *Capnocytophaga*.

La especie bacteriana clave en el desarrollo de la placa bacteriana parece ser *Fusobacterium nucleatum* (Moore y cols. 1994). Además de tener la capacidad de co-agregación con muchas de las bacterias orales, también puede unirse a una proteína de la película, la estaterina. Este microorganismo, anaerobio estricto, es fundamental para la llegada de nuevos géneros bacterianos como *Porphyromonas*, *Treponema*, *Selenomonas*, *Aggregatibacter* o *Eubacterium*, de forma a que su presencia es imprescindible en la formación de agregados bacterianos complejos.

Con el tiempo, aumenta el número de microorganismos gram-negativos y la heterogeneidad de la placa bacteriana, existiendo un complejo sistema de relaciones inter-bacterianas beneficiosas como el intercambio de nutrientes pero también negativas, como la producción de bacteriocinas que desempeñan un papel fundamental en el establecimiento de una comunidad bacteriana estable (Scheie 1994).

Durante muchos años, el estudio de las bacterias se ha centrado en la observación de bacterias aisladas o planctónicas. Sin embargo, las nuevas técnicas de observación han permitido valorar la estructura de los agregados bacterianos complejos, los biofilms. Estos se pueden definir como agregados bacterianos, normalmente como comunidades íntimamente asociadas, que se adhieren a variadas superficies naturales o artificiales, normalmente en medio acuoso que contiene una concentración suficiente de nutrientes para sostener las necesidades metabólicas de la microbiota (Costerton y cols. 1995).

La placa bacteriana es un biofilm microbiano con sus características estructurales y propiedades (Marsh 2004). La estructura del biofilm indica la presencia de microcolonias de células bacterianas relacionadas a través de canales de agua que permiten un aporte de nutrientes para la colonia y facilitan el movimiento de productos del metabolismo. La propia estructura del biofilm crea condiciones para sus propiedades determinantes (Costerton y cols. 1999):

- Heterogeneidad fisiológica: las bacterias en biofilm (sésiles) presentan distintas características físicas y químicas, de tal forma que una bacteria facultativa podría comportarse como anaerobia. Además, las bacterias en biofilm interaccionan entre sí de forma distinta en comparación con las bacterias en suspensión;
- Fenotipos en el biofilm: existen claras diferencias fenotípicas entre las bacterias planctónicas y las bacterias sésiles; se ha descrito la regulación de determinados genes cuando la bacteria se encuentra en biofilm;
- Señales en el biofilm: el fenómeno de *Quorum sensing* es un mecanismo de comunicación celular que implica la regulación de la expresión de algunos genes que influyen en las distintas propiedades del biofilm como, por ejemplo, la resistencia antibacteriana (Stewart y cols. 2001);
- Capacidad adaptativa: la estructura del biofilm es heterogénea, lo que incluye la presencia de gradientes químicos que influyen en la distribución y actividad de las colonias bacterianas (Davey y cols. 2006). Esta actividad es dinámica y parece

adaptarse a los cambios que ocurren en la de disponibilidad de nutrientes, en las características físico-químicas como la temperatura, la tensión de oxígeno o la concentración del ion hidrógeno y en las fuerzas físicas a las que están sometidos.

- El conocimiento actual de la formación de la placa bacteriana y su organización en biofilm es crucial para la comprensión del papel de los microorganismos en la etiopatogénesis de la enfermedad periodontal. Por un lado, sabemos que la periodontitis es iniciada y perpetuada por un conjunto de bacterias, principalmente gram-negativas y anaerobias, que colonizan el área subgingival; por otro lado, conocemos las características de las bacterias en biofilm que conllevan una mayor resistencia a los mecanismos de defensa normal del huésped frente a la agresión pero también al tratamiento, de tal forma que la eliminación mecánica de los agregados bacterianos es un componente fundamental para éxito del abordaje terapéutico (Marsh 2005).

A.II.1.2 PLACA BACTERIANA COMO FACTOR ETIOLÓGICO PRIMARIO

El conocimiento de la etiología microbiana de las enfermedades periodontales experimentó avances notables en las últimas décadas.

La teoría no específica o cuantitativa, descrita por Loesche (Loesche 1976), consideraba que todas las especies bacterianas encontradas en la placa dental poseían igual capacidad para causar enfermedad; según esta teoría, la placa bacteriana dejada acumular en cantidad es responsable de la producción de sustancias que no sólo desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la caries dental, sino que también llevan a la destrucción de los tejidos del periodonto. Esta teoría no explicaba los casos de periodontitis asociada a poca cantidad de placa bacteriana. A partir de los años 1970, con la utilización de exámenes microscópicos de la placa dental, se pudieron establecer las claras diferencias en la composición de la placa en salud, gingivitis y periodontitis y determinar las especies involucradas en la aparición de la caries. Esta teoría específica o cualitativa de la placa descrita también por Loesche (Loesche 1976) indica que la patogenicidad de la placa bacteriana depende de microorganismos con elevada virulencia, capaces de superar las defensas de huésped y provocar inflamación (Theilade 1986). En los años 1990, ha sido propuesta la hipótesis ecológica de placa bacteriana (Marsh 1994). La acumulación no específica de placa bacteriana resulta en inflamación de los tejidos y consecuente gingivitis. Las alteraciones ambientales en el surco gingival

favorecen el acúmulo de especies gram-negativas que, a su vez, incrementan el proceso inflamatorio y la respuesta inmunológica. Esencialmente, es la inflamación de los tejidos lo que induce el crecimiento de microorganismos específicos de la flora subgingival responsables de la destrucción del periodonto.

La evidencia del papel primario de las bacterias en la etiología de las enfermedades periodontales es, actualmente, incontestable, y se puede comprobar con distintos datos disponibles en la literatura:

a) La fase aguda de ciertas formas de enfermedad periodontal puede ser aliviada con el uso de distintos antibióticos (Mariotti y cols. 1998);

b) los estudios longitudinales de gingivitis experimental demostraron rotundamente la relación entre la supresión del control de placa bacteriana con la aparición clínica de gingivitis y su desaparición al ser eliminada la placa bacteriana (Loe y cols. 1965);

c) distintos estudios indicaron que la utilización de antimicrobianos locales (Matesanz-Perez y cols. 2013) o sistémicos (Herrera y cols. 2008) mejora el resultado terapéutico del control de la infección periodontal;

d) al ser las enfermedades periodontales una entidad causada por microorganismos se podría esperar que el huésped desarrollara una respuesta inmunológica a microorganismos subgingivales específicos. Algunos estudios indican que los individuos con enfermedad periodontal muestran una respuesta de anticuerpos séricos elevada (Shin y cols. 2013);

e) se ha evidenciado el potencial patógeno de la placa bacteriana al ser implantada en localizaciones extraorales o en animales de experimentación (Do y cols. 2013).

Por lo tanto, sobran las evidencias que consideran los microorganismos como factores etiológicos primarios de las enfermedades periodontales.

Actualmente aceptamos que un grupo de bacterias puede colonizar un huésped sin que este manifieste clínicamente la enfermedad, sino que esto depende de una serie de factores. El huésped debe ser susceptible tanto sistémica como localmente, el medio debe contener especies bacterianas que refuercen la infección o al menos que no inhiban la actividad del patógeno y conduzcan a la expresión de factores de virulencia, además deben existir en número suficiente para poder iniciar la enfermedad o originar progreso de la infección.

A.II.1.3 DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS

La búsqueda de los agentes etiológicos de la periodontitis empezó hace más de 100 años (Socransky y cols. 1994); sin embargo, a pesar de los esfuerzos en la investigación, persisten las dificultades en identificar los “patógenos periodontales” o combinaciones de patógenos que llevan a la destrucción del periodonto (Teles y cols. 2013) . Estas dificultades incluyen: a) la diversidad de la microflora subgingival, que incluye bacterias difíciles o imposibles de cultivar; b) las características físicas de la bolsa periodontal pueden limitar la obtención de una muestra representativa que contenga el posible patógeno; c) dificultades para identificar clínicamente las localizaciones con destrucción activa; d) la presencia de varias especies bacterianas limita la determinación de las combinaciones de bacterias asociadas con progresión de la enfermedad y la evaluación del papel de un microorganismo en particular.

En general, la microflora periodontal puede ser considerada un conjunto de microorganismos comensales, habitualmente asociados a salud, que mediante condiciones ambientales apropiadas, se tornan patogénicos y causan o están asociados a enfermedad (Bartold y cols. 2013).

La discriminación de la naturaleza de los microorganismos periodontales fue propuesta por Genco y cols. en 1988 (Genco y cols. 1988). La distinción entre infección endógena y exógena es fundamental no solo para identificar y caracterizar los microorganismos responsables pero también para establecer el abordaje de tratamiento más adecuado (Zambon 1996). Si los microorganismos asociados a las diferentes formas de enfermedad periodontal son endógenos se comportan como patógenos oportunistas, el tratamiento tiene como objetivo disminuir los niveles del microorganismo hasta el punto en el cual el sistema de defensa del huésped pueda superar el efecto patógeno. Las medidas de control de placa bacteriana serían suficientes para minimizar el número y prevalencia de éstos microorganismos. Sin embargo, si los microorganismos presentes son el resultado de una infección exógena, el objetivo primordial es la eliminación completa de la cavidad oral a través de las habituales medidas de control de placa bacteriana y, muchas veces, utilizando antimicrobianos específicos como en otras infecciones del organismo.

A.II.1.4 CRITERIOS PARA DEFINIR A LOS PATÓGENOS PERIODONTALES

Los clásicos postulados de Koch definen una relación causal entre un microorganismo y una enfermedad y estipulan que un agente causal tiene que:

- ser aislado de manera sistemática en cada caso de la enfermedad;
- estar ausente en casos de otras formas de enfermedad o en salud;
- tras ser aislado y cultivado repetidamente en cultivos puros debe inducir enfermedad en animales de experimentación.

Actualmente, con la evidencia disponible, dichos postulados carecen de aplicación en el caso de la periodontitis (Bartold y cols. 2013).

Sigmund Socransky, investigador del Forsyth Dental Center, en Boston propuso la corrección y ampliación de los postulados a través de distintos criterios (Socransky y cols. 1994). Según dichos criterios, un patógeno potencial tiene que:

- relacionarse con enfermedad, como evidencian los incrementos en la cantidad de microorganismos en sitios enfermos;
- ser eliminado o disminuir en zonas con resolución clínica de la enfermedad mediante tratamiento;
- demostrar una reacción del huésped, en la forma de una alteración en la inmunidad celular o humoral;
- causar enfermedad en modelos animales experimentales;
- demostrar factores de virulencia que permiten que el microorganismo genere destrucción de los tejidos periodontales.

La discriminación de un patógeno frente a especies no patógenas no se basa en un solo criterio, sino en una evaluación del peso de la evidencia disponible.

El criterio de asociación es una combinación de los dos primeros postulados de Koch, es decir, el patógeno debería encontrarse con mayor frecuencia y en mayor número en casos de infección que en individuos sin enfermedad manifiesta o con formas diferentes de enfermedad.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

El criterio de eliminación está basado en el concepto de que la eliminación del patógeno debe asociarse paralelamente a remisión de la enfermedad. En todo caso, es difícil de evaluar, pues el tratamiento no es tan selectivo como para eliminar una sola especie.

El criterio de la respuesta del huésped indica una reacción inmunológica desencadenada frente un agente extraño. Si una especie penetra en los tejidos periodontales, parece probable que el huésped produzca antígenos o una respuesta inmune celular dirigida específicamente contra esa especie.

El criterio de los factores de virulencia se fundamenta en la presencia de determinantes bioquímicos potencialmente perjudiciales producidos por cierta especie.

El criterio de estudios en animales se fundamenta en la posibilidad de que una especie pueda causar enfermedad en humanos tras inducción experimental en animales.

El criterio de análisis de riesgo, añadido posteriormente, está relacionado con la existencia de nuevas tecnologías que permiten evaluar una gran cantidad de microorganismos de la muestra de placa bacteriana subgingival. Esto permite la realización de estudios prospectivos en los cuales puede ser evaluado el riesgo de progresión de periodontitis con la presencia de un microorganismo en determinados niveles.

Teniendo en cuenta los criterios propuestos y considerando que, a pesar de que el acúmulo de placa bacteriana no específica está asociado a inflamación gingival, los datos disponibles indicaban para que un pequeño grupo de bacterias era fundamental para el desarrollo de la pérdida de inserción y reabsorción ósea características de la periodontitis (Zambon 1996). Según los resultados de la revisión realizada en el *World Workshop in Periodontics*, 1996, los patógenos periodontales sospechosos se dividieron en grupos de mayor o menor fuerza de evidencia. La evaluación de la literatura disponible ha permitido concluir que existía evidencia fuerte para considerar tres microorganismos como agentes etiológicos de las enfermedades periodontales: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (actualmente *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) (Norskov-Lauritsen y cols. 2006), *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides forsythus* (actualmente *Tannerella forsythia*). Asimismo existía una evidencia moderada para las especies *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* (actualmente *Parvimonas micra*), *Streptococcus intermedius*, *Treponema denticola* y espiroquetas. El grupo de evidencia inicial estaba

constituido por: *Eikenella corrodens*, *Pseudomonas* spp., *Selenomonas* spp., *Staphylococcus* spp., bacilos entéricos y hongos.

En la complejidad del biofilm bacteriano, las especies bacterianas aparecen asociadas, formando grupos o complejos que incluyen los colonizadores iniciales y las especies gram-negativas, anaeróbicas, más virulentas (Socransky y cols. 1998). Estas interacciones entre las diferentes especies bacterianas fueran también demostradas *in vitro* (Kolenbrander y cols. 1999).

La identificación y caracterización de los posibles patógenos periodontales de manera individual y el conocimiento de los mecanismos de patogenicidad de cada especie es fundamental, no solo para comprender el riesgo de su presencia en la cavidad oral, sino también para intentar establecer una relación del microorganismo con las distintas formas de enfermedad periodontal. Igualmente importante es evaluar la situación real que ocurre a nivel subgingival, o sea la presencia de combinaciones de especies bacterianas que poseen una mayor capacidad patogénica que las especies por separado y son capaces de desencadenar la respuesta del huésped y los diferentes mecanismos destructivos del periodonto.

La mayoría del conocimiento actual, relativo al papel potencial de diferentes especies bacterianas como agentes etiológicos de las enfermedades periodontales, proviene de datos obtenidos con técnicas de biología molecular que superan las limitaciones del cultivo bacteriano; sin embargo, teniendo en consideración la complejidad que supone la caracterización del biofilm bacteriano y el hecho de que todas las técnicas presentan sesgos y limitaciones, es probable que sea necesario asociar al menos dos técnicas distintas para determinar la flora asociada a salud y patología periodontal (Teles y cols. 2013). La utilización de técnicas moleculares ha permitido describir el microbioma oral (Gevers y cols. 2012). La caracterización del microbioma oral sugiere que las propiedades metabólicas y funcionales colectivas pueden ser más importantes en el mantenimiento de la salud periodontal cuando se compara con la composición taxonómica de la flora comensal; las variaciones en las interacciones complejas entre el microbioma y el huésped pueden llevar a enfermedad periodontal (Armitage 2013).

A.II.1.5 LOS PATÓGENOS PERIODONTALES

La descripción de los patógenos periodontales está centrada, únicamente, en las bacterias estudiadas en este trabajo de investigación. La caracterización de cada bacteria tiene por base los criterios propuestos por Socransky y Hafajjee en 1994. Algunos de los estudios hacen referencia a la clasificación antigua de las enfermedades periodontales.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans es un miembro del género *Aggregatibacter* perteneciente a la familia *Pasteurellaceae*. Es un bacilo pequeño, no móvil, gram-negativo, sacarolítico, capnofílico, de extremos redondeados y forma pequeñas colonias convexas con un centro “en forma de estrella” cuando se cultiva en placas de agar sangre. *A. actinomycetemcomitans* es un microorganismo anaerobio facultativo, no formador de esporas, catalasa positiva que no necesita de los factores X (hemina) y V (nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) para su crecimiento (Slots y cols. 1980). La presencia de varios biotipos del *A. actinomycetemcomitans* fue descrita inicialmente en 1962 (King y cols. 1962). Actualmente se han descrito 8-10 biotipos en base a las diferentes fermentaciones de dextrina, maltosa, manitol y xilosa (Olsen y cols. 1999). Según los antígenos de superficie de *A. actinomycetemcomitans* se han descrito 6 serotipos (a, b, c, d, e, f). El serotipo “a” se ha relacionado con la periodontitis crónica (Zambon y cols. 1983), el serotipo “b” con la periodontitis juvenil localizada (Zambon 1983) y el serotipo “c” con salud periodontal (Asikainen y cols. 1991). La distribución de los distintos serotipos de *A. actinomycetemcomitans* varía con la localización geográfica y raza (Rylev y cols. 2008). Esta especie fue reconocida por primera vez como posible patógeno periodontal por su mayor concentración en las lesiones de periodontitis juvenil localizada (Newman y cols. 1976, Slots y cols. 1980) comparada con las cantidades en las muestras de placa de otras situaciones clínicas, como periodontitis crónica, gingivitis y salud periodontal. Posiblemente los datos de asociación más fuerte provengan de estudios que demuestran la presencia del *A. actinomycetemcomitans* en “lesiones activas” en comparación con localizaciones consideradas inactivas (Haffajee y cols. 1984). La eliminación o supresión del *A. actinomycetemcomitans* está relacionada con una mejoría significativa de la situación clínica (van Winkelhoff y cols. 1992) y su presencia tras tratamiento con las lesiones recurrentes (Muller y cols. 1997). La revisión de Kinane y cols. ha descrito detalladamente la respuesta inmunológica del huésped a la presencia de *A.*

actinomycetemcomitans demostrada por la elevación de anticuerpos en el suero y saliva de pacientes con periodontitis (Kinane y cols. 1999). Algunos estudios demuestran la capacidad del *A. actinomycetemcomitans* de inducción de enfermedad en animales de experimentación (Irving y cols. 1978). Adicionalmente, están descritos en la literatura diferentes factores de virulencia producidos por la bacteria que incluyen la leucotoxina (Johansson 2011) y la capacidad de invasión de los tejidos (Meyer y cols. 1991). Haubek y cols. (1996) demostraron, en pacientes con periodontitis juvenil, miembros de familias africanas de distintas localizaciones geográficas, la presencia de una cepa específica de *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, designada como JP2, y caracterizada por una delección de 530 pares de bases en el gen responsable por la codificación de la leucotoxina. Esta alteración resultó en un aumento de producción de leucotoxina y, según los autores, puede explicar la alta prevalencia de periodontitis juvenil en la población estudiada (Haubek y cols. 1996). Con el objetivo de confirmar esta observación, Haubek y cols. (2001) realizaron un estudio en niños de diferentes escuelas de Marruecos y encontraron una asociación entre la presencia de la cepa JP2 de *A. actinomycetemcomitans*, y la periodontitis de inicio precoz (Haubek y cols. 2001). Adicionalmente, describieron una mayor progresión de la periodontitis, calculada a través de pérdida de inserción clínica, en una población de adolescentes infectada con la cepa JP2 (Haubek y cols. 2004). Además, en un estudio con 700 adolescentes, reevaluaron tras 2 años a 428, y señalaron un riesgo relativo de 18,0 de pérdida de inserción para aquellos que tenían exclusivamente cepas JP2, y un 12,4 para aquellos que tenían cepas JP2 combinadas con otras no JP2. De acuerdo con las conclusiones del estudio, la cepa JP2 de *A. actinomycetemcomitans* puede ser considerada un importante factor etiológico del inicio de la periodontitis agresiva en pacientes jóvenes (Haubek y cols. 2008).

Porphyromonas gingivalis

P. gingivalis es un miembro del género *Porphyromonas* perteneciente al grupo de los *Bacteroides melaninogenicus* y a la familia *Porphyromonadaceae*. Es un bacilo pequeño, no móvil, gram-negativo, anaerobio, asacarolítico que forma colonias de color negro cuando se cultiva en placas de agar sangre (Haffajee y cols. 1994). *P. gingivalis* está presente en mayor concentración en lesiones de periodontitis y en lesiones activas cuando se compara con las localizaciones sanas o con gingivitis (Yang y cols. 2004). Se ha encontrado una relación positiva con la profundidad de sondaje (Socransky y cols.

2005) y con la progresión de la destrucción periodontal (Kamma y cols. 2001). Está demostrada la reducción de *P. gingivalis* en las localizaciones tratadas con éxito; paralelamente se encuentra comúnmente en localizaciones con recidiva o con persistencia de bolsas profundas (Kawada y cols. 2004). *P. gingivalis* tiene la capacidad de inducir una respuesta inmunológica local y sistémica en pacientes con diversas formas de periodontitis (O'Brien-Simpson y cols. 2000). Algunos estudios en animales de experimentación indicaron la capacidad de inducción de enfermedad (Nociti y cols. 2001). *P. gingivalis* tiene la capacidad de invasión de las células epiteliales *in vivo* (Rudney y cols. 2001) aparentemente a través de fimbrias (Nakagawa y cols. 2006), que juntamente con la endotoxina constituyen dos de los factores de virulencia descritos en la literatura.

Tannerella forsythia

T. forsythia es un miembro del género *Tannerella* perteneciente a la familia Citofagobacteroides, inicialmente designado como *Bacteroides forsythus* y posteriormente reclasificado por Sakamoto y cols. (Sakamoto y cols. 2002). Es un bacilo gram-negativo, anaerobio, asacrolítico, fusiforme, pleomórfico, difícil de cultivar (Haffajee y cols. 1994). *T. forsythia* está asociada a diferentes formas de enfermedad periodontal, incluyendo gingivitis, periodontitis crónica y agresiva (Tanner y cols. 2006); ha sido localizada con mayor frecuencia y en mayores cantidades en lesiones periodontales activas que demuestran progresión de pérdida de inserción (Dzink y cols. 1988). Por otro lado, se han encontrado en mayores concentraciones en zonas con evolución de destrucción después del tratamiento periodontal y es la especie detectada con mayor frecuencia en casos que no responden al tratamiento (Listgarten y cols. 1993).

T. forsythia tiene la capacidad de inducir una respuesta inmunológica en el huésped así como causar reabsorción ósea en animales de experimentación. El potencial patogénico de *T. forsythia* parece necesitar de sinergia con otras bacterias como *P. gingivalis* y *F. nucleatum* (Kesavalu y cols. 2007). A pesar del reconocimiento del papel de la bacteria en la patogénesis de la periodontitis y del conocimiento de varios factores de virulencia, como proteasas y sialinidasas, las dificultades en cultivar y manipular con técnicas de biología molecular, mantienen *T. forsythia* como la bacteria del complejo rojo de Socransky menos estudiada (Sharma 2010).

Prevotella intermedia

P. intermedia pertenece al género *Prevotella* del grupo de los *Bacteroides melaninogenicus*. Es un bacilo corto, filamentoso, no móvil, gram-negativo, anaerobio estricto, sacarolítico (Haffajee y cols. 1994). Los niveles de *P. intermedia* están particularmente elevados en la gingivitis necrosante (Loesche y cols. 1982), en ciertas formas de periodontitis (Boutaga y cols. 2006) y en localizaciones que demuestran progresión en pacientes con periodontitis crónica (Lopez 2000). La disminución de la especie en localizaciones tratadas con éxito, a través de tratamiento mecánico asociado a antibiótico sistémico, resulta en mejoría clínica (Rooney y cols. 2002). Se ha descubierto una elevación de anticuerpos séricos frente a *P. intermedia* en algunos pacientes con periodontitis refractaria. Además, está descrita la capacidad de inducción de infecciones mixtas en animales de experimentación (Haffajee y cols. 1994). *P. intermedia* presenta una serie de factores de virulencia capaces de inducir y aumentar la liberación de metaloproteínasas (MMP-8 y MMP-9) en bolsas periodontales (Soder y cols. 2006).

Campylobacter rectus

C. rectus es un miembro del género *Campylobacter* perteneciente a la familia *Pasteurellaceae*. Es un bacilo corto, gram-negativo, anaerobio (Haffajee y cols. 1994). *C. rectus* está presente en mayores cantidades en zonas enfermas comparadas con zonas sanas (Dogan y cols. 2003) y fue encontrado en mayor cantidad y con mayor frecuencia en zonas que presentaban una destrucción periodontal activa (Rams y cols. 1993). Además, *C. rectus* fue encontrado menos frecuentemente y en cantidades menores después del tratamiento periodontal (Colombo y cols. 2005). También fue detectado en combinación con otros patógenos potenciales en sujetos con periodontitis que no responde al tratamiento (Haffajee y cols. 1988). Como *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus* produce una leucotoxina. Son las dos únicas especies bucales conocidas que tienen esta característica (Gillespie y cols. 1992). Adicionalmente, como factor de virulencia, presenta una capa superficial, designada como *S-layer*, que beneficia la supervivencia de la bacteria, al favorecer la resistencia frente a las defensas del huésped (Wang y cols. 2000).

Parvimonas micra

P. micra es un pequeño coco gram-positivo, anaerobio, asacarolítico. Esta especie, anteriormente denominada *Micromonas micros* (Tindall y cols. 2006) o *Peptostreptococcus micros* ha sido detectada más frecuentemente y en mayor cantidad en zonas de destrucción periodontal en comparación con zonas sanas o con gingivitis (Herrera y cols. 2000) y su número apareció elevado en las localizaciones activas (Dzink y cols. 1988). Asimismo, se ha observado que los niveles y la frecuencia de detección se redujeron en las bolsas periodontales tratadas (Haffajee y cols. 1988). Se han descrito diferentes factores de virulencia de *P. micra* como la presencia de fimbrias que confieren capacidad de adhesión a las células epiteliales (Kremer y cols. 2000) y la producción de proteasas (Grenier y cols. 2006).

Fusobacterium nucleatum

F. nucleatum es un miembro del género *Fusobacterium* perteneciente a la familia *Bacteroidaceae*. Es un bacilo pequeño con forma de huso, no móvil, gram-negativo, anaerobio estricto, asacarolítico que desempeña un papel fundamental en el crecimiento de la flora bacteriana (Haffajee y cols. 1994).

F. nucleatum constituye una de las especies encontradas con mayor frecuencia en cultivos de placa bacteriana subgingival, llegando aproximadamente al 7-10% de la flora total en diferentes situaciones clínicas (Moore y cols. 1994). *F. nucleatum* es muy prevalente en pacientes con periodontitis (Boutaga y cols. 2006) y en abscesos periodontales (Herrera y cols. 2000) y disminuye tras el tratamiento periodontal (Van der Velden y cols. 2003). Probablemente, el papel principal del *F. nucleatum* es facilitar la co-agregación entre especies del ecosistema subgingival; sin embargo, han sido descritos diferentes factores de virulencia como la presencia de lipopolisacárido (LPS) (Onoue y cols. 2003), la capacidad de inducción de apoptosis de células polimorfonucleares y la estimulación de leucocitos a liberar citoquinas, elastasas y radicales libres (Sheikhi y cols. 2000).

A.II.1.6 MECANISMOS DE PATOGENECIDAD DE LOS PATÓGENOS PERIODONTALES

Para que una especie bacteriana pueda ser considerada como patógeno periodontal tiene que disponer de dos capacidades principales: colonizar el área subgingival y producir factores que, directamente, dañen los tejidos del huésped o, indirectamente, conduzcan a la lesión de los tejidos del huésped. A su vez, para que el supuesto patógeno pueda colonizar el área subgingival, debe ser capaz de adherirse a una o más superficies disponibles, multiplicarse, competir satisfactoriamente contra otras especies por el mismo hábitat e evadir las defensas del huésped.

COLONIZAR EL ÁREA SUBGENGIVAL

a. Adhesión sobre las superficies disponibles

Se han descrito diferentes moléculas de la superficie bacteriana, denominadas adhesinas, que se unen específicamente a receptores en células del huésped o en diferentes superficies, paso fundamental para iniciar una infección (Amano 2010). Algunas de las adhesinas identificadas en las especies subgingivales son fimbrias y proteínas asociadas a las células. Los receptores de las superficies tisulares pueden ser residuos galactosílicos (Murray y cols. 1986), proteínas ricas en prolina o estaterina (Sandberg y cols. 1986) y colágenos tipo I y IV (Gibbons 1989).

Aunque muchas especies se adhieran directamente a las superficies del huésped, otras especies se adhieren sobre bacterias previamente adheridas a otras superficies. Este fenómeno se denomina co-agregación. Se ha demostrado que hay especificidad en la adhesión de una especie a otra y que esta puede ser mediada por componentes celulares de una tercera especie (Kolenbrander y cols. 2006).

b. Multiplicación

La capacidad de multiplicación de una bacteria, una vez alcanzado el nicho, está determinada por una serie de factores como las condiciones ambientales muy restrictivas y la disponibilidad de nutrientes. Las condiciones de temperatura, pH y potencial oxidoreductor son específicas en el ambiente subgingival, eliminando microorganismos potencialmente colonizadores. Asimismo, la disponibilidad de nutrientes es limitada. Las tres fuentes de nutrientes para los microorganismos subgingivales son la dieta, el

huésped y otras bacterias ya que el fluido crevicular no es particularmente rico en nutrientes. La multiplicación de las células bacterianas previamente adheridas, contribuye a la formación de una estructura organizada, tolerante a los factores ambientales y resistente a agentes antimicrobianos, la placa madura (Marsh y cols. 2011).

c. Competición

Las interacciones entre las bacterias desempeñan un papel importante en la supervivencia de las especies. Algunas relaciones entre las especies son favorables, puesto que una especie aporta los factores de crecimiento para otra o facilita la adhesión. Por ejemplo, la supervivencia de algunas especies anaeróbicas puede estar relacionada con la presencia de especies aeróbicas estrictas o facultativas que utilizan el oxígeno, disminuyendo la liberación de radicales potencialmente nocivos (Socransky y cols. 2005). Otras interacciones entre bacterias son desfavorables debido a la competencia por nutrientes y sitios de unión o a la producción de sustancias que limitan o impiden el crecimiento de una segunda especie. Por ejemplo, la producción de bacteriocinas con capacidad de eliminar especies antagonistas (Stevens y cols. 1987).

d. Evasión de las defensas del huésped

Una especie bacteriana debe superar varios obstáculos del huésped para colonizar una localización subgingival. Los constituyentes de la saliva y del fluido crevicular gingival como anticuerpos, glicoproteínas y mucinas pueden bloquear la adhesión de células bacterianas a distintas superficies. La descamación de las células epiteliales es un importante mecanismo de "limpieza", que es superado por la capacidad de ciertas especies de unirse a estratos más profundos (Freter y cols. 1983). Además, algunas especies subgingivales han desarrollado mecanismos para evadir el efecto de anticuerpos específicos; *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *C. rectus* liberan proteasas con capacidad de eliminar los anticuerpos (Grenier y cols. 1989). Otras especies como *A. actinomycetemcomitans* han creado estrategias para inhibir la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares (Baehni y cols. 1979) y eliminar linfocitos T y B, a través de la producción de leucotoxina (Simpson y cols. 1988).

PRODUCIR FACTORES QUE DAÑEN LOS TEJIDOS DEL HUÉSPED

Se han propuesto dos mecanismos para explicar la capacidad de las especies bacterianas de provocar lesión en los tejidos periodontales: el primero se refiere a la

posibilidad de invasión de las células epiteliales subgingivales, probablemente a través de fimbrias, como fue comprobado para *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia* (Vitkov y cols. 2005); el segundo sugiere una acción a distancia perpetrada por fragmentos de células y factores de virulencia que penetran en los tejidos periodontales subyacentes causando daño directo o desencadenando una respuesta inmune.

La posibilidad de invasión tisular ganó credibilidad por la demostración inequívoca de la penetración de espiroquetas en casos de gingivitis necrosante (Listgarten 1965). Además, se ha demostrado la capacidad del *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* para penetrar en células epiteliales en situaciones de periodontitis avanzada y en lesiones activas (Saglie y cols. 1988).

Por otro lado, las sustancias microbianas que originan lesiones tisulares pueden dividirse en tres categorías: sustancias que dañan las células del huésped (por ejemplo, H₂S), sustancias que inducen las células a liberar sustancias biológicamente activas (por ejemplo, LPS) y sustancias que afectan la matriz intercelular (por ejemplo, colagenasa). Además, algunos factores inducen, a través del desencadenamiento de una reacción inmune patológica, una activación en cascada que conduce a la destrucción de los propios tejidos del huésped. La activación de citoquinas, liberadas por las propias células de defensa, estimula numerosas células del huésped, que a su vez, producen enzimas y otros elementos relacionados con la destrucción tisular (Uchida y cols. 2001).

A.II.2 PAPEL DE LA RESPUESTA DEL HUÉSPED

La respuesta del huésped a los microorganismos de la placa bacteriana y sus productos implica una serie de procesos inflamatorios e inmunes en los tejidos periodontales que constituyen los cambios patológicos predominantes de la gingivitis y la periodontitis. La patogénesis de la destrucción periodontal supone la activación secuencial de diversos componentes de la respuesta del huésped, que se dirigen en primer lugar a la defensa de los tejidos ante la agresión bacteriana por lo que desempeñan un papel protector fundamental; pero además funcionan como mediadores de la destrucción observada (Offenbacher 1996). Los mecanismos de defensa están relacionados entre sí y representan la respuesta del huésped ante una agresión (Kornman y cols. 1997).

A.II.2.1 MECANISMOS BÁSICOS

Las reacciones del huésped a la presencia de microorganismos puede ser subdividida en términos generales en respuesta innata o inespecífica y adaptativa o específica.

La respuesta inmune innata constituye la línea de defensa inicial, que reacciona de forma rápida y repetida a los agentes patógenos. Está constituida por las barreras físicas de las superficies epiteliales y mucosas y los aspectos vascular y celular de las respuestas inflamatorias. En los últimos años, la identificación de los receptores responsables por el reconocimiento y estimulación de la respuesta innata, receptores *toll-like*, ha permitido clarificar el proceso inflamatorio (Akira 2001, Takeuchi y cols. 2001). Los receptores son expresados, predominantemente, por las células responsables por la primera línea de defensa como neutrófilos, monocitos/macrófagos, células dendríticas y epiteliales. La susceptibilidad a la enfermedad periodontal parece estar relacionada con las variaciones en los receptores *toll-like* que originan diferentes respuestas a la presencia de bacterias, con el nivel de producción de péptidos antimicrobianos y con la liberación de citoquinas (Kinane y cols. 2007). La respuesta inmune adaptativa tiende a ser más eficaz y corresponde a la respuesta inmunológica (celular y humoral) específica que se basa fundamentalmente en la interacción antígeno-anticuerpo.

En salud, la encía responde al desafío microbiano con una serie de factores que actúan al mismo tiempo para reducir la carga bacteriana y prevenir una respuesta excesiva de los sistemas de defensa. Estos factores defensivos son: a) la descamación regular de las células epiteliales; b) la barrera epitelial intacta; c) el efecto perjudicial del complemento; d) la función fagocitaria de los neutrófilos y macrófagos; e) el efecto antimicrobiano de los anticuerpos; y f) el flujo positivo del fluido crevicular gingival que puede eliminar los microorganismos y sus productos.

a) La función primordial del epitelio gingival es proteger las estructuras profundas y permitir un intercambio selectivo con el medio bucal, mediante la proliferación y diferenciación del queratinocito, el principal tipo celular del epitelio gingival. La diferenciación incluye un proceso de queratinización, que consiste en una secuencia de eventos bioquímicos y morfológicos registrados en la célula a medida que migra desde la capa basal. El *turn-over* constante de las células permite la descamación de la capa superficial del epitelio, constituyendo un medio de defensa temprano y regular frente a la colonización bacteriana (Kornman y cols. 1997).

b) La barrera epitelial intacta de los epitelios sulcular y de unión previene, normalmente, la invasión bacteriana de los tejidos periodontales y constituye un mecanismo de defensa eficaz, frente a las bacterias de la placa bacteriana y sus productos; sin embargo, la capacidad de defensa externa del sistema se sobrepasa, en algunas ocasiones, por la capacidad intrínseca de algunos microorganismos. La localización de la infección y el tipo de patógeno determina si la respuesta inmune es eficaz. Así, el mantenimiento de una barrera epitelial intacta depende de interacciones complejas entre los microorganismos que colonizan el área supragingival y subgingival y los queratinocitos del epitelio gingival (Kornman y cols. 1997).

c) La cascada del complemento incluye 30 proteínas plasmáticas con múltiples efectos biológicos en la fase inicial y tardía de la respuesta inflamatoria e inmunológica (Hajishengallis y cols. 2013). El complemento ejerce sus efectos biológicos primarios sobre las membranas celulares, causando lisis y favoreciendo la fagocitosis. Además, estimula la liberación de histamina a partir de mastocitos, que incrementa la permeabilidad de los vasos sanguíneos, la migración de neutrófilos polimorfonucleares y la actividad quimiotáctica y fagocítica de los leucocitos. La presencia de bacterias en el surco gingival es capaz de activar este sistema, bien por la vía clásica o por la alternativa. En los pacientes con periodontitis, se pueden encontrar niveles elevados de productos del complemento en el fluido crevicular, aunque esto no ocurre en el suero, lo que sugiere una activación local del complemento en las lesiones periodontales. La activación del C3 varía con la severidad de la inflamación periodontal, pudiendo ayudar a la diferenciación de las distintas formas de periodontitis (Genco 1992). Además, algunas bacterias poseen una actividad proteolítica en su superficie celular; esta actividad es capaz de degradar componentes del sistema del complemento, como C3 y C5, evitando así la opsonización (Hart y cols. 1994).

d) Los neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares (PMN), son el principal tipo celular presente en el surco gingival, formando la primera línea de defensa contra las bacterias patogénicas periodontales (Nussbaum y cols. 2011). Los PMN aparecen en todas las lesiones inflamatorias, particularmente las más agudas, donde se concentran en los sitios de lesión, atraídos químicamente (quimiotaxis); se adhieren a la superficie del endotelio vascular (marginación) y migran a través del mismo (diapédesis) hacia el epitelio de unión y el surco gingival. Como en otros tejidos, esta migración de PMN desde los vasos es

controlada por la expresión de moléculas de adhesión tanto en el endotelio, como en las células (Dennison y cols. 1997).

En el surco gingival, los PMN reconocen moléculas adheridas a la superficie bacteriana (opsoninas – IgG, C3b) y, por invaginación de la membrana plasmática, rodean y eliminan las bacterias, liberando el contenido de sus gránulos (fagocitosis); sin embargo, algunas bacterias patógenas periodontales, como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* son capaces de evadir a los PMN, provocando un flujo continuo de estos fagocitos hacia el espacio crevicular gingival (Travis y cols. 1994). La importancia de los PMN en las enfermedades periodontales, puede ilustrarse en deficiencias cuantitativas y cualitativas de estas células, bien sean innatas (neutropenia cíclica, síndrome de Chédiak-Higashi) o inducidas por drogas (fenilbutazona, penicilina) que están asociadas con una marcada destrucción de los tejidos periodontales. Además, la identificación de defectos en la función de los PMN en varias formas de periodontitis, fundamenta el hecho de que la función normal de los PMN representa un componente esencial a la resistencia del huésped a la destrucción periodontal (Hart y cols. 1994); sin embargo, pueden también ser los responsables de la lesión en los tejidos. Los PMN persistentes en situaciones de gingivitis establecida pueden causar daño de tal forma que crean condiciones para el crecimiento y invasión de los tejidos por especies como *P. gingivalis*, conduciendo la transición entre gingivitis y periodontitis (Nathan 2006).

Los macrófagos derivan de una célula precursora pluripotencial hematopoiética. De esta derivan una serie de elementos de la sangre; solamente algunos sufren transformación celular, como el monocito en macrófago, en los tejidos. Los macrófagos intervienen en todas las etapas de la respuesta inmune. Son células efectoras, responsables del reconocimiento y presentación de los antígenos, y del inicio de la respuesta adaptativa con la secreción de una variedad de citoquinas implicadas en la activación de los linfocitos (Takeda y cols. 2003). La capacidad fagocítica de los macrófagos depende de la interacción con otros leucocitos y con el sistema del complemento. El LPS bacteriano induce la diferenciación en macrófagos activados con capacidad de adhesión y eliminación de antígenos. El microorganismo fagocitado por el macrófago puede ser eliminado a través de varios mecanismos: generación de radicales de oxígeno tóxicos; producción de óxido nítrico, bloqueando enzimas importantes y la división celular y generación de energía; reducción del pH en los lisosomas y degradación de la pared bacteriana por acción de la lisozima (Henneke y cols. 2001).

e) El huésped reacciona ante las bacterias y sus productos mediante la producción de anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig) por las células plasmáticas. Se ha descrito la composición celular de la respuesta del huésped en las lesiones de periodontitis y se observó que las células plasmáticas son el tipo celular más abundante, correspondiendo a 50% del total de células de defensa (Akira y cols. 2001). Los anticuerpos son los efectores de la inmunidad humoral. En general, la formación del complejo antígeno-anticuerpo permite la activación del sistema del complemento, la estimulación del proceso de fagocitosis por los PMN, la estimulación aumentada de linfocitos, la neutralización de alérgenos bacterianos, toxinas o enzimas y una mayor opsonización o lisis de las bacterias de la placa bacteriana.

En la periodontitis, existen anticuerpos en el fluido crevicular gingival contra las bacterias patogénicas periodontales. Wheeler y cols. han demostrado que existe una fuerte relación entre la severidad de la periodontitis y la cantidad de anticuerpos, pudiendo los títulos de éstos reflejar con más exactitud dicha severidad que el nivel de microorganismos presente (Wheeler y cols. 1994). Ebersole y cols. indujeron periodontitis en monos obteniendo una respuesta sérica de IgG y IgM elevada proporcional al aumento del número de microorganismo, apoyando la teoría que la respuesta de anticuerpos del huésped frente a las bacterias patógenas periodontales es generalmente protectora (Ebersole y cols. 1991).

En comparación a la sangre periférica, el tejido gingival presenta una elevada densidad de células plasmáticas que producen inmunoglobulinas específicas frente a los antígenos de la placa bacteriana. Existen diferencias en cuanto al tipo de inmunoglobulina predominante debido a la naturaleza química de los antígenos. Los antígenos proteicos provocan una respuesta predominantemente IgG1 y IgG4, mientras que antígenos hidrocarbonados corresponden a una respuesta IgG2. Lu y cols. han encontrado, en pacientes con periodontitis juvenil localizada, niveles de IgG2 total y de anticuerpos específicos para el *A. actinomycetemcomitans* elevados (Lu y cols. 1993), mientras Wilton y cols. relacionaron títulos de IgG2 totales elevados en pacientes con periodontitis crónica (Wilton y cols. 1992).

Si el eje PMN/anticuerpos no es eficaz, la enfermedad periodontal progresa, con aumento de la inflamación y destrucción de los tejidos periodontales.

f) El fluido crevicular gingival (FCG) está presente en el surco gingival; en situaciones de salud es un trasudado del fluido intersticial del tejido gingival, pero en situaciones de

inflamación puede ser considerado un verdadero exudado inflamatorio (Alayan y cols. 2007). El FCG está constituido por una serie de moléculas de diferente origen, bien sea de los vasos sanguíneos, de los tejidos del huésped o de la placa bacteriana subgingival. Incluye electrolitos, moléculas orgánicas, proteínas, citoquinas, anticuerpos específicos, antígenos bacterianos y enzimas del huésped y de origen bacteriano (Gemmell y cols. 2007). El flujo del FCG varía en situaciones de salud y de enfermedad. En salud, el trasudado liberado por los vasos sanguíneos es prácticamente reabsorbido, por lo que el flujo de FCG es mínimo (Van Dyke 2007). Con el acúmulo de placa bacteriana y la reacción inflamatoria subsecuente, la permeabilidad vascular aumenta y se incrementa el flujo de FCG, de manera que su medición puede ser utilizada como medio de evaluación de la inflamación gingival. El *turn-over* del FCG es mayor en las bolsas periodontales en comparación con surcos poco profundos (Preshaw y cols. 2011). El FCG puede ser considerado una de las líneas de defensa temprana del huésped frente a la invasión bacteriana por dos razones principales. En primer lugar, por su acción de limpieza del surco gingival a través de un flujo continuo de exudado o trasudado gingival (Gemmell y cols. 2007). Además, el FCG presenta en su constitución, elementos de defensa humoral y celular, como inmunoglobulinas y PMN que contribuyen para la homeostasis del medio y defensa ante la agresión bacteriana (Hughes 1995).

A.II.2.2 MECANISMOS ESPECÍFICOS

La especificidad de la respuesta inmunitaria se basa en la interacción de las respuestas inmunes humoral y celular. La respuesta inmune humoral específica, es decir, los anticuerpos dirigidos contra un determinado microorganismo, desempeña un papel fundamental no sólo en la fagocitosis sino también la activación de los procesos de defensa más tardíos. La respuesta inmune celular específica, coordinada por los linfocitos, es responsable de un patógeno concreto; además colonizaciones sucesivas del mismo patógeno conducen a respuestas más eficaces.

Los linfocitos derivan de células primordiales de la médula ósea. Los linfocitos T se desarrollan en el timo y desempeñan diversas funciones: las células T cooperadoras (*T-helper*) interaccionan con las células B favoreciendo su división, diferenciación y elaboración de anticuerpos; las células T citotóxicas interaccionan con los fagocitos mononucleares ayudando a destruir los agentes patógenos a través de sus mediadores

(citoquinas); las células T *natural killer* (NT) son responsables de la destrucción de las células del huésped que han sido infectadas por virus o otros agentes intracelulares.

Generalmente, la respuesta inmune celular se inicia cuando el antígeno de la placa subgingival penetra en el tejido conectivo atravesando el epitelio de unión. Células presentadoras de antígeno, como las de Langerhans en el epitelio, presentan el antígeno, lo procesan y lo alteran de forma que sea reconocible por el sistema inmunitario, es decir, un péptido antigénico se une al complejo principal de histocompatibilidad (CMH). El linfocito *T helper* (CD4+) reconoce esta asociación del antígeno extraño y del propio CMH y se estimula, prolifera y libera citoquinas. Las citoquinas a su vez actúan sobre otras células, es decir, macrófagos, linfocitos B y otros linfocitos T produciendo daños tisulares, inflamación y reabsorción ósea (Houry-Haddad y cols. 2007).

Estudios de gingivitis experimental intentaron dilucidar el papel de los linfocitos en la reacción inflamatoria; las biopsias de tejido gingival sano contienen células inflamatorias, principalmente linfocitos T con pocos linfocitos B o plasmocitos. Tras 4-8 días de acumulación de placa bacteriana se produce un flujo de linfocitos hacia el tejido; después de tres semanas de acumulación, la lesión está dominada por linfocitos. En lesiones avanzadas, donde es evidente la pérdida de hueso, el infiltrado de tejido conectivo presenta el predominio de plasmocitos. La cantidad de plasmocitos parece aumentar con la gravedad de la lesión (Seymour y cols. 1988). Seymour y cols. observaron, en pacientes con periodontitis crónica, que la proporción de células B en sitios con actividad puede ser hasta el 90%, mientras que la densidad de células T en las lesiones periodontales activas parece ser muy similar a las registradas en salud.(Seymour y cols. 1979).

Los mecanismos básicos y específicos de respuesta inmunitaria ante la presencia de microorganismos de la placa bacteriana no son independientes, ya que los fagocitos y linfocitos interaccionan en todo el momento; sin embargo, la regulación de la respuesta inmune adaptativa y la regulación de la respuesta inmune innata es, en gran parte, responsabilidad de los linfocitos T (Van Dyke 2007). Está aceptado que ciertas respuestas mediadas por las células T son destructivas y están asociadas a destrucción periodontal; sin embargo, no hay consenso en cuál de las respuestas está asociada a curación y cuál se asocia a progresión de la enfermedad. Gemmel y cols. defendieron que la respuesta *T helper* tipo 1 es protectora mientras que el dominio por la respuesta *T helper* tipo 2 induce la progresión de la lesión (Gemmel y cols. 2007). Por otra parte,

Houri-Haddad y cols. consideraron la hipótesis contraria sugiriendo que la respuesta *T helper* tipo 2 favorece la estabilidad de la lesión periodontal (Houri-Haddad y cols. 2007).

Parece cierto que es la persistencia del proceso inflamatorio el factor determinante para la susceptibilidad a la periodontitis (Van Dyke 2007).

A.II.2.3 MEDIADORES INFLAMATORIOS

La respuesta inflamatoria en los tejidos periodontales está caracterizada por la infiltración de células dendríticas, neutrófilos, macrófagos y linfocitos y por la generación de concentraciones elevadas de mediadores inflamatorios como citoquinas y metaloproteinasas (MMP). Preshaw y cols. han publicado, recientemente, una revisión detallada de la formación, fuentes celulares, receptores, mecanismos de señalización y control y función de las diferentes citoquinas con un papel relevante en la patogénesis de la enfermedad periodontal (Preshaw y cols. 2011). Las citoquinas son proteínas solubles, secretadas por células, que regulan el proceso inflamatorio y la cicatrización. Inducen su expresión por vía autocrina o paracrina y tienen efectos pleiotrópicos en diferentes tipos de células. Desempeñan numerosas acciones, como la iniciación y el mantenimiento de las respuestas inmunitaria e inflamatoria y la regulación del desarrollo y la diferenciación de células (Hughes 1995). El balance entre la actividad pro-inflamatoria y anti-inflamatoria de las citoquinas, fue reconocido como fundamental para mantener la homeostasis. Howells sugirió que la destrucción periodontal puede estar relacionada con la desregulación de los inhibidores de determinadas citoquinas en oposición a su sobreproducción (Howells 1995).

Las acciones de las citoquinas pro-inflamatorias inducen los signos inflamatorios consecuentes de la respuesta innata. El reconocimiento de los LPS y otras moléculas bacterianas por los receptores *toll-like* resulta en la activación de células de defensa productoras de citoquinas. Algunas bacterias invaden y colonizan los tejidos, estimulando la secreción de citoquinas y activación de moléculas de adhesión por las células epiteliales (Swamy y cols. 2010). Los fibroblastos también aumentan la liberación de citoquinas, amplificando la inflamación (Bartold y cols. 2006). Las citoquinas desempeñan también un papel crucial en la inmunidad adaptativa; son fundamentales en la función y diferenciación de las células T (Korn y cols. 2009) y en el desarrollo y actividad de las células B (Goodnow y cols. 2010). El conocimiento actual permite concluir que las citoquinas interactúan funcionalmente a través de redes complejas en el periodonto con

capacidad de integrar los componentes celulares y moleculares de las respuestas inmunológicas innata y adaptativa (Preshaw y cols. 2011).

La descripción detallada de las citoquinas con papel fundamental en la patogénesis de la periodontitis está centrada, principalmente, en la interleucina-1 por su relevancia en la metodología de este trabajo de investigación.

Interleucina-1 (IL-1)

La interleucina-1 fue descubierta por Gery y cols., en 1972 y descrita en base a sus efectos biológicos, como factor activador de linfocitos (Gery y cols. 1972). Dewhirst y cols., en 1985 aislaron, purificaron y secuenciaron el factor de activación de los osteoclastos (OAF) y atribuyeron esta actividad biológica a la IL-1 (Dewhirst y cols. 1985). Pertenece a una familia de citoquinas agrupadas en el cromosoma 2 (Dinarello 2009). Existen dos formas de IL-1, IL-1 α y IL-1 β , que presentan 48% de homología estructural y comparten una serie de actividades biológicas. En los tejidos periodontales, la IL-1 β es secretada en elevadas cantidades, principalmente, por macrófagos y células dendríticas; los fibroblastos, células del ligamento periodontal y osteoblastos también tienen la capacidad de secretar IL-1 β .

Boch y cols., revisaron la relevancia de la IL-1 en la patogénesis de la periodontitis (Boch y cols. 2001). La IL-1 actúa localmente aumentando la expresión de moléculas de adhesión en los fibroblastos, células endoteliales y células de la respuesta inmune (linfocitos, neutrófilos y monocitos), permitiendo la fijación y posterior migración por la pared endotelial de los vasos. En la bolsa periodontal, los queratinocitos activados y las células de Langerhans epiteliales, secretan IL-1 α y IL-1 β ; los macrófagos de los tejidos periodontales inflamados producen básicamente IL-1 β ; los LPS bacterianos constituyen un estímulo potente para la secreción de IL-1 (Ishihara y cols. 1997). Las IL-1 α y IL-1 β son potentes activadores del catabolismo del tejido conjuntivo y de la reabsorción ósea induciendo la liberación de elevadas cantidades de prostaglandina-E2 (PGE2) y la secreción de metaloproteinasas de la matriz (MMP) por fibroblastos y monocitos (Birkedal-Hansen 1993). La IL-1 aumenta la expresión de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad para la presentación de antígenos y activación de las células T y B, conduciendo a la secreción de anticuerpos (Seymour y cols. 1993).

La actividad de la IL-1 es inhibida y controlada por la liberación de una proteína de inhibición específica (IL-1 RA) que funciona como antagonista del receptor de IL-1. La síntesis de IL-1 RA puede iniciarse por citoquinas antiinflamatorias, tales como IL-4 y IL-10. Se ha sugerido que la cantidad de IL-1 α y β y de IL-1 RA en el fluido crevicular gingival (FCG), está íntimamente relacionada con la severidad de la periodontitis (Ishihara y cols. 1997).

La IL-1 β es la citoquina más estudiada en la literatura periodontal. Su papel preponderante en la patogénesis de la periodontitis está comprobado; es detectada en niveles elevados en biopsias del tejido gingival y en el FCG de pacientes con periodontitis y su concentración disminuye después de realizado el tratamiento periodontal (Preshaw y cols. 2011).

A.III. FACTORES DE RIESGO

Un factor de riesgo se puede definir como una condición, local o sistémica, que aumenta la probabilidad de desarrollo o progresión de una enfermedad. Su identificación permite establecer medidas preventivas y definir el pronóstico. Algunos de los factores de riesgo para la periodontitis descritos en la literatura son modificables o comportamentales, como la presencia una microbiota específica, tabaco, diabetes mellitus, obesidad, osteoporosis y estrés fisiológico. Otros factores son no modificables, como la edad y la predisposición genética (Slots 2013).

Los criterios que permiten definir una relación causal son particularmente complejos. Bradford-Hill, formuló un conjunto de criterios que deben ser cumplidos para que un determinado factor sea considerado factor de riesgo de una enfermedad. Estos criterios incluyen: a) fuerza de asociación, cuanto mayor la asociación entre un posible factor de riesgo y la enfermedad, más probable es la validez de la relación de causalidad; b) efecto dosis-respuesta, la frecuencia de enfermedad aumenta con la dosis o nivel de exposición al supuesto factor de riesgo; c) consistencia temporal, la exposición al posible factor de riesgo ocurre antes del inicio de la enfermedad; d) consistencia de datos, los diferentes trabajos de investigación relativos a una relación causal específica deben generar resultados similares; e) plausibilidad biológica, es importante que una posible relación causal tenga fundamento en el conocimiento actual; f) especificidad de asociación, si un posible factor de riesgo se asocia a una única enfermedad, la relación causal estará

reforzada, sin embargo, es fundamental recordar que la mayoría de las enfermedades tienen múltiples causas (Hill 1965).

A.III.1 FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES O COMPORTAMENTALES

A.III.1.1 PRESENCIA DE MICROBIOTA ESPECÍFICA

Durante las últimas décadas, se han estudiado el papel y prevalencia de los patógenos periodontales definidos en el *Workshop in Periodontics*, 1996 con mayor fuerza de evidencia: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia*, en situaciones de salud y enfermedad periodontal.

La utilización de técnicas de biología molecular permitió identificar la presencia de las tres bacterias en jóvenes y adultos con salud periodontal (Kononen 1993, Kamma y cols. 2000). Estudios epidemiológicos demostraron una relación positiva entre la presencia de los patógenos periodontales con la situación periodontal (Timmerman y cols. 1998, Papapanou y cols. 2000); sin embargo, la prevalencia y nivel de colonización varió entre las distintas poblaciones evaluadas (Sanz y cols. 2000). La asociación entre niveles elevados de patógenos específicos y la progresión de la enfermedad periodontal fue corroborada en estudios longitudinales de poblaciones no tratadas. Los estudios de Timmerman y cols. (2000) y de Van der Velden y cols. (2006) han demostrado, en una población de adolescentes, tras 7 y 15 años de seguimiento, respectivamente, una asociación entre la presencia de *A. actinomycetemcomitans* y la progresión de la periodontitis, definida como una pérdida de inserción ≥ 2 mm (Timmerman y cols. 2001, Van der Velden y cols. 2006). Hamlet y cols. (2004) presentaron un *odds ratio* (OR) de 8,2 respecto a pérdida de inserción, en un estudio con 3 años de evaluación de adolescentes con colonización persistente por *T. forsythia* (Hamlet y cols. 2004).

A.III.1.2 TABACO

El tabaco es considerado como el principal factor de riesgo de la periodontitis (Johannsen y cols. 2014). Heasman y cols. (2006) revisaron los efectos adversos del tabaco en el periodonto. En resumen, encontraron: a) relación con la presencia de patógenos periodontales específicos (*P. gingivalis*, *T. forsythia* y *Treponema denticola*) asociados a mayor progresión de periodontitis; b) vasoconstricción, con consecuente reducción de los

signos de inflamación; c) alteración de la función fagocitaria de los PMN; d) alteración en la producción de citoquinas pro-inflamatorias; e) aumento de la respuesta de las células T; f) alteración de la cicatrización (Heasman y cols. 2006).

Un meta-análisis publicado por Papapanou (1996), relativo a la asociación entre el tabaco y la periodontitis, presentó resultados de seis estudios con una población total de estudio de 2361 pacientes. Los resultados indicaron un mayor riesgo, estadísticamente y clínicamente significativo, de periodontitis severa en los pacientes fumadores (OR 2,82; intervalo confianza del 95%: 2,36-3,39) (Papapanou 1996). Los estudios longitudinales han demostrado una mayor incidencia y tasa de progresión de la pérdida de inserción clínica y de la pérdida de hueso radiográfica en los pacientes fumadores. Recíprocamente, dejar de fumar tiene efecto benéfico en la incidencia y progresión de la periodontitis (Bergstrom y cols. 2000, Jansson y cols. 2002, Thomson y cols. 2007). Algunos estudios señalaron una relación dosis-respuesta, de manera que en los grandes fumadores se encuentra mayor destrucción periodontal (Grossi y cols. 1994). El tabaco tiene un efecto negativo en el resultado del tratamiento periodontal, no quirúrgico y quirúrgico, incluyendo la regeneración periodontal (Heasman y cols. 2006, Chambrone y cols. 2009, Patel y cols. 2012). Adicionalmente, el tabaco fue identificado como un importante predictor de pérdida de dientes en pacientes tratados, en fase de mantenimiento (Chambrone y cols. 2010).

A.III.1.3 DIABETES MELLITUS

La periodontitis fue considerada la sexta complicación de la diabetes mellitus (DM) (Loe 1993). En la literatura periodontal está publicada evidencia importante que permite considerar la DM un factor de riesgo para la periodontitis por aumentar la prevalencia, severidad, extensión, progresión y, posiblemente, la incidencia de la enfermedad (Genco y cols. 2013). Esta relación está favorecida por el deficiente control glicémico y por la edad de inicio de la diabetes. Mealey (2000) revisó los mecanismos que explican el papel de la DM en la periodontitis. En resumen, el proceso inflamatorio en los tejidos periodontales de los pacientes diabéticos está sobre-regulado: por una parte hay alteraciones en la función de los PMN y monocitos y por otra parte, aumento de liberación de mediadores inflamatorios, como IL-1 β , PGE2 y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) a partir de células activadas por los productos finales de glicosilación (AGE), principales responsables del aumento de la respuesta inflamatoria que contribuye a intensificar la

destrucción periodontal (Mealey 2000). Una revisión sistemática publicada por Chavarry y cols. (2009), referente a la asociación entre la DM y la enfermedad periodontal, presentó resultados de 57 estudios. Los resultados, estadísticamente significativos, indican mayor pérdida de inserción clínica de 1 mm ($p=0,021$; intervalo confianza del 95%: 0,15-1,84) y mayor profundidad de sondaje media de 0,46 mm ($p=0,046$; intervalo confianza del 95%: 0,01-0,91) (Chavarry y cols. 2009). Estudios longitudinales demostraron mayor incidencia y tasa de progresión de la pérdida de inserción clínica y de la pérdida de hueso radiográfica en los pacientes diabéticos con mal control glicémico (Nelson y cols. 1990, Taylor y cols. 1998). Algunos estudios evidenciaron que el tratamiento periodontal puede mejorar el control glicémico en pacientes diabéticos tipo 2 (Janket y cols. 2005); sin embargo, no hay consenso relativo al efecto del tratamiento periodontal en los pacientes diabéticos tipo 1, ni tampoco al potencial beneficio de la terapia coadyuvante con antibióticos locales o sistémicos (Simpson y cols. 2010).

A.III.1.4 OBESIDAD

La relación positiva entre la obesidad, definida como índice de masa corporal ≥ 30 y la periodontitis está demostrada; sin embargo, los mecanismos biológicos subyacentes no están totalmente clarificados (Stabholz y cols. 2010). La revisión sistemática de Suvan y cols. (2011) incluyó 33 estudios; la mayoría demostraron mayor severidad y/o prevalencia de periodontitis en los pacientes con exceso de peso u obesos (OR 2,13; intervalo confianza del 95%: 1,40-3,26) (Suvan y cols. 2011). Resultados similares fueron publicados en la revisión sistemática de Chaffee y cols. (2010); los autores concluyeron, en base a los 57 estudios evaluados, que en los pacientes obesos hay mayor pérdida de inserción clínica (Chaffee y cols. 2010). Algunos estudios señalaron una relación dosis-respuesta entre el riesgo de periodontitis y el aumento de índice de masa corporal (Nishida y cols. 2005). A pesar de la evidencia científica creciente, son necesarios más estudios longitudinales para clarificar la secuencia temporal entre las dos patologías (Genco y cols. 2013).

A.III.1.5 OSTEOPOROSIS

La osteoporosis es una enfermedad sistémica caracterizada por disminución de densidad ósea, incluyendo el maxilar y la mandíbula. La suposición del aumento de riesgo para periodontitis en los pacientes con osteoporosis es basada en la hipótesis de que la baja

densidad ósea aumenta la porosidad alveolar y induce reabsorción ósea más rápida, como respuesta a la presencia de patógenos periodontales; además, los factores involucrados en la remodelación ósea pueden modificar la respuesta inmunológica, a través del aumento de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 (Stabholz y cols. 2010). La revisión sistemática de Martínez-Maestre y cols. (2010) relativa a la asociación entre la osteoporosis y la periodontitis, pérdida de dientes y atrofia mandibular, concluyó que, a pesar de que la mayoría de los 35 estudios seleccionados indicaron una relación positiva entre las dos patologías, la validez era limitada (Martínez-Maestre y cols. 2010). Son necesarios más estudios longitudinales controlados, con definición comparable de los parámetros periodontales y mayor población de estudio para definir si la osteoporosis es, realmente, un factor de riesgo para la periodontitis (Genco y cols. 2013).

A.III.1.6 ESTRÉS FISIOLÓGICO

Los mecanismos que justifican una asociación entre el estrés y la periodontitis son complejos y no están totalmente esclarecidos. La supresión de la respuesta inmunológica inducida por las hormonas liberadas en situaciones de estrés y la alteración del comportamiento, con disminución del adecuado control de placa y aumento del consumo de tabaco, son los mecanismos sugeridos (Genco y cols. 1998). Hilgert y cols. (2006) mostraron una relación entre niveles elevados de cortisol y la extensión y severidad de la periodontitis (Hilgert y cols. 2006). Peruzzo y cols. (2007) publicaron una revisión sistemática basada en 14 estudios y encontraron una relación positiva entre el estrés y la periodontitis en 57,1% de las publicaciones. Los autores concluyeron que, a pesar de las limitaciones del estudio, cuanto mayor era la intensidad del estrés, mayor fue la severidad de la periodontitis (Peruzzo y cols. 2007). Son necesarios más estudios para establecer el papel del estrés en la etiopatogénesis de la periodontitis y confirmar si la modificación del padrón de estrés tiene significado en la progresión y respuesta al tratamiento de la enfermedad (Genco y cols. 2013).

A.III.2 FACTORES DE RIESGO NO MODIFICABLES

A.III.2.1 EDAD

Estudios epidemiológicos demostraron que la prevalencia y severidad de la periodontitis aumentan con la edad (Eke y cols. 2012). Los estudios de Albandar (2002) manifestaron un efecto importante de la edad en la pérdida de inserción; sin embargo, la influencia en la profundidad de sondaje parece ser mínima (Albandar 2002). De acuerdo con Papapanou y cols. (1991), el efecto de la edad está relacionado con la exposición acumulativa a verdaderos factores de riesgo (Papapanou y cols. 1991). Otros autores indican, como mecanismo importante para el efecto de la edad en el periodonto, el aumento de mediadores inflamatorios (Singh y cols. 2011). La dificultad en establecer la edad como un factor de riesgo para la periodontitis está relacionada con la limitación en ajustar otros factores, como presencia de enfermedades sistémicas y medicaciones relevantes.

A.III.2.2 FACTORES GENÉTICOS

El papel de los factores genéticos en la etiopatogénesis de las enfermedades periodontales fue propuesto hace muchos años (Loevy 1976). A pesar de ser esencial, la presencia de bacterias no se relaciona, en algunos casos, con la severidad y progresión de la destrucción periodontal. Offenbacher (1996) propuso que las bacterias influyen, en una proporción de 9% a 16%, en la expresión de la periodontitis, sugiriendo que la susceptibilidad a la periodontitis puede ser modificada por la respuesta del huésped a la presencia de bacterias (Offenbacher 1996). Los resultados de estudios epidemiológicos y longitudinales permitieron identificar individuos con mayor riesgo de desarrollar periodontitis. Adicionalmente fueron publicados, en los últimos años, un número significativo de estudios relacionados con el papel de los genes, o de sus variantes, en la respuesta a la periodontitis. Los polimorfismos genéticos pueden, por un lado, originar alteraciones en la respuesta inmune innata o adaptativa, determinando la progresión de la enfermedad o, por otro lado, contribuir a la protección del periodonto frente la destrucción periodontal.

A.III.2.2.1 SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

La hipótesis de que algunos individuos presentan mayor susceptibilidad a la periodontitis fue determinada en estudios que evaluaron la pérdida de dientes, durante largos períodos de observación. El estudio de Trott y cols. (1966) concluyó que la mayoría de los dientes fueron perdidos en un pequeño grupo de pacientes (Trott y cols. 1966). Los resultados del estudio de Burt y cols. (1990) indicaron que el 22% de los individuos evaluados perdieron el 77% de los dientes tras 28 años de seguimiento (Burt y cols. 1990). Resultados similares fueron descritos en estudios longitudinales que evaluaron el resultado del tratamiento periodontal; el 20% de los pacientes perdieron el 75% del total de dientes perdidos (Hirschfeld y cols. 1978, McFall 1982). El concepto de susceptibilidad a la periodontitis fue confirmado en estudios que evaluaron la progresión de la periodontitis en poblaciones sin cuidados dentales ni control de placa adecuado. Loe y cols. (1986) evaluaron 480 trabajadores de té en Sri Lanka; identificaron tres grupos en función de la destrucción periodontal durante los 15 años de observación: un grupo sin progresión (11% de la población), un grupo con progresión moderada (81% de la población) y un grupo de rápida progresión, con cerca de 9 mm de pérdida de inserción, correspondiente a 8% de la población (Loe y cols. 1986). Recientemente, van der Velden y cols. (2006) evaluaron la incidencia y progresión de la periodontitis en una población de Indonesia, mediante parámetros clínicos y microbiológicos; los resultados permitieron concluir que apenas el 20% de los individuos presentaron una pérdida de inserción severa, mientras que en la mayoría de la población observada, la destrucción periodontal fue mínima o moderada (Van der Velden y cols. 2006).

La evidencia del papel de la genética en la periodontitis fue investigado en estudios que evaluaron familias y gemelos. La mayoría de los estudios publicados en la literatura encontraron la agregación familiar de casos de periodontitis juvenil o periodontitis de inicio precoz, de acuerdo con la clasificación de las enfermedades periodontales propuesta por la Academia Americana de Periodoncia, en 1989.

Marazita y cols. (1994) estudiaron 527 individuos pertenecientes a 100 familias, mayoritariamente afro-americanos; los resultados demostraron una elevada agregación familiar de casos de periodontitis juvenil con transmisión autosómica dominante (Marazita y cols. 1994). Igualmente, Boughman y cols. (1992) evaluaron 77 hermanos de 39 parejas con periodontitis juvenil localizada y generalizada; los autores reportaron cerca de 50% de hermanos con periodontitis juvenil (Boughman y cols. 1992). Rapp y cols. (2011)

demonstraron agregación familiar en tres generaciones de una familia brasileña con periodontitis agresiva generalizada (Rapp y cols. 2011). Meng y cols. (2011) revisaron la utilidad de los métodos de análisis genética en Periodoncia, en particular los estudios que evaluaron familias con periodontitis agresiva. Los autores concluyeron que el notable patrón de agregación familiar encontrado en la mayoría de los estudios publicados, indica que los factores genéticos son importantes en la susceptibilidad a la periodontitis agresiva (Meng y cols. 2011).

Los trabajos concernientes a la relación de la agregación familiar con la periodontitis crónica son menos frecuentes. Shearer y cols. (2011) concluyeron que padres con bajo nivel de salud periodontal tienden a tener descendencia con iguales características; sin embargo el análisis realizado no ha podido distinguir entre factores genéticos y comportamentales (Shearer y cols. 2011). Otras publicaciones, en diferentes poblaciones, relataron una posible relación. van der Velden y cols. estudiaron una población sin atención dental regular y los resultados sugirieron que parece existir una base genética para formas leves de periodontitis (van der Velden y cols. 1993). Estudios epidemiológicos realizados en los Países Bajos que evaluaron parámetros clínicos asociados a destrucción periodontal y prevalencia de bacterias patogénicas periodontales, apuntaron para una agregación familiar de la periodontitis crónica (Van der Velden y cols. 1989, Petit y cols. 1994); sin embargo, ninguno de los autores indicaron la importancia relativa de los factores genéticos y comportamentales que pueden ser relevantes en la etiopatogénesis de la periodontitis en las familias estudiadas.

Los estudios en gemelos constituyen, probablemente, el método más potente para evaluar la relación de los factores genéticos con cualquier enfermedad, incluyendo la periodontitis (Laine y cols. 2012). Michalowicz y cols. (1991) analizaron el diagnóstico periodontal, a través de los parámetros clínicos, pérdida de inserción, profundidad de sondaje, índice de placa y índice gingival, en 110 pares de gemelos adultos (63 monocigóticos y 47 dicigóticos), con una media de edad de 40,3 años; los resultados indicaron que entre 38% a 83% de la variación en los parámetros clínicos puede ser imputada a factores genéticos (Michalowicz y cols. 1991). Estos resultados fueron confirmados en un estudio posterior, realizado con ajuste de variables modificables como el tabaco; aproximadamente el 50% de la variación entre los individuos evaluados fue atribuida a factores genéticos (Michalowicz y cols. 2000).

Con base a los estudios que evaluaron familias y gemelos, puede concluirse que la bacterias son fundamentales para el inicio de la enfermedad; sin embargo los factores genéticos determinan la susceptibilidad a la periodontitis, influyendo en la severidad y progresión de la destrucción periodontal.

A.III.2.2.2 POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Un polimorfismo genético resulta de una mutación en un determinado gen. La mutación más frecuente es la transición, que incluye la sustitución del par guanina-citocina (G-C) por adenina-timina (A-T) o vice-versa. Las variaciones de la secuencia de ácido desoxiribonucleico (ADN) en una localización específica de un cromosoma (*locus*) son denominadas *alelos*; la variación más común en el *locus* polimórfico es designada variación normal (*alelo N*); la variación menos frecuente, que ocurre en >1% de la población, es llamada variación rara (*alelo R*). Cuando diferentes *alelos* de un determinado gen coexisten en una población se denomina polimorfismo genético. Los polimorfismos de un nucleótido (*single nucleotide polymorphism*, SNP) son importantes marcadores genéticos que asocian alteraciones en la secuencia de ADN a alteraciones fenotípicas; son utilizados en la investigación de enfermedades complejas, como la periodontitis (Schork y cols. 2000).

La selección de los genes candidatos es la principal dificultad en la investigación de los polimorfismos genéticos con influencia en la periodontitis. Los genes candidatos fueron clasificados en dos categorías: los que codifican mediadores inflamatorios endógenos y los que codifican componentes estructurales de los tejidos periodontales (Suzuki y cols. 2004). En general, existen tres tipos de genes candidatos: funcionales, posicionales y de expresión. Los genes candidatos funcionales derivan del conocimiento previo de su función en casos de enfermedad, determinada a través de ensayos de asociación; los genes candidatos posicionales son seleccionados de acuerdo con su implicación en una determinada localización a través de análisis de ligamiento genético (*genetic linkage analysis*); los genes candidatos de expresión provienen de diferencias en la expresión de genes estudiada mediante *microarrays* (Zhang y cols. 2011).

El análisis de ligamiento genético se utiliza en el estudio de una serie de enfermedades, como diabetes mellitus; sin embargo, su potencia es reducida para detectar *alelos* con efectos limitados. Los estudios de asociación son frecuentemente utilizados en periodontitis; sin embargo, pueden determinar sólo una parte del riesgo genético ya que

no evalúan genes con funciones desconocidas. El conocimiento del genoma humano, en 2003, ha permitido identificar más de 6 millones de SNPs y desarrollar estudios de asociación de genomas completos (*genome-wide association studies*, GWAS) diseñados para descubrir asociaciones genéticas con determinadas características o con la presencia o ausencia de enfermedad.

En oposición a los estudios que evalúan genes candidatos, permiten analizar el genoma completo y identificar nuevos marcadores genéticos potenciales. El primer GWAS para la periodontitis fue publicado en 2010 (Schaefer y cols. 2010).

La mayoría de la investigación genética en la periodontitis se centra en los polimorfismos genéticos que desempeñan un papel importante en el reconocimiento y eliminación de las bacterias por el sistema inmune, en los procesos de destrucción tisular y en los mecanismos metabólicos involucrados, como citocinas, quimiocinas, receptores de la superficie celular, enzimas y reconocimiento de antígenos (Laine y cols. 2012).

Actualmente, existe poca información relativa a los genes involucrados en la periodontitis, como verdaderos modificadores de la enfermedad; sin embargo, en los últimos años han sido investigados una serie de polimorfismos genéticos como supuestos factores de riesgo para la periodontitis (Loos y cols. 2005). Los polimorfismos más estudiados incluyen: gen IL-1, gen TNF- α , gen IL-4, gen IL-6, gen IL-10, gen vitamina D y gen CD14. Un número significativo de estudios demostró variabilidad en la distribución de los polimorfismos entre diferentes grupos étnicos (Zhang y cols. 2011).

De acuerdo con el propósito de este trabajo de investigación la descripción detallada de los polimorfismos genéticos está centrada en el gen de la IL-1, en particular IL-1 β , con relevancia en la periodontitis crónica.

A.III.2.2.2.1 POLIMORFISMOS GENÉTICOS: POLIMORFISMO INTERLEUCINA-1

Los genes que codifican las proteínas IL-1 α , IL-1 β y IL-RA están localizados, en el clúster del gen IL-1, situado en la posición 2q13-21. Los polimorfismos del gen IL-1 relacionados con periodontitis crónica, descritos en la literatura incluyen: IL-1 α - 889 (desequilibrio de ligamiento con + 4845), IL-1 β - 511 (desequilibrio de ligamiento con - 31), IL-1 β + 3954 (también referenciado en la literatura como + 3953) y IL-1 RN VNTR (número variable *Single Tandem Repeats*, STR, desequilibrio de ligamiento con + 2018).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

La prevalencia del *alelo* R en posición IL-1 α - 889 (+ 4845) descrita en los estudios casos-control varía considerablemente entre los grupos étnicos evaluados. En los estudios que consideran poblaciones de caucasianos oscilaba entre 38% y 72% en los pacientes-casos, y entre 35% y 60% en los controles. López y cols. (2005) evaluaron 330 pacientes con periodontitis y 101 individuos con salud periodontal; no detectaron diferencias significativas entre los grupos en relación a la frecuencia de detección del genotipo IL-1 α - 889 (42,4% y 33,6%, respectivamente) (Lopez y cols. 2005). Wagner y cols. (2007) encontraron resultados similares; en los 194 individuos evaluados divididos en dos grupos, 97 con periodontitis crónica y 97 con salud periodontal, la frecuencia de detección fue 32% y 20%, respectivamente (Kobayashi y cols. 2007, Wagner y cols. 2007). Los estudios en poblaciones asiáticas, registraron porcentajes inferiores, entre 12% y 20% (Kobayashi y cols. 2007, Kobayashi y cols. 2009).

En la actualidad, los pocos estudios publicados relativos al polimorfismo IL-1 β - 511 (- 31) no encontraron asociación con la periodontitis; la prevalencia del polimorfismo parece ser superior en poblaciones asiáticas (67-78%), cuando se comparaba con caucasianos (59%) (Gore y cols. 1998, Tai y cols. 2002, Soga y cols. 2003).

La frecuencia descrita en la literatura del SNP IL-1 β + 3954 (+ 3953) es superior en las poblaciones caucasianas (13-57%) comparadas con los asiáticos (\leq 6%).

Brett y cols. (2005) evaluaron 10 polimorfismos genéticos en 7 genes diferentes en una población de 108 pacientes con periodontitis y 100 individuos con salud periodontal; no detectaron diferencias significativas entre los grupos en relación a la frecuencia del genotipo IL-1 β + 3954 (42% y 41%, respectivamente) (Brett y cols. 2005). Sakellari y cols. (2006) estudiaron la correlación entre 5 polimorfismos genéticos, incluyendo IL-1 β + 3954 y la periodontitis en una población griega; no encontraron diferencias en la distribución de los diferentes genotipos entre los grupos de periodontitis y salud periodontal (Sakellari y cols. 2006). Tervonen y cols. (2007) obtuvieron resultados similares entre pacientes con periodontitis crónica (49%) y sanos (44%) (Tervonen y cols. 2007). Los estudios realizados en Japón, evidenciaron valores de prevalencia del genotipo IL-1 β + 3954 claramente inferiores (Tai y cols. 2002, Soga y cols. 2003).

Un número limitado de estudios han evaluado la frecuencia del polimorfismo del gen IL-1 RN VNTR. Los resultados reportados son contradictorios, varían entre 6% y 50%. Berdeli y cols. (2006), en una población caucasiona, hallaron 45% en pacientes con periodontitis

crónica y 7% en pacientes sanos (Berdeli y cols. 2006). Otros autores no encontraron diferencias significativas en la frecuencia del polimorfismo comparando casos de periodontitis y controles sanos (Brett y cols. 2005).

La presencia de los alelos R IL-1 α -889 y IL-1 β +3954 fue designada como genotipo compuesto para la IL-1 (Kornman y cols. 1997). Numerosos estudios investigaron la frecuencia del genotipo compuesto, en diferentes poblaciones. Las publicaciones relativas a poblaciones caucásicas reportaron valores de prevalencia entre 10% y 46% (Papapanou y cols. 2001, Meisel y cols. 2004, Lopez y cols. 2005). Laine y cols. (2001) evaluaron diferentes polimorfismos del gen IL-1 en 105 pacientes con periodontitis avanzada y 53 controles; reportaron mayor frecuencia del alelo R en los pacientes con periodontitis no fumadores, en los que no fue detectada la presencia de patógenos periodontales exógenos, como *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* (42,1% vs 11,3% en el grupo control) (Laine y cols. 2001). En la revisión sistemática y meta-análisis de (Nikolopoulos y cols. 2008) fue investigada la asociación entre el polimorfismo genético de diferentes citoquinas y la periodontitis agresiva y crónica. Se seleccionaron 13 estudios que evaluaron el efecto del genotipo compuesto IL-1 α -889 (o IL-1 α +4845) y IL-1 β +3954. La mayoría de los estudios estudiaron poblaciones caucásicas (Kornman y cols. 1997, Laine y cols. 2001, Papapanou y cols. 2001, Rogers y cols. 2002, Natri y cols. 2003, Sakellari y cols. 2003, Lopez y cols. 2005, Sakellari y cols. 2006, Tsarev y cols. 2007) y detectaron mayor frecuencia del genotipo positivo en los pacientes con periodontitis, cuando comparados con los pacientes del grupo control (OR: 1.422, 95% intervalo confianza: 0.981,2.061) Por otro lado, en pacientes asiáticos la prevalencia del genotipo compuesto, descrita en la literatura es inferior a 6% (Armitage y cols. 2000, Kobayashi y cols. 2007)

A.IV. PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS

Mientras el papel de las bacterias en la etiología de las enfermedades periodontales es reconocido y primordial, los factores relacionados con el huésped también tienen influencia en el comienzo, en la presentación clínica y en la tasa de progresión de la enfermedad. Esto significa que puede existir una variación considerable entre los individuos en el riesgo de progresión (Heitz-Mayfield 2005). Diversos estudios longitudinales, en poblaciones no tratadas o con tratamiento periodontal realizado, ha

permitido evaluar la variabilidad individual en la progresión de la periodontitis. Loe y cols. (1986) reportaron diferencias claras en una población de trabajadores de té, sin acceso a cuidados de salud dental ni control de placa adecuado, evaluada durante 15 años (Loe y cols. 1986). Igualmente, otros autores demostraron la existencia de subgrupos de pacientes con distinta susceptibilidad a la progresión tras tratamiento (Hirschfeld y cols. 1978, McFall 1982, Lindhe y cols. 1984, Goldman y cols. 1986) .

El objetivo principal del tratamiento periodontal es, precisamente, detener la pérdida de tejidos de soporte y prevenir la progresión de la enfermedad y la pérdida de dientes. Los estudios longitudinales que han evaluado los resultados del tratamiento, concluyeron que es posible lograr ese objetivo, a través de una terapia exhaustiva y citas de mantenimiento periodontal regulares (Knowles y cols. 1979, Axelsson y cols. 1981, Pihlstrom y cols. 1983, Kaldahl y cols. 1996, Rosling y cols. 2001). No obstante, hasta en los grupos de pacientes bien controlados, se han descrito episodios de pérdida de inserción clínica o pérdida de dientes, correspondientes a aproximadamente la cuarta (Lindhe y cols. 1984) o la quinta (Rosling y cols. 2001) parte de la población tratada.

A partir de los años 90, con el reconocimiento de la importancia de los factores relacionados con el huésped, ha cambiado el énfasis en los factores de riesgo de progresión hacia los que se relacionan con el paciente, en contraposición a la evaluación relacionada con el diente o con la localización.

A.IV.1 MODELOS PROPUESTOS PARA DEFINIR LA PROGRESIÓN

La evaluación de la progresión de la periodontitis, determinada a través de la pérdida de inserción clínica, fue investigada por distintos autores, principalmente en los años 1980. Goodson y cols. (1982), a través de análisis de regresión lineal, propusieron un modelo de progresión discontinuo – *random burst* – caracterizado por períodos de remisión y exacerbación, en localizaciones aleatorias (Goodson y cols. 1982). El mismo grupo de investigadores, utilizando el método de tolerancia, propuso un modelo similar – *asynchronous multiple bursts* – caracterizado por brotes repetidos de actividad, en distintas localizaciones, durante un período determinado de tiempo (Haffajee y cols. 1983).

Socransky y cols. (1984) en base en los estudios longitudinales publicados, presentaron la hipótesis de progresión en brotes (Socransky y cols. 1984), aceptada en el *World*

Workshop in Clinical Periodontics (1989). Publicaciones posteriores han cambiado el concepto, apoyando la hipótesis de pérdida de soporte gradual y continua. Badersten y cols. (1985) describieron un padrón de pérdida de inserción gradual utilizando mediciones secuenciales, cada tres meses, durante 2 años en dientes uniradiculares (Badersten y cols. 1985). Jeffcoat & Reddy (1991) obtuvieron resultados similares en la evaluación de pacientes no tratados durante 6 meses, utilizando una sonda electrónica de presión controlada (Jeffcoat y cols. 1991). Machtei y cols. (1993) también reportaron un padrón de pérdida de inserción equivalente, evaluando pacientes no tratados durante 9 meses (Machtei y cols. 1993). Claffey y cols. (1996), en un estudio de 42 meses, presentaron resultados idénticos en la evaluación de 16 pacientes con periodontitis crónica avanzada, sometidos a tratamiento periodontal no quirúrgico (Claffey y cols. 1996).

El consenso actual indica que la progresión de la periodontitis crónica, en la mayoría de los pacientes y de las localizaciones, es un proceso continuo, con periodos de exacerbación ocasional.

A.IV.2 PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA PROGRESIÓN

Los factores pronóstico o factores predictores de progresión de la periodontitis son variables que describen la susceptibilidad individual a la enfermedad. En los estudios longitudinales, la progresión es determinada a través de la monitorización de variables clínicas, principalmente el nivel de inserción clínico (Ogawa y cols. 2002), radiográficas - especialmente el nivel de hueso alveolar - (Jansson y cols. 2002) y la pérdida de dientes (Fardal y cols. 2004).

A.IV.2.1 PARÁMETROS CLÍNICOS

Puesto que la placa bacteriana es el factor etiológico primario de las enfermedades periodontales, todos los factores, a nivel de un diente o de una localización, que faciliten su acumulación o dificulten su eliminación, pueden reducir la eficacia del tratamiento periodontal y aumentar el riesgo de progresión. Algunos de los factores estudiados incluyen la posición dentaria (Griffiths y cols. 1981, Jensen y cols. 1989), la presencia de lesiones de caries (Albandar y cols. 1995), de márgenes de restauraciones subgingivales o prótesis fijas mal adaptadas (Schatzle y cols. 2001) o de cálculo (Neely y cols. 2001).

Harrel & Nunn (2001) describieron el efecto de las alteraciones oclusales en la periodontitis. Los autores concluyeron que existe una asociación entre estas y los parámetros clínicos periodontales; además las alteraciones oclusales no tratadas están asociadas a progresión de la periodontitis (Harrel y cols. 2001, Nunn y cols. 2001).

A.IV.2.1.1 SANGRADO AL SONDAJE

El sangrado al sondaje (SAS) representa un parámetro inflamatorio objetivo utilizado en el diagnóstico periodontal. Aunque no existe un valor de porcentaje de SAS establecido, a partir del cual aumenta el riesgo de progresión de la periodontitis, la mayoría de los estudios consideró porcentajes entre 20% y 30% como valor discriminante entre pacientes con estabilidad periodontal y progresión de la enfermedad (Badersten y cols. 1990, Claffey y cols. 1990). Según Lang y cols. (1986, 1990) mientras que el valor predictivo positivo del SAS, considerando una localización, es relativamente bajo (6%), el valor predictivo de la ausencia de SAS parece indicar estabilidad periodontal (98%) (Lang y cols. 1986, Lang y cols. 1990). La revisión del *Workshop* Mundial de Periodoncia (1996) consideró el SAS como factor de riesgo para la progresión de la periodontitis en pacientes tratados en fase de mantenimiento (OR: 2,79, intervalo confianza 95%: 1,03 - 7,57) (Armitage 1996). Por otro lado, de acuerdo con Joss y cols. (1994), los individuos presentan menor riesgo de progresión de la enfermedad cuando la prevalencia de SAS es $\leq 25\%$ (Joss y cols. 1994).

A.IV.2.1.2 PROFUNDIDAD DE SONDAJE RESIDUAL

La presencia de bolsas profundas residuales, se ha asociado a progresión de la periodontitis, cuando se considera la evaluación por localización (Badersten y cols. 1990, Claffey y cols. 1990). La revisión del *Workshop* Mundial de Periodoncia (1996) consideró la presencia de profundidad de sondaje (PS) ≥ 6 mm como factor de riesgo para la progresión de la periodontitis en pacientes tratados, en fase de mantenimiento (OR: 9,7, intervalo confianza 95%: 4,1 - 22,6) (Armitage 1996). Cuando considerado el nivel paciente (análisis basado en el paciente), existe poca evidencia publicada que permita apoyar la idea de que la presencia de bolsas residuales, después del tratamiento periodontal activo, representa un factor de riesgo de futura progresión de la enfermedad. La revisión sistemática de Renvert y Persson (2002) concluyó que la PS residual presenta un valor predictivo para progresión (Renvert y cols. 2002). Los autores

identificaron, únicamente, una publicación que demostró que, en pacientes con periodontitis avanzada, la presencia de un número elevado de localizaciones con PS \geq 6 mm, aumentó la susceptibilidad para futura pérdida de inserción, considerando un periodo de observación de 42 meses (Claffey y cols. 1995). Matuliene y cols. (2008) estudiaron la influencia de PS residual \geq 5 mm en la progresión de la periodontitis y en la pérdida de dientes, en un grupo de 172 pacientes en fase de mantenimiento. Los autores concluyeron que la presencia de PS residual \geq 6 mm representa un tratamiento periodontal incompleto y es considerada un factor de riesgo para futura pérdida de inserción (Matuliene y cols. 2008).

A.IV.2.1.3 NÚMERO DE DIENTES REMANENTES

Teniendo en consideración que la periodontitis puede ser considerada una de las causas de pérdida de dientes, en adultos, el número de dientes remanentes en la evaluación inicial puede representar la historia previa de periodontitis. Papapanou y cols. (1988) correlacionaron negativamente este parámetro con el grado de pérdida ósea radiográfica y consideraron que la pérdida de dientes puede llevar a subestimar el grado de destrucción periodontal, de tal forma que su evaluación es fundamental en el diagnóstico (Papapanou y cols. 1988).

A.IV.2.2 PARÁMETROS RADIOGRÁFICOS

Jansson y cols. (2002) investigaron la influencia de predictores de riesgo / factores de riesgo potenciales en la pérdida ósea marginal, durante 20 años. Los resultados del estudio indicaron que, entre todos los parámetros estudiados, el tabaco y el índice periodontal de Russel (Russell 1956), evaluados en la visita inicial, fueron correlacionados de forma significativa con la pérdida ósea longitudinal (Jansson y cols. 2002). Papapanou y Tonetti (2000) revisaron el papel de los defectos infraóseos y de las lesiones de furca como indicadores de riesgo de progresión de la periodontitis (Papapanou y cols. 2000). Los resultados de los estudios evaluados permitieron concluir que, en los pacientes que no recibieron tratamiento periodontal sistemático, las localizaciones con defectos óseos presentaron mayor riesgo de progresión (Papapanou y cols. 1991); por otro lado en los pacientes tratados, la presencia de defectos óseos influyó, únicamente, cuando se asociaba a la presencia de bolsas periodontales residuales (Armitage 1996). Respecto a las lesiones de furca, los diferentes estudios

publicados indican que su presencia aumenta el riesgo de pérdida de dientes (Hirschfeld y cols. 1978, McFall 1982, Wang y cols. 1994, McGuire y cols. 1996) y de progresión de la periodontitis durante la fase de mantenimiento (Papapanou y cols. 2000).

A.IV.2.3 PÉRDIDA DE DIENTES

La utilización de la pérdida de dientes como variable respuesta de la progresión de la periodontitis, presenta una limitación importante relacionada con el hecho de que, en algunos estudios, no aparece referenciada la razón de pérdida de dientes, la cual puede no estar relacionada con motivos periodontales (Heitz-Mayfield 2005).

El objetivo del tratamiento periodontal es controlar la progresión de la enfermedad, manteniendo los dientes en salud y función. La mayoría de los estudios publicados en la literatura, que evaluaron la progresión de la periodontitis en pacientes tratados y en fase de soporte periodontal, reportaron tasas de pérdida de dientes reducidas (Hirschfeld y cols. 1978, McFall 1982, Goldman y cols. 1986, Tonetti y cols. 2000, König y cols. 2002). Fardal y cols. (2004) obtuvieron resultados similares en la evaluación de 100 pacientes en mantenimiento periodontal; la mayoría de los pacientes del estudio (74%) no habían perdido ningún diente, y solamente el 1,5% de los dientes se perdieron por motivos periodontales, durante los 10 años de observación (Fardal y cols. 2004). La revisión sistemática de Chambrone y cols. (2010) evaluó los factores predictores de pérdida de dientes, encontrados en estudios retrospectivos, con pacientes en fase de mantenimiento periodontal durante, al menos, 5 años. A pesar de la considerable heterogeneidad entre los estudios seleccionados, los autores concluyeron que la edad, el tabaco y el pronóstico inicial de los dientes pueden estar asociados a la pérdida de dientes encontrada (Chambrone y cols. 2010).

A.IV.3 RELACIÓN DE LOS FACTORES MICROBIOLÓGICOS CON LA PROGRESIÓN

Aunque la periodontitis sea considerada, de manera general, una infección bacteriana oportunista, se ha propuesto un grupo de patógenos periodontales específicos como predictores de futura progresión de la enfermedad, es decir, pérdida de inserción adicional. Los estudios longitudinales y retrospectivos publicados evaluaron a los siguientes patógenos periodontales: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *P. micra* y *T. denticola*. La mayoría de las publicaciones han

demostrado que la presencia y/o la detección de una proporción elevada de uno de los patógenos, o de combinaciones de patógenos, en la visita inicial, puede ser considerada un indicador pronóstico de progresión de la periodontitis [Haffajee, y cols. (1991) – *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*; Rams y col. (1996) - *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *P. micra*; Dahlén y cols. (1996) - *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*; Machtei y cols. (1997) - *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*; Machtei y cols. (1999) – *T. forsythia*; Timmermann y cols. (2000) - *A. actinomycetemcomitans*] (Haffajee y cols. 1991, Dahlen y cols. 1996, Rams y cols. 1996, Machtei y cols. 1997, Machtei y cols. 1999, Timmerman y cols. 2000). Papapanou y cols. (1997) estudiaron la asociación entre las variables microbiológicas y los cambios en los parámetros clínicos periodontales evaluados 10 años antes, en un población rural de chinos. Los resultados del estudio indicaron una asociación entre los individuos con localizaciones con bolsas profundas y con pérdida de inserción adicional y la presencia de bacterias específicas (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*).

Investigaciones más recientes demostraron resultados similares. Silva y cols. (2008) estudiaron 56 pacientes con periodontitis crónica, moderada a avanzada, con el objetivo de estudiar los niveles de distintos mediadores inflamatorios y la proporción de patógenos periodontales en localizaciones caracterizadas por destrucción activa del tejido conectivo. A los 2 meses, la proporción de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *T. forsythia* era superior en las localizaciones activas cuando comparadas con las localizaciones inactivas (Silva y cols. 2008).

Byrne y cols. (2009) evaluaron la relación de diferentes variables clínicas y de distintos niveles de bacterias presentes en la placa bacteriana subgingival con la progresión de la enfermedad, en 41 pacientes con periodontitis crónica, tratados y en fase de mantenimiento, durante 12 meses. Los parámetros clínicos evaluados no fueron capaces de prever futura pérdida de inserción. Sin embargo, los resultados microbiológicos indicaron que la presencia de niveles aumentados de *P. gingivalis* y *T. denticola* incrementaron la posibilidad de una localización de perder inserción en los tres meses siguientes (Byrne y cols. 2009).

Con el objetivo de monitorizar las alteraciones microbiológicas iniciales en el desarrollo de la periodontitis, Tran y col. (2001) realizaron un estudio longitudinal prospectivo que incluyó 205 pacientes con baja prevalencia y severidad de la enfermedad. Los autores evaluaron muestras de placa bacteriana subgingival, mediante reacción en cadena de la

polimerasa (PCR) y analizaron la presencia de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* y *P. gingivalis*. La persistencia de *T. forsythia* permitió identificar los pacientes con mayor riesgo de progresión de la periodontitis, pero no logró identificar las localizaciones, en dichos pacientes, con riesgo de futura pérdida de inserción (Tran y cols. 2001).

Charalampakis y cols. (2013) realizaron un estudio prospectivo con el objetivo de analizar la capacidad de parámetros clínicos y microbiológicos de identificar localizaciones en riesgo de pérdida de inserción, durante 2 años. Los autores concluyeron que la cuantificación de las bacterias presentes en la placa bacteriana subgingival y los parámetros clínicos, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje, demostraron una capacidad similar para predecir progresión de la periodontitis (Charalampakis y cols. 2013). Por otra parte, en otros estudios longitudinales que incluyeron pacientes con periodontitis crónica avanzada, los resultados indicaron que la cuantificación de las diferentes bacterias seleccionadas no permitió identificar las localizaciones con mayor riesgo de futura pérdida de inserción. En algunos de estos estudios, como los de Wennstrom y cols. (1987) y de MacFarlane y cols. (1988), no se realizó tratamiento periodontal durante los 12 meses de observación (Wennstrom y cols. 1987, MacFarlane y cols. 1988). En oposición, en el estudio de Listgarten y cols. (1991) se realizó tratamiento periodontal, incluyendo cirugía periodontal y visitas de mantenimiento periodontal, cada 3 meses durante 30 meses (Listgarten y cols. 1991). Finalmente, en los 13 pacientes incluidos en el estudio de Buchmann y cols. (2000) se realizó tratamiento periodontal mecánico asociado a antibiótico sistémico y visitas de mantenimiento periodontal durante 3 años (Buchmann y cols. 2000). A pesar de las diferencias entre los estudios y de las limitaciones al compararlos, las conclusiones fueron similares.

La evidencia disponible relativa al valor pronóstico de bacterias específicas no es, actualmente, concluyente. La capacidad del diagnóstico microbiológico para identificar individuos con mayor riesgo de progresión de la periodontitis es, aún, limitada.

A.IV.4 MÉTODOS UTILIZADOS EN EL CÁLCULO DEL RIESGO DE PROGRESIÓN

Actualmente no existe un método simple, exacto y rápido que permita evaluar la actividad de la enfermedad y identificar individuos en riesgo de progresión. La valoración de parámetros clínicos y radiográficos permite, únicamente, detectar alteraciones ya ocurridas y establecer un diagnóstico de la situación presente.

Varios estudios publicados desde la década de 1990, evaluaron el valor predictivo de los marcadores bioquímicos de la respuesta del huésped en el fluido crevicular gingival y saliva (Palcanis y cols. 1992, Lamster y cols. 1994, Lamster y cols. 1995, Chapple y cols. 1999).

Sin embargo, la insuficiente evidencia encontrada, añadida a la convicción de que es poco probable que un único parámetro pueda predecir destrucción periodontal futura, condujo a nuevas publicaciones que asociaron los marcadores bioquímicos a cuantificación de los patógenos periodontales (Ramseier y cols. 2009, Kinney y cols. 2011) y a parámetros clínicos (Kinney y cols. 2014) como predictores del riesgo de pérdida de inserción.

De acuerdo con Heitz-Mayfield y cols. (2005) la valoración del riesgo se efectúa, generalmente, a través del reconocimiento de los factores relacionados con la periodontitis, asociados al juicio subjetivo de su papel en la progresión de la pérdida de inserción (Heitz-Mayfield 2005). Acerca del tema, Unell y cols. (2000) identificaron claras diferencias entre los indicadores objetivos y subjetivos de periodontitis (Unell y cols. 2000, Heitz-Mayfield 2005). Persson y cols. investigaron los factores utilizados por diferentes clínicos en la evaluación del riesgo de progresión de la periodontitis; los autores concluyeron que la mayoría de los clínicos utiliza parámetros de severidad, como la pérdida ósea radiográfica y la presencia de bolsas periodontales > 6 mm, más que factores relacionados con el huésped, como el hábito tabáquico o la presencia de enfermedades sistémicas. Adicionalmente, los autores relataron que el cálculo, basado en criterios subjetivos, del riesgo varía, considerablemente entre periodoncistas y odontólogos no especialistas (Persson y cols. 2003, Persson y cols. 2003).

Durante los últimos años, se han propuesto diferentes modelos multifactoriales destinados a evaluar el riesgo de progresión. Page y cols. (2002) desarrollaron un programa informático (*PRC - Periodontal risk calculator*) con el objetivo de cuantificar el riesgo. Utilizaron nueve variables: edad, historia de hábito tabáquico, diabetes, historia de cirugía periodontal, profundidad de sondaje, presencia de lesiones de furca, restauraciones o cálculo subgingival, altura ósea radiográfica y pérdida ósea vertical (Page y cols. 2002). En un estudio retrospectivo, con duración de 15 años, Page y cols. concluyeron que el riesgo calculado mediante PRC, predice la condición periodontal futura con mayor precisión y validez cuando se compara con la evaluación estándar (Page y cols. 2002).

Lang y Tonetti propusieron un diagrama hexagonal (*PRA - Periodontal risk assessment*) basado en la valoración de una serie de factores: grado de infección, en función de las localizaciones con sangrado al sondaje; prevalencia de profundidad de sondaje residual \geq 5 mm; pérdida de dientes; relación entre la pérdida de hueso y la edad; evaluación de las condiciones sistémicas y genéticas y evaluación de los factores comportamentales, modificables. Este modelo fue desarrollado con el objetivo de identificar pacientes con bajo, moderado y elevado riesgo de progresión de la periodontitis tras tratamiento periodontal, con el propósito de determinar la frecuencia y extensión de las citas de mantenimiento periodontal (Lang y cols. 2003). Persson y cols. introdujeron en el modelo PRA, la variable polimorfismo genético de la IL-1; concluyeron que el modelo permite evaluar los resultados del tratamiento periodontal de mantenimiento y que los pacientes con genotipo positivo presentaron una respuesta menos favorable al tratamiento cuando eran comparados con los pacientes con genotipo negativo (Persson y cols. 2003). Posteriormente, Renvert y cols. propusieron una modificación al modelo PRA, introduciendo la proporción de localizaciones con distancia entre la unión amelo-cementaria y la cresta ósea \geq 4 mm en sustitución de la relación entre la pérdida de hueso y la edad (Renvert y cols. 2004).

En 2010, Lindskog y cols. presentaron un algoritmo (*DRS – Dentition Risk System*) para la evaluación del riesgo de progresión y pronóstico de la periodontitis crónica. La herramienta integra 20 factores predictores de progresión, incluyendo factores sistémicos y locales; analiza el nivel de riesgo de periodontitis crónica en la dentición (nivel I) y, si es considerado como elevado, evalúa el riesgo de progresión diente a diente (nivel II)(Lindskog y cols. 2010).

Serrano y Herrera (2011) propusieron una herramienta capaz de asignar un determinado riesgo de susceptibilidad para las enfermedades periodontales, de manera a identificar su existencia, en la población general. La herramienta consiste en un cuestionario, constituido por 21 preguntas, divididas en seis grupos, formuladas de acuerdo con el conocimiento de los factores que pueden ayudar a identificar sujetos de riesgo para el desarrollo de las enfermedades periodontales. Cada pregunta contiene respuestas múltiples y a cada respuesta corresponde una puntuación, de forma a que cuanto más alta, mayor el riesgo asignado (Serrano and Herrera, 2011).

Mientras la especificidad y sensibilidad de los métodos de diagnóstico disponibles actualmente es limitada para identificar individuos susceptibles a la progresión de la

periodontitis, los modelos multifactoriales parecen ser provechosos en la identificación de los pacientes con elevado riesgo de futura pérdida de inserción. Una revisión sistemática reciente concluyó que los modelos PRC y PRA son eficaces en la previsión de progresión de la periodontitis y de pérdida de dientes (Lang y cols. 2014)

A.V. IMPORTANCIA DE IDENTIFICAR A LOS INDIVIDUOS SUSCEPTIBLES

Actualmente se sabe que el inicio y progresión de las enfermedades periodontales está asociado a factores locales, sistémicos y ambientales. La presencia del biofilm bacteriano activa una respuesta inflamatoria dirigida a eliminar las bacterias presentes; en algunos casos el proceso es reversible y la inflamación es controlada. Sin embargo, en otros casos la gingivitis evoluciona a periodontitis, caracterizada por migración apical del epitelio de unión, destrucción del tejido conectivo, formación de bolsas periodontales, recesión gingival y pérdida de hueso alveolar (Page y cols. 1997, Kornman 2008). Aunque la gingivitis es una enfermedad altamente prevalente, la periodontitis se desarrolla solo en una menor proporción de individuos o localizaciones (Lindhe y cols. 1989, Hugoson y cols. 2000). Además, la tasa de progresión y la extensión de la enfermedad, varían considerablemente entre individuos (Hirschfeld y cols. 1978, Loe y cols. 1986). Se conocen también indicadores y factores de riesgo, ya sean genéticos (Nares 2003) o ambientales como el tabaco (Albandar y cols. 2000, Nares 2003), y se reconoce la relación entre la periodontitis y patologías sistémicas, sobre todo la diabetes mellitus (Mealey 2000).

A pesar de la tremenda evolución del conocimiento relativo a los factores involucrados en la etiopatogénesis de las enfermedades periodontales, la identificación de individuos con mayor riesgo, o susceptibilidad, de desarrollar periodontitis representa un desafío permanente. La implementación de medicina basada en la evidencia, en la práctica clínica, implica seleccionar la evidencia relevante, difundir la información a través de revisiones sistemáticas, establecer protocolos y guías y desarrollar técnicas y materiales adecuados. En el caso de la periodontitis, la evidencia científica disponible justifica, claramente, la necesidad de conocer los individuos más susceptibles, por varios motivos:

En primer lugar, porque la periodontitis tiene un impacto considerable en la calidad de vida de los pacientes, originando, en algunos casos, incomodidad y limitaciones funcionales, con posibles repercusiones en la auto-estima y bien estar psíquico.

En segundo lugar, porque el efecto de la periodontitis en la salud oral es importante. Las secuelas, no sólo de la enfermedad sino también del tratamiento periodontal, incluyen la hipersensibilidad y la recesión gingival, con efecto directo en la estética y en la función; en las formas avanzadas, que afectan 10-15% de los individuos adultos, la periodontitis puede llevar a pérdida de dientes.

En tercer lugar porque, la evidencia actual sugiere que existe una relación entre la periodontitis y diferentes patologías sistémicas, es decir, la periodontitis puede constituir un factor de riesgo para ellas. La revisión sistemática de Borgnakke y cols. (2013) concluyó que la periodontitis afecta negativamente el control metabólico en los pacientes diabéticos (Borgnakke y cols. 2013). Dietrich y cols. (2013) evidenciaron un riesgo aumentado para patología cardiovascular en pacientes con periodontitis (Dietrich y cols. 2013). Ide y cols. (2013) estudiaron la asociación entre la periodontitis y los resultados adversos del embarazo, y concluyeron que existe asociación entre la periodontitis materna y los partos prematuros o de recién nacidos con bajo peso al nacer, aunque con asociación débil en algunas poblaciones (Ide y cols. 2013). Linden y cols. (2013) revisaron la asociación entre varias patologías sistémicas como la obesidad y patologías respiratorias. A pesar de existir evidencia limitada para todas las patologías estudiadas, los autores sugirieron la realización de más estudios por la relevancia de las asociaciones encontradas (Linden y cols. 2013).

En cuarto lugar porque la historia de periodontitis es considerada un factor de riesgo para las complicaciones biológicas en el tratamiento con implantes, mucositis y peri-implantitis (Dawson y cols. 2015). Las revisiones sistemáticas realizadas por Karoussis y cols. (2007) y Klokkevold y cols. (2007) indicaron que la peri-implantitis es más frecuente en pacientes con historia de periodontitis, a pesar de que esta puede no afectar directamente la tasa de sobrevivencia de los implantes (Karoussis y cols. 2007, Klokkevold y cols. 2007). La evidencia actual indica que cuanto mayor es el grado de severidad de la periodontitis, mayor es la pérdida ósea encontrada alrededor de implantes (Aloufi y cols. 2009, Cho-Yan Lee y cols. 2012).

El objetivo primordial de la identificación de individuos susceptibles es la prevención, es decir, la realización de un diagnóstico precoz y la implementación de medidas adecuadas al control de la enfermedad, de acuerdo con las necesidades del paciente. Tradicionalmente, la prevención se divide en varios niveles. La prevención primaria debe ser aplicada en una situación pre-clínica y el objetivo es prevenir el inicio de la

enfermedad. En esta fase, las medidas preventivas son aplicadas con el objetivo de eliminar el factor etiológico y los factores de riesgo, de forma que se evita que aparezca inflamación gingival y se mantengan los tejidos periodontales en salud. La prevención secundaria debe ser empleada en una fase inicial de la enfermedad, basada en un diagnóstico precoz y un tratamiento inmediato, con el objetivo de revertir la evolución del proceso patológico y re-establecer la salud. Esta fase tiene una aplicación práctica en la gingivitis, a través de la eliminación del factor etiológico y control de la inflamación. La prevención terciaria debe ser implementada en situaciones de enfermedad. Tiene como objetivos limitar las secuelas, rehabilitar la función, mantener la salud, prevenir recidivas después de la fase activa de tratamiento periodontal y controlar la progresión de la periodontitis. La fase de mantenimiento periodontal ilustra, totalmente, este concepto (Baehni 2012).

A pesar del progreso constante en la investigación, todavía no existe un método específico y sensible, que permita identificar un individuo susceptible a la periodontitis antes del inicio de la enfermedad. Adicionalmente, la evidencia científica disponible relativa a métodos de diagnóstico que permitan identificar individuos y localizaciones en riesgo de progresión es, aún, insuficiente

B. JUSTIFICACIÓN

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

B. JUSTIFICACIÓN

La periodontitis crónica es una enfermedad compleja, multifactorial, de etiología bacteriana, caracterizada por una respuesta inflamatoria del huésped frente a microorganismos, capaces de estimular la liberación de mediadores, como IL-1, responsables de la destrucción del tejido conectivo y hueso alveolar.

Hasta los años 1980, se pensaba que todos los individuos eran igualmente susceptibles a las enfermedades periodontales y que cerca del 70% de los adultos presentaban periodontitis. Actualmente, se conoce, que existen marcadas diferencias individuales en el patrón de progresión de la enfermedad y que sólo 10-15% de la población adulta presenta periodontitis generalizada avanzada. Además, se asume que el tratamiento periodontal y el mantenimiento adecuados son esenciales en el control de los factores etiológicos y en la prevención de futura pérdida de inserción.

A pesar del papel de las bacterias como factor etiológico de la periodontitis, la extensión y severidad de la enfermedad también se ve influenciada por distintos factores de riesgo no modificables, como la susceptibilidad genética, o modificables, como el tabaco.

Durante los últimos años, se ha dado una especial relevancia a la identificación de localizaciones o pacientes con mayor riesgo de progresión de la periodontitis. Se han evaluado distintas variables clínicas, microbiológicas, inmunológicas y genéticas. La importancia de la IL-1 como mediador inflamatorio de la periodontitis y el creciente interés por el papel de la genética en la patogénesis de la enfermedad, han conducido a que, en los últimos años, aparezca un número creciente de publicaciones relativas a la evaluación de los polimorfismos genéticos de citoquinas específicas asociadas a destrucción periodontal. El polimorfismo del gen que codifica la IL-1 β ha sido asociado a una mayor producción de la citoquina y relacionado con la severidad de la periodontitis en diferentes poblaciones. Algunos estudios encontraron una asociación entre el polimorfismo genético de la IL-1 β y la presencia o progresión de la periodontitis crónica; sin embargo, otros estudios fracasaron en demostrarlo. Adicionalmente, varias publicaciones reportaron interacciones entre el genotipo positivo y diferentes factores como edad y tabaco. También las variables clínicas, como el sangrado al sondaje, la pérdida de inserción clínica, o la pérdida ósea y diferentes variables microbiológicas, han sido evaluadas. La existencia de resultados contradictorios, publicados en la literatura, y la variabilidad de los componentes genéticos en distintas poblaciones, justifica el estudio de la relación entre el

genotipo polimórfico para la interleuquina-1 β y la progresión de la periodontitis crónica en una población española. Adicionalmente, es importante comprobar si otros factores, clínicos y microbiológicos, tienen influencia en la pérdida de inserción y son relevantes en su interacción con el perfil genético, en la población estudiada.

En definitiva, hay cuatro aspectos fundamentales que justifican el estudio de los factores que condicionan la susceptibilidad a periodontitis, ya sea para su inicio o para su actividad: por que la periodontitis tiene impacto considerable en la calidad de vida de los pacientes (funcional, psíquico); por las secuelas estéticas y funcionales de la enfermedad y/o de su tratamiento; por la relación entre la periodontitis y diferentes patologías sistémicas, como diabetes, patología cardiovascular, resultados adversos del embarazo, obesidad o patologías respiratorias; y, finalmente, por ser considerada un factor de riesgo para las complicaciones biológicas en el tratamiento con implantes.

C. OBJETIVOS

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

C. OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar la progresión de la periodontitis, y los factores que influyen en ella, en dos cohortes de pacientes con periodontitis avanzada, tratados y en la fase de mantenimiento periodontal, pero con distinto polimorfismo genético respecto a IL-1 β .

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar la relación entre las distintas variables clínicas y microbiológicas evaluadas con el genotipo polimórfico para la interleuquina-1 β .
2. Evaluar la relación entre las distintas variables clínicas, microbiológicas y genéticas evaluadas y la progresión de la periodontitis, definida como pérdida de inserción clínica.
3. Estudiar el papel de cada variable evaluada en la visita inicial en el riesgo de pérdida de inserción clínica futura.

HIPÓTESIS

1. Respecto a la relación entre las distintas variables clínicas y microbiológicas evaluadas con el genotipo polimórfico para la interleuquina-1 β :

Existen diferencias estadísticamente significativas en los parámetros clínicos y microbiológicos evaluados entre los pacientes de los dos grupos de estudio, genotipo negativo (GEN-) y genotipo positivo (GEN+).

2. Respecto a la relación entre las distintas variables clínicas, microbiológicas y genéticas evaluadas, y la progresión de la periodontitis, definida como pérdida de inserción clínica:

Existe relación estadísticamente significativa entre los parámetros clínicos, microbiológicos y genéticos evaluados, y la pérdida de inserción clínica observada.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

3. Respecto al estudio del papel de cada variable evaluada, en la visita inicial, en el riesgo de futura pérdida de inserción clínica.

Existe relación estadísticamente significativa entre los parámetros clínicos, microbiológicos, inmunológicos y genéticos, y el riesgo de pérdida de inserción futura.

D. MATERIAL Y MÉTODOS

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

D. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio clínico longitudinal prospectivo comparó dos cohortes de pacientes con periodontitis avanzada, tratados en la Clínica del Posgrado de Periodoncia del Departamento de Medicina y Cirugía Bucal de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

D.I. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Los pacientes fueron seleccionados en una fase preliminar, previa al inicio del estudio, teniendo en cuenta criterios de inclusión predefinidos, incluyendo el diagnóstico periodontal, el tratamiento periodontal realizado y la situación periodontal en las visitas de mantenimiento. En esta fase se realizaron los registros periodontales estándar basados en la evaluación clínica y radiográfica.

D.II. CRITERIOS DE ADMISIÓN

D.II.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes adultos, con edad entre 35 y 60 años.
- Diagnóstico clínico de periodontitis crónica avanzada, definida como una pérdida de inserción generalizada en todos los cuadrantes y pérdida ósea radiográfica superior al 50% en la mayoría de los dientes.
- Ausencia de tratamiento periodontal previo a la primera consulta de diagnóstico realizada en el Posgrado de Periodoncia.
- Tratamiento periodontal terminado al menos 15 meses antes de la selección, compuesto por tratamiento periodontal básico (incluyendo raspado y alisado radicular) y, si fue necesario, tratamiento quirúrgico (colgajo de reposición apical), realizado en el Posgrado de Periodoncia.
- Pacientes en fase de mantenimiento periodontal, citados cada 3-4 meses.
- Pacientes que aceptan participar en el estudio, firmando un Consentimiento informado y están disponibles para cumplir todas las visitas.

D.II.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes con enfermedades sistémicas no controladas.
- Pacientes con medicación crónica que pueda repercutir en la situación periodontal como, por ejemplo, anti-inflamatorios.
- Pacientes embarazadas.
- Pacientes que hubieran tomado antibióticos sistémicos en los 6 meses previos al inicio del estudio.

D.III. DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO

Se realizó el análisis del polimorfismo genético para la interleuquina-1 β utilizando el test de susceptibilidad a la enfermedad periodontal - PST® (Periodontal Susceptibility Trait®, Medical Science Systems Inc., San Antonio, EE.UU.).

En una fase inicial se tomaron muestras de sangre del dedo índice y, posteriormente, se recogieron muestras de saliva (de acuerdo a los protocolos del fabricante), que se colocaban en un papel adecuado para el transporte y posterior evaluación del ADN.

La determinación del genotipo, realizada por la PST® Medical Science Systems, se basa en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La metodología de laboratorio incluyó la detección de una señal de fluorescencia, producida proporcionalmente al producto amplificado. Se utilizó la enzima *Taq polimerasa* para iniciar la reacción de polimerización en cadena del ADN molde con un cebador (“primer”) específico para IL-1 α (posición +4845) y IL-1 β (posición +3954). Tras la preparación del gel de electroforesis con bromuro de etidio, que permite visualizar los resultados, se retiró el ADN obtenido en la PCR, se colocó en los pocillos del gel y se inició la electroforesis. La identificación se hizo comparando con un marcador de peso molecular que se añade a una columna adyacente. El análisis final y la visualización de los resultados se hizo en una cámara de fluorescencia.

D.IV. GRUPOS DE ESTUDIO

En función del polimorfismo genético para la IL-1 β , se seleccionaran 30 pacientes, 15 pacientes con genotipo negativo (GEN-) y 15 pacientes con genotipo positivo (GEN+).

D.V. DISEÑO DE ESTUDIO

Los pacientes seleccionados fueron evaluados cada tres meses durante un año, realizándose cinco visitas: visita inicial, y a los tres, seis, nueve y doce meses. Se seleccionaron previamente, mediante registros clínicos y radiográficos, ocho localizaciones, dos por cuadrante, que presentaban la mayor pérdida de inserción clínica. En cada visita se evaluaron y registraron las variables clínicas, microbiológicas y bioquímicas de las localizaciones seleccionadas.

En la visita inicial se obtuvo una muestra de tejido conectivo gingival con el objetivo de detectar los diferentes anticuerpos monoclonales a través de una técnica estándar de inmunohistoquímica.

El hábito tabáquico fue registrado al inicio y valorado en cada visita.

D.VI. VARIABLES EVALUADAS

D.VI.1 VARIABLES CLÍNICAS

En cada visita se evaluaron, por el mismo examinador experimentado, las siguientes variables clínicas, en todos los dientes, excepto los terceros molares:

D.VI.1.1 ÍNDICE DE PLACA (IP)

Se ha utilizado el índice dicotómico de O`Leary, evaluado en cuatro localizaciones por diente (vestibular, mesial, distal y palatina/lingual) (O'Leary y cols. 1972);

D.VI.1.2 ÍNDICE GINGIVAL (IG)

Se ha utilizado el índice dicotómico de Ainamo & Bay, evaluado en cuatro localizaciones por diente (vestibular, mesial, distal y palatina/lingual)(Ainamo y cols. 1975);

D.VI.1.3 PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PS)

Se ha medido la distancia entre el margen gingival y el fondo del surco o bolsa periodontal en seis localizaciones por diente (mesio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, mesio-palatina/lingual, centro-palatina/lingual y disto-palatina/lingual);

D.VI.1.4 SANGRADO AL SONDAJE (SS)

Se ha utilizado el índice dicotómico de Muhlemann & Son, evaluado en las seis localizaciones por diente descritas anteriormente (Muhlemann y cols. 1971);

D.VI.1.5 RECESIÓN GINGIVAL (RG)

Se ha medido la distancia entre la unión amelo-cementaria y el margen gingival en las seis localizaciones por diente descritas anteriormente;

D.VI.1.6 NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO (NIC)

Se ha calculado la distancia entre la unión amelo-cementaria y el fondo del surco o bolsa periodontal en las seis localizaciones por diente descritas anteriormente.

Adicionalmente se han evaluado, en las ocho localizaciones seleccionadas, la profundidad de sondaje y el nivel de inserción relativo (NIR) utilizando una sonda periodontal de presión controlada (sonda Florida®, Florida Probe Corporation, Gainesville, Florida, EE.UU.).

Para la evaluación de los cambios en el nivel de inserción, se utilizó una férula acrílica realizada previamente, con el objetivo de minimizar errores de posición de la sonda y obtener un punto de referencia fijo y estable. En cada visita se efectuaron dos mediciones en cada localización; si la diferencia entre los valores obtenidos fue superior a 0,2 mm se realizó una tercera medición. Las dos mediciones más cercanas fueron utilizadas para obtener la media, considerada como la mejor estimación del nivel de inserción clínico. Se ha utilizado, basado en el método de tolerancia descrito por Haffajee y cols, un umbral de 0,9 mm para considerar las alteraciones relevantes en el nivel de inserción, relacionadas con actividad de enfermedad (Haffajee y cols. 1983). Una localización con pérdida de

inserción clínica superior a 1,5 mm durante el estudio fue excluida del mismo y tratada con raspado y alisado radicular.

D.VI.2 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

En la visita inicial se realizó la toma de muestras de placa bacteriana subgingival para análisis microbiológico y estudio de los patógenos periodontales, en las ocho localizaciones seleccionadas. En las siguientes visitas, se realizó el análisis microbiológico exclusivamente de las localizaciones que hubieran perdido inserción, según el criterio previamente definido.

D.VI.2.1 TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS

La toma de muestras se realizó de acuerdo con el protocolo definido por Mombelli y cols. (Syed y cols. 1972, Mombelli y cols. 1991) Se colocaron dos puntas de papel estériles (Maillefer, Ballaigues, Suiza) consecutivamente, durante 10 segundos cada una, después de aislar adecuadamente la localización seleccionada, con rollos de algodón, y secar suavemente con chorro de aire, con el propósito de evitar contaminación. Posteriormente, se transfirieron a un vial con 1,5 ml de Fluido de Transporte Reducido (*reduced transport fluid*, RTF) (Syed y cols. 1972) y se transportó al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología para su procesamiento en las dos horas siguientes a su toma.

D.VI.2.2 PROCESADO DE LAS MUESTRAS

En el laboratorio, las muestras fueron dispersadas con vórtex durante 30 segundos para romper los agregados bacterianos y permitir el cultivo. Teniendo en cuenta la elevada cantidad de bacterias en cada muestra, se realizaron diluciones a la décima parte (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) en una solución salina tampón de fosfato (*phospahte buffer saline* - PBS) para obtener una placa de 30 a 300 colonias.

Se inocularon las placas con los medios de cultivo con 0,1 ml de la dilución. Se han utilizado dos medios de cultivo:

- Medio selectivo para *A. actinomycetemcomitans* (MS 83 o Dentaid-1, Alsina y cols., 2001) con extracto de levadura, vancomicina (5 mg/ml), fumarato de sodio y agua destilada. Se incubaron las placas a 37° durante 3 días con 5% CO₂;

- Medio general de agar-sangre (Oxoid nº2 , Oxoid Ltd, Basingstoke, Inglaterra) con hemina (5 mg/l) y menadiona (1 mg/l). Se incubaron las placas a 37°C durante 7 a 14 días en una atmósfera anaeróbica con 80% de N₂, 10% de H₂ y 10% de CO₂.

D.VI.2.3 IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES BACTERIANAS

El medio de cultivo general permitió evaluar las siguientes especies: *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *P. micra*, *C. rectus* y *F. nucleatum*. Las placas del medio de cultivo general fueron estudiadas, tras siete días de incubación, mediante distintos parámetros: morfología, diámetro, forma, elevación, borde, superficie, densidad, consistencia, color, hemólisis, adherencia y extensión. Cada colonia con identificación de presunción fue aislada en el mismo medio para su incubación durante siete días, con el fin de obtener cultivos puros. Posteriormente se realizó la caracterización bioquímica para confirmar su identificación inicial, a través de tinción de Gram, y actividad enzimática, incluyendo N-acetyl-β-D-glucosaminidasa, α-glucosidasa, α-galactosidasa, α-fucosidasa, indol y actividad tripsínica. A los 14 días se realizó el recuento total de las colonias.

En las muestras sembradas en medio de cultivo selectivo para *A. actinomycetemcomitans* se identificaron las colonias basándose en la morfología de estrella, reacción positiva de la catalasa y tinción de Gram.

Los resultados del análisis microbiológico se presentan en unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) tanto de la flora total como de cada patógeno periodontal estudiado.

Adicionalmente a los datos microbiológicos cuantitativos, se calcularon la frecuencia de detección y la proporción de cada patógeno respecto a la flora total.

D.VI.3 VARIABLES BIOQUIMICAS

En la visita inicial se realizó la toma de muestras de fluido gingival crevicular (FGC) para análisis bioquímico de la ocho localizaciones seleccionadas. En las siguientes visitas, se realizó el análisis bioquímico exclusivamente de las localizaciones que perdieron inserción.

D.VI.3.1 TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras se realizó de acuerdo con un protocolo previamente establecido: después de aislar los dientes con rollos de algodón, se eliminó la placa bacteriana supragingival con curetas (Hu Friedy®, Gracey, Chicago, Illinois, EE.UU.). Se secó cuidadosamente la localización a evaluar con una jeringa de aire, sin dirigir el aire al surco o bolsa.

El FGC se recolectó con tiras de papel Periopaper® (Harco, Irvine, California, EE.UU). Las tiras de papel se introdujeron en el surco/bolsa de las localizaciones seleccionadas hasta obtener una leve resistencia de los tejidos durante 30 segundos.

Las tiras de papel contaminadas con saliva o sangre fueron excluidas de la muestra.

D.VI.3.2 ANÁLISIS DEL FCG

Después de recolectado el FGC, el volumen de la muestra sobre la tira de Periopaper® se determinó usando un Periotron-8000® (Harco, Irvine, California, EE.UU) previamente calibrado. Las lecturas del Periotron-8000® fueron convertidas a volumen (μl) tomando como referencia la curva estándar previamente confeccionada con suero sanguíneo humano.

D.VI.3.3 PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de FGC se trasladaron al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología para su procesamiento. Se extrajo el FGC de las tiras de papel en un tubo Eppendorff con 50 μl de PBS con 0,05% de Tween-20 (PBS-T), por centrifugación a 10.000 g/min a 4° (Heraeus SEPATECH Biofuge 17RS, Hanau, Alemania), repitiendo el procedimiento tres veces, de acuerdo con el protocolo seguido por Chung y cols. (1997). Los 150 μl obtenidos de cada muestra se guardaron a -70° hasta el procesamiento de las muestras.

D.VI.3.4 CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS

Para determinar el nivel de citoquinas se utilizaron alícuotas de 20 μl de cada muestra de FGC, a través de la técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), usando

pares de anticuerpos y de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (ENDOGEN Inc., Cambridge, EE.UU.).

Brevemente, las placas (F16 Maxisorp Loose, Nunc A/S Roskilde, Dinamarca) fueron cubiertas con el anticuerpo monoclonal anti-humano durante toda la noche a 4°C, y posteriormente lavadas tres veces con buffer de lavado (50mM TRIS, 0,2% Tween, pH 7.9-8.1). Se agregaron en duplicado a los pocillos de la placa 20 µl de la muestra de FGC, en 100 µl de fosfato salino con Tween (PBS-T), dejándose incubar durante 1 hora a temperatura ambiente.

Posteriormente se agregó a cada pocillo 100 µl del anticuerpo marcado con biotina y se dejó incubar durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar tres veces las placas se agregaron 100 µl por pocillo de Streptavidina dejándose incubar durante 1 hora a temperatura ambiente. Previo lavado, se agregaron 100 µl de la solución sustrato TMB (1,1'-trimetil-ene-bis-4-formilpiridinio bromuro). La reacción se detuvo después de 30 minutos agregando 50 µl de ácido sulfúrico 0.18M, y el color de la reacción fue cuantificado a 450 nm usando un espectrofotómetro automático (Labsystems Multiskan, BICHROMATIK, Vantaa, Finlandia).

La concentración de cada citoquina en las muestras fue determinada en picogramos con una curva estándar (15.6-1.000 pg) obtenida con la proteína recombinante. Aquellos valores por debajo del límite de detección elegido (menos de 7.6-15.6 pg), fueron considerados como no detectables.

La concentración de la citoquina (pg/µl) se calculó del volumen de FGC estimado en el Periotron-8000®, de acuerdo a la siguiente fórmula:

Concentración citoquina (pg/µl) = cantidad total (pg) / volumen FGC (µl).

D.VI.4 ANÁLISIS DE INMUNOHISTOQUIMICA

D.VI.4.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE TEJIDO CONECTIVO GINGIVAL

En la visita inicial de cada paciente se obtuvo una muestra de tejido conectivo gingival. Con una hoja de bisturí nº11 o 15 se realizó una incisión de 1-2 mm desde el margen gingival, dirigida hacia la cresta alveolar, siguiendo el eje mayor del diente, de modo que

la biopsia contuviera epitelio y tejido conectivo. Una vez tomada la biopsia se procedió a su lavado con solución salina estéril, para eliminar los detritus y coágulos sanguíneos.

Las biopsias obtenidas se transportaron en un tubo con un medio de transporte de tejido (Miles Inc. Diagnostics Division, Elkhart, EE.UU.), guardado en un recipiente con hielo, y fueron congeladas en nitrógeno líquido o bien procesadas e incluidas en parafina. Se obtuvieron secciones de 4-6 μm de espesor con un criostato (Minotome, International Equipment Company, Missouri, Texas, EE.UU.), que fueron prefijadas en acetona (Merck, White House Station, New Jersey, EE.UU.) y guardadas deshidratadas a -70° hasta ser usadas.

D.VI.4.2 PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Las secciones de tejido se fijaron en acetona a 4°C durante 15 minutos. Se utilizó una técnica estándar de inmunohistoquímica para detectar poblaciones de linfocitos, utilizando diferentes anticuerpos monoclonales (anti CD3, anti CD8, anti CD20 y anti CD57).

La unión no específica al tejido fue bloqueada por la incubación con 1% de suero por 30 minutos. Los portaobjetos con las secciones de tejido se incubaron durante 60 minutos con 40 μl del anticuerpo primario. Todos los lavados se realizaron con Tris-buffer salino (TBS pH 7.2-7.6). El anticuerpo secundario biotinilado fue incubado en una dilución 1:200 por 30 minutos (Dako, Glostrup, Dinamarca). La actividad de la peroxidasa endógena fue bloqueada por la exposición durante 30 minutos a 0,3% de H_2O_2 en metanol. Las secciones fueron incubadas durante 45 minutos con el complejo macromolecular peroxidasa-biotina (Dako, Glostrup, Dinamarca). Luego se procedió a la exposición durante 6 a 8 minutos en 0,5 mg/ml de cromógeno 3',3'-diaminobencidina tetrahidrocloruro (DAB) (Dako, Glostrup, Dinamarca). Las secciones fueron contrastadas con hematoxilina de Carazzi y posteriormente hidratadas y montadas.

Se usaron secciones de amígdala humana como control positivo para la técnica de inmunohistoquímica y el sobrenadante de células del mieloma-X63 como control negativo. La especificidad y sensibilidad de cada tinción inmunohistoquímica se determinó por comparación entre el control positivo y negativo incluidos en cada serie.

D.VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la caracterización demográfica y clínica de los pacientes del estudio, fue elaborada una evaluación estadística descriptiva con información de las mediciones de tendencia central, como el valor mínimo, el valor máximo y la media para las variables edad, número de dientes y las variables clínicas observadas. Adicionalmente, se han utilizado mediciones de dispersión, como la desviación estándar, que representa la desviación media de las mediciones respecto a la media.

Para el estudio de los datos microbiológicos, fue analizada la amplitud y la media de las observaciones. Paralelamente fue evaluada la distribución de frecuencias, en porcentaje.

La comparación intra-grupo de las variables clínicas y microbiológicas, en la visita inicial, fue realizada con las técnicas de estadística descriptiva referidas anteriormente y a la comparación entre los valores medios de las distintas variables evaluadas, en los dos grupos de estudio. Para la comparación, por tests paramétricos, de los valores medios de dos variables, fue aplicado el test t de Student para muestras independientes. Los tests fueron aplicados con un nivel de significación del 5%.

El análisis inter-grupo de las variables clínicas y microbiológicas, durante el estudio, fue realizada para las diferentes visitas utilizando técnicas estadísticas paramétricas, el test t de Student para datos pareados con nivel de significación del 5%. Para análisis de la frecuencia de detección de los diferentes patógenos periodontales estudiados, se ha utilizado el test chi-cuadrado.

Para la evaluación del riesgo de pérdida de inserción, primero se realizó un análisis bivalente, explorando cada una de las variables demográficas, clínicas, microbiológicas, bioquímicas e inmunológicas, evaluadas en el estudio. Con aquellas variables que demostraron asociación en el modelo bivalente, se realizó un modelo multivalente basado en el análisis de regresión logística que trata de predecir una determinada respuesta a partir de los valores de un conjunto de variables predictivas.

E. RESULTADOS

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

E. RESULTADOS

Para la realización de este estudio de cohortes, prospectivo, se seleccionaron durante dos años los primeros 15 pacientes con periodontitis tratada y en fase de mantenimiento de cada genotipo de tal forma la muestra final incluyó 30 pacientes.

E.I. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO EN LA VISITA INICIAL

E.I.1 DATOS DEMOGRÁFICOS

La población de estudio seleccionada presentaba 11 hombres y 19 mujeres, con una media de edad de 49 años (rango 36-60 años).

De los 30 pacientes, 24 eran no fumadores. De los 6 pacientes considerados fumadores (3 mujeres y 3 hombres), 5 pertenecían al grupo genotipo negativo (GEN-) (Tabla 1).

E.I.2 DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA

En la visita inicial, la media de número de dientes presentes en los 30 pacientes evaluados fue de 28 dientes.

E.I.2.1 ÍNDICE DE PLACA (IP)

Se ha evaluado el porcentaje de localizaciones con placa bacteriana en relación con el número total de localizaciones medidas en cada paciente. La media del IP para los 30 pacientes del estudio fue de 23,0% (desviación estándar [DE] 12%). Los valores obtenidos en cada paciente oscilaban entre 3,70% y 57,81% (Fig.1).

E.I.2.2 ÍNDICE GINGIVAL (IG)

Se ha calculado del porcentaje de localizaciones con sangrado tras la exploración de la presencia de placa bacteriana, en relación con el total de localizaciones observadas en cada paciente. La media del IG para los 30 pacientes del estudio fue de 10,5% (DE 16%). Los valores de índice gingival evaluados en cada paciente oscilaron entre 0,0% y 90,0% (Fig.2).

E.I.2.3 PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PS) – PROMEDIO

En la visita inicial, la evaluación de la PS se ha realizado en 6 localizaciones de todos los dientes presentes, excepto los terceros molares. La media de la profundidad de sondaje para los 30 pacientes del estudio fue de 2,47 mm (DE 0,46).

E.I.2.4 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PS

Se ha calculado la proporción de bolsas presentes, de acuerdo con la división en tres categorías: poco profundas (1-3 mm), moderadas (4-6 mm) y profundas (>6 mm) (Fig.3). En la visita inicial, aproximadamente el 80% (DE 9%) de las localizaciones evaluadas en todos los pacientes, presentaban una profundidad de sondaje de 1-3 mm. El porcentaje de bolsas moderadas en la visita inicial fue de 19,8% (DE 9%). El porcentaje de bolsas profundas, detectadas en la evaluación de todas las localizaciones en la visita inicial fue 0,19% (DE 0,4%).

E.I.2.5 SANGRADO AL SONDAJE (SAS)

Se ha evaluado el porcentaje de localizaciones con SAS respecto al número total de localizaciones medidas en cada paciente. La media de sangrado al sondaje para los 30 pacientes del estudio fue de 14% (DE 6%). Los valores evaluados han variado entre 4,9 y 33,3% (Fig. 4).

E.I.3 DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE LOCALIZACIONES SELECCIONADAS

De acuerdo con el protocolo del estudio, se han seleccionado 8 localizaciones en cada paciente, 2 en cada cuadrante, que presentaban en la visita inicial mayor pérdida de inserción clínica.

E.I.3.1 ÍNDICE DE PLACA

El valor medio de placa bacteriana presente en las 8 localizaciones seleccionadas en los 30 pacientes del estudio en la visita inicial fue de 38% (DE 27%).

E.I.3.2 PROFUNDIDAD DE SONDAJE (PROMEDIO)

En la visita inicial, la media de PS en las localizaciones seleccionadas fue de 4,5 mm (DE 0,73). Los valores de PS evaluados en todos los pacientes del estudio oscilaron entre 2 y 9 mm.

E.I.3.3 SANGRADO AL SONDAJE

El valor medio de SAS presente en las 8 localizaciones seleccionadas en los 30 pacientes del estudio en la visita inicial fue de 32% (DE 21%).

E.I.3.4 NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO (NIC)

En la visita inicial, la media del NIC en las localizaciones seleccionadas fue de 5,7 mm (DE 1,03). Los valores del NIC evaluados a través de la PS y de la recesión gingival, en todos los pacientes del estudio osciló entre 3 y 12 mm.

E.I.4 DATOS MICROBIOLÓGICOS

Los resultados del análisis microbiológico y el estudio de los patógenos periodontales de la población de estudio de 30 pacientes en la visita inicial se describen a continuación.

Por problemas técnicos, no fue posible procesar una de las muestras, de forma que los resultados presentados se refieren a 29 pacientes.

Los resultados de **cuantificación de la flora total**, calculados en Unidades Formadoras de Colonia por mL (UFC/mL) de los pacientes, tuvo un rango entre 1.24×10^3 y 1.16×10^8 , con un valor medio de 7.36×10^6 . En términos generales, existe una fuerte dispersión de los resultados respecto a la media.

La evaluación individual de los patógenos periodontales ha permitido analizar la presencia o ausencia de cada patógeno, y cuantificar y identificar la proporción que representa cada patógeno en la flora total.

En la visita inicial, no se detectó la presencia de *A. actinomycetemcomitans* en la flora bacteriana de ningún de los pacientes evaluados.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Todos los demás patógenos periodontales estudiados (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *P. micra*, *C. rectus* y *F. nucleatum*) fueron detectados en algún paciente. El análisis de frecuencia de detección permite enumerar los patógenos más frecuentemente detectados: *F. nucleatum* (93%), *P. intermedia* (82%) y *P. gingivalis* (51%).

Respecto a la **cuantificación de cada patógeno en la flora total** (UFC/ml), las especies *P. gingivalis* y *P. intermedia* presentaron los valores más elevados, en el total de las muestras y en la evaluación específica de las muestras positivas.

El análisis de la **proporción media de cada patógeno** permite concluir que *P. gingivalis*, cuando está presente, representa la mayor proporción de la flora total (cerca de 24% en promedio). Los demás patógenos evaluados, cuando se detectaban, representan proporciones medias inferiores a 10% de la flora total.

Tabla 1. Datos demográficos de la población de estudio

Edad (años)	media 49	mínimo 36	máximo 60
Sexo (n)	total 30	mujeres 19	hombres 11
Tabaco (n)	total 30	fumador 6	no fumador 24

Figura 1. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Índice de Placa (%), visita inicial

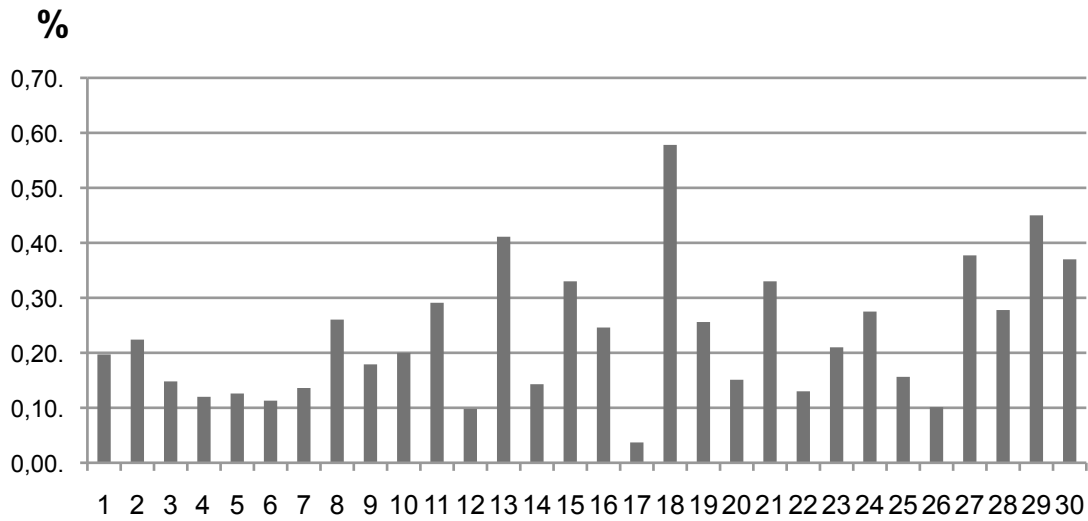


Figura 2. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Índice Gingival (%), visita inicial

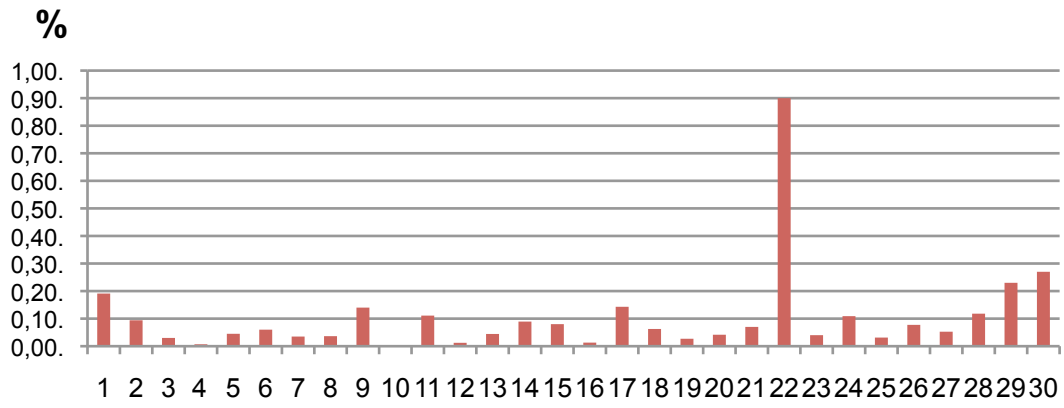


Figura 3. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Proporción de diferentes categorías de profundidades de sondaje (PS) en %, visita inicial

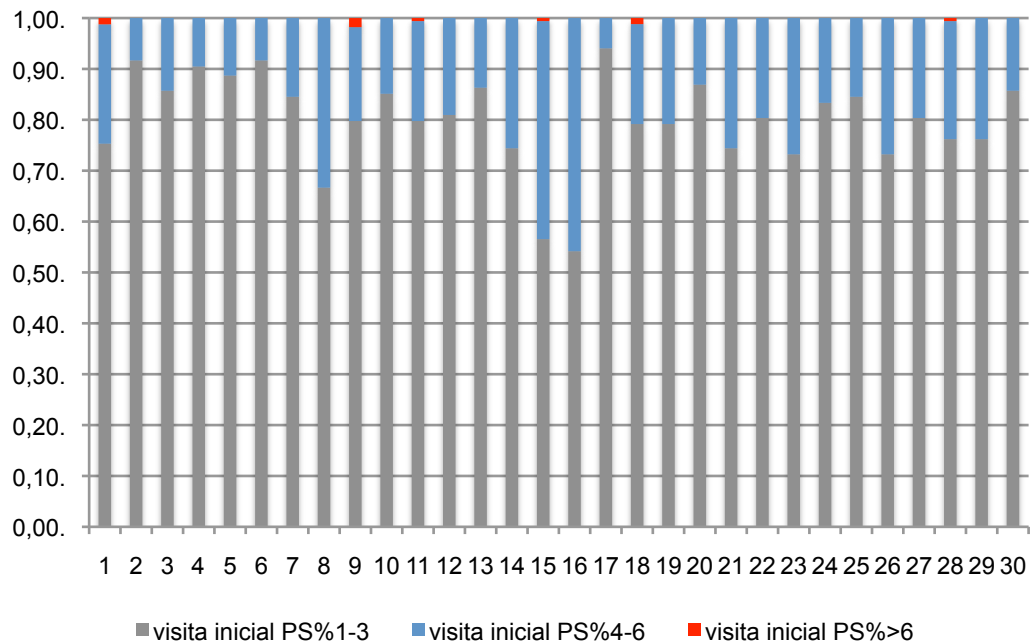
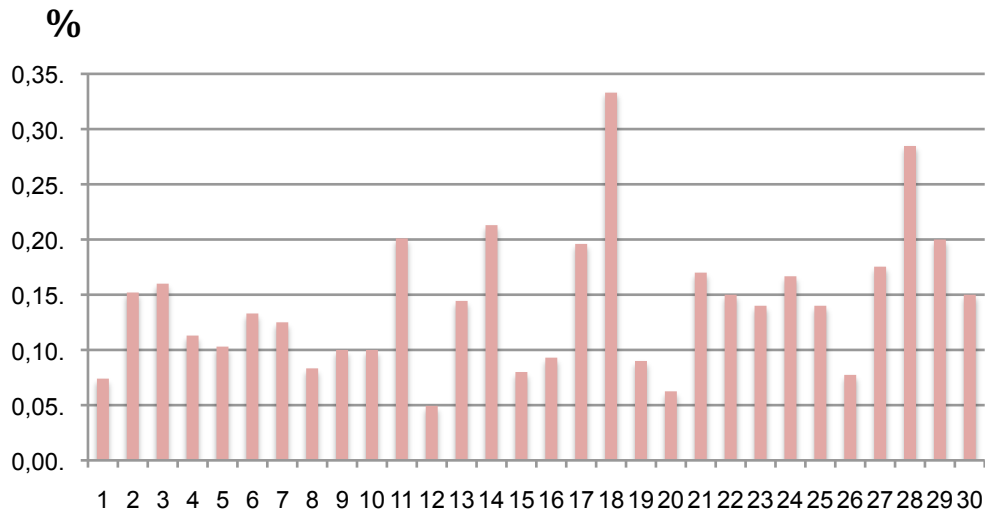


Figura 4. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Sangrado al Sondaje (%), visita inicial



E.II. COMPARACIÓN DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO EN LA VISITA INICIAL

E.II.1 DATOS DEMOGRÁFICOS

La realización del test genético de susceptibilidad a la periodontitis (PST) permitió dividir a los pacientes en dos cohortes: el grupo genotipo positivo, con test PST positivo (GEN+), constituido por 15 pacientes, 5 hombres y 10 mujeres, con una media de edad de 51,4 años (rango 36-60 años); y el grupo genotipo negativo, con test PST negativo (GEN-) con 15 pacientes, 6 hombres y 9 mujeres, con una media de edad de 46,5 años (rango 37-60 años).

De los 30 pacientes, 24 eran no fumadores. La mayoría de los pacientes fumadores (cinco) pertenecían al grupo GEN-.

La comparación de los parámetros edad, sexo y hábitos, aparece señalada en la Tabla 2. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de estudio respecto a la distribución por sexo y edad (Figs. 5 y 6). Sin embargo, es evidente una mayor proporción de fumadores en el grupo GEN- (Fig.7).

E.II.2 DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA

En la visita inicial, la media de número de dientes presentes fue de 27,9 en el grupo GEN- (DE 0,3) y 28,0 en el grupo GEN+ (DE 0,0). La diferencia entre los grupos no fue estadísticamente significativa ($p=0,325$).

La comparación, entre los dos grupos, de las variables clínicas estudiadas se describe a continuación.

E.II.2.1 ÍNDICE DE PLACA

En la visita inicial, la mayoría de los pacientes del grupo GEN- presentaban valores de IP inferiores al 20% mientras que en el grupo GEN+ 10 de los 15 pacientes presentaban valores de IP superiores al 20%. Sin embargo, el valor medio de IP entre los pacientes del grupo GEN- fue 20% (DE 9%) y entre los pacientes del grupo GEN+ fue 26% (DE 14%) y la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,149$) (Fig. 8).

E.II.2.2 ÍNDICE GINGIVAL

En la visita inicial, todos los pacientes del grupo GEN- presentaban un valor de IG inferior al 20% mientras que, en el grupo GEN+, 3 de los 15 pacientes presentaban valores de IG superiores al 20%. Se destaca un paciente en particular, con IG de 90%. Sin embargo, el valor medio de IG entre los pacientes del grupo GEN- fue 7% (DE 5%) y entre los pacientes de grupo GEN+ fue 15% (DE 22%). La diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,180$) (Fig. 9)

E.II.2.3 PROFUNDIDAD DE SONDAJE

El valor medio de PS fue de 2,66 mm (DE 0,40) para los pacientes del grupo GEN- y de 2,29 mm (DE 0,45) para los pacientes del grupo GEN+. La diferencia entre los dos grupos de estudio fue estadísticamente significativa ($p=0,022$) (Fig.10).

E.II.2.4 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PROFUNDIDAD DE BOLSA

En la visita inicial, aproximadamente 80% (DE 9%) de las localizaciones evaluadas en los pacientes de ambos grupos, presentaban una PS de 1-3 mm. No se han detectado diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de estudio ($p=0,480$). El porcentaje de bolsas moderadas, en la visita inicial, en los pacientes del grupo GEN- fue de 18,5% (DE 10%) y de 21% (DE 9%) en los pacientes del grupo GEN+. La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa ($p=0,448$). En la visita inicial, el porcentaje de bolsas profundas, detectadas en la evaluación de los pacientes del grupo GEN- y del grupo GEN+ fue aproximadamente 0%. No se han detectado diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de estudio ($p=0,339$) (Fig.11).

E.II.2.5 SANGRADO AL SONDAJE

La media de SAS, en la visita inicial, de los pacientes del grupo GEN- fue 12% (DE 5%). Los valores evaluados han variado entre 4,9% y 21,3%. La media de SAS de los 15 pacientes del grupo GEN+ fue de 16% (DE 7%). Los valores evaluados han variado entre 6,2% e 33,3%. La diferencia entre los grupos demuestra una tendencia para la significación estadística ($p=0,085$) (Fig.12).

E.II.3 DATOS CLÍNICOS: ANÁLISIS DE LAS LOCALIZACIONES SELECCIONADAS

Las dos localizaciones en cada cuadrante con mayor pérdida de inserción, fueron seleccionadas y evaluadas específicamente en los pacientes del grupo GEN- y del grupo GEN+.

E.II.3.1 ÍNDICE DE PLACA

En los pacientes grupo GEN-, la media del IP fue 31,6% (DE 26,6%), mientras que la media de IP en las 8 localizaciones seleccionadas de los pacientes del grupo GEN+ fue 45,8% (DE 27,4%). La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa ($p=0,162$) (Fig. 13).

E.II.3.2 PROFUNDIDAD DE SONDAJE

La PS media, en la visita inicial, de las localizaciones seleccionadas, fue 4,53 mm (DE 0,63) para los pacientes del grupo GEN- y de 4,47 mm (DE 0,83) para los pacientes del grupo GEN+. La diferencia entre los dos grupos de estudio no fue estadísticamente significativa ($p= 0,808$) (Fig. 14).

E.II.3.3 SANGRADO AL SONDAJE

Los resultados del SAS de las 8 localizaciones en la visita inicial indican una media de 25,8% (DE 15,2%) para los pacientes del grupo GEN- y de 40,0% (DE 24,1%) para los pacientes del grupo GEN+. La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa, aunque se puede observar una tendencia hacia la significación estadística ($p=0,065$) (Fig. 15).

E.II.3.4 NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO

En la visita inicial, la media del NIC en las localizaciones seleccionadas de los pacientes de grupo GEN- fue de 5,6 mm (DE 0,97) y de 5,7 mm (DE 1,11) para el grupo GEN+. La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa ($p=0,795$) (Fig. 16).

E.II.4 DATOS MICROBIOLÓGICOS

Los resultados de cuantificación de la flora total, calculados en unidades formadoras de Colonia, en 14 pacientes del grupo GEN-, oscilaron entre 1240 y $2,3 \times 10^7$, con un valor medio de $2,98 \times 10^6$. La muestra de placa bacteriana de uno de los pacientes (a15) no aparece en los resultados por problemas técnicos al cultivarla. Por otro lado, los resultados de cuantificación de la flora total, de los 15 pacientes del grupo GEN+, oscilaron entre $4,2 \times 10^4$ y $1,16 \times 10^8$, con un valor medio de $1,14 \times 10^7$ (UFC/mL).

En términos generales, existe una fuerte dispersión de los resultados respecto a la media (Fig.17 a y b). Además, se puede destacar la presencia de un paciente en cada grupo [GEN- (a12) y GEN+ (b9)] con valores de UFC/mL muy alejados de los obtenidos en los restantes pacientes del grupo, lo que parece contribuir a la heterogeneidad de los resultados.

La comparación entre los dos grupos no arrojó diferencias estadísticamente significativas ($p=0,303$).

La evaluación de la frecuencia de detección de cada patógeno periodontal estudiado, en cada grupo de pacientes, encontró que el patógeno más frecuente fue *F. nucleatum* (detectado en 13 de 14 pacientes - 92,86% grupo GEN- y 14 de 15 pacientes - 93,33% grupo GEN+), seguido de *P. intermedia* (detectada en 11 de 14 pacientes - 78,57% grupo GEN- y 13 de 15 pacientes - 86,67% grupo GEN+) y de *P. gingivalis* (detectado en 7 de 14 pacientes - 50,00% grupo GEN- y 8 de 15 pacientes - 53,33% grupo GEN+).

Por otro lado, *T. forsythia* fue el patógeno periodontal estudiado menos frecuente en la placa bacteriana subgingival de los pacientes del grupo GEN- (14,29%) y del grupo GEN+ (13,33%).

A pesar de que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio, *P. micra* fue detectada en 21,43% de los pacientes del grupo GEN- y en 40,00% de los pacientes del grupo GEN+ (Tabla 3).

La proporción media de cada patógeno en las muestras positivas también fue evaluada. *P. gingivalis* representaba, cuando estaba presente, cerca de 24% de la flora en los pacientes de ambos grupos. Los demás patógenos evaluados representaron proporciones inferiores a 10%. En el grupo GEN-, *P. intermedia* y *C. rectus* tuvieron

mayor proporción mientras, que en el grupo GEN+ aparecen con mayores proporciones *T. forsythia* y *F. nucleatum* (Tabla 3).

La media de **unidades formadoras de colonia de cada patógeno** en el total de las muestras evaluadas, y sólo en las muestras positivas, está representada en la Tabla 4. Las muestras de placa bacteriana de los pacientes del grupo GEN+ presentan valores más elevados de colonias bacterianas de *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *T. forsythia* en total y en las muestras positivas.

Por otro lado, *P. micra* fue el único patógeno con mayor número de colonias en el grupo GEN- (Tabla 4).

Tabla 2. Datos demográficos en ambos grupos de estudio

		Grupo GEN-	Grupo GEN+
sexo	total	15	15
	mujeres	9	10
	hombres	6	5
edad	media	46,5	51,4
	DE	7,1	8,9
	mínimo	39,4	42,4
	máximo	55,6	60,4
tabaco	fumador	5	1
	no fumador	10	14

DE, Desviación Estándar

Figura 5. Distribución por sexo en ambos grupos de estudio

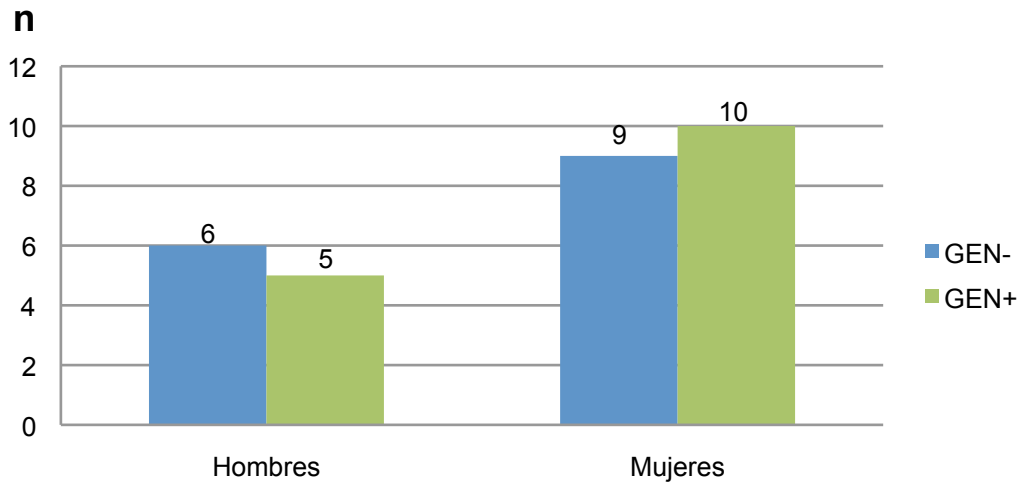


Figura 6. Distribución por edad en ambos grupos de estudio

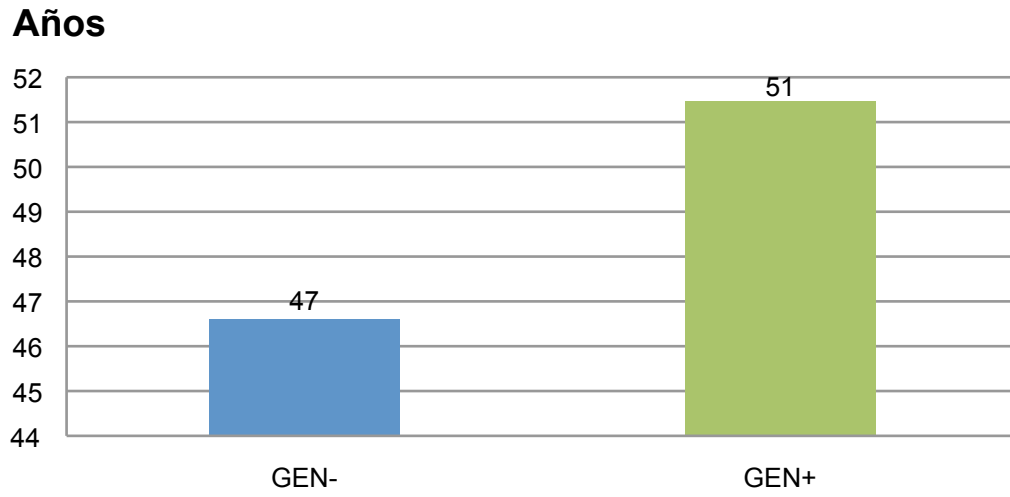


Figura 7. Distribución por hábito de fumar en ambos grupos de estudio

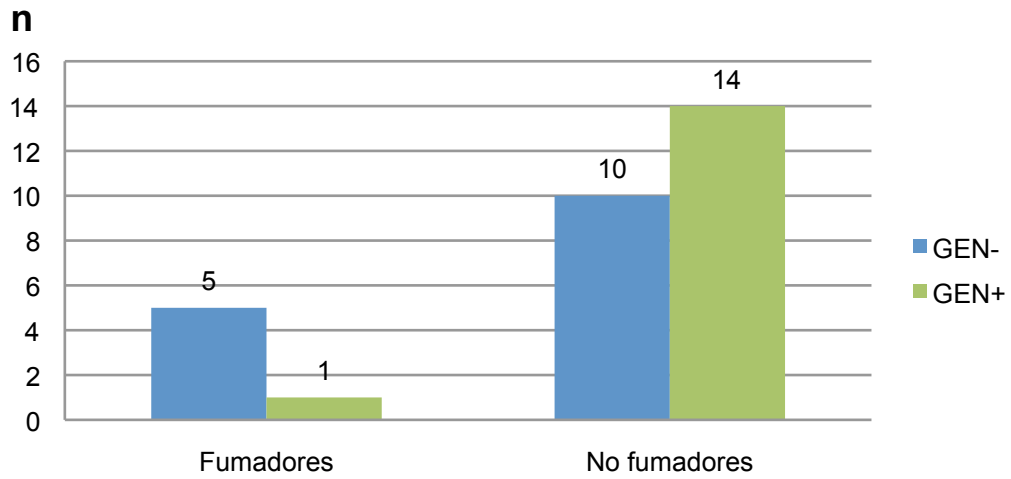


Figura 8. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Índice de Placa (IP en %), visita inicial en ambos grupos

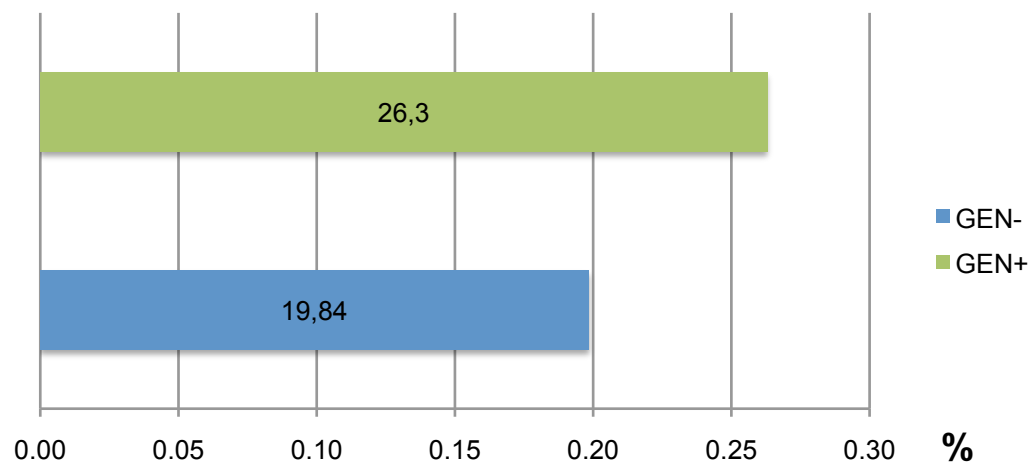


Figura 9. Datos clínicos en el análisis de boca completa: índice gingival (IG en %), visita inicial en ambos grupos

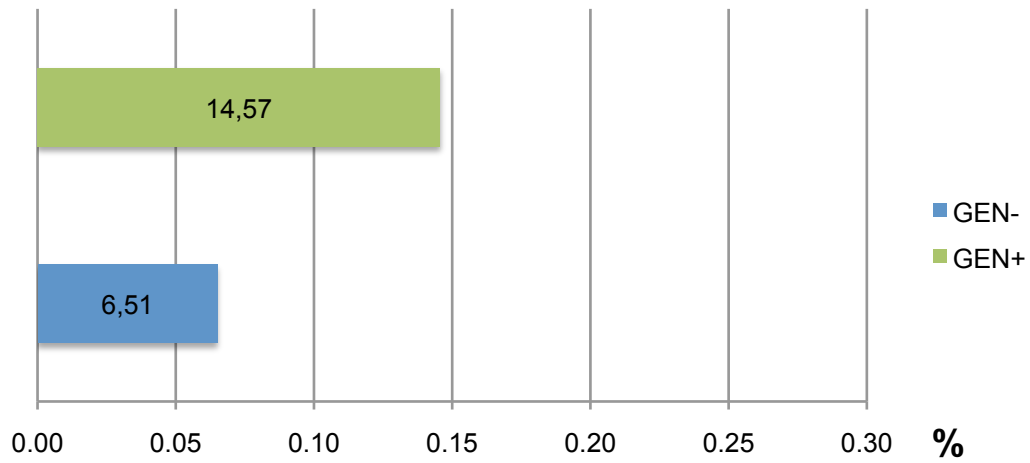


Figura 10. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Profundidad de sondaje media (PS en mm), visita inicial en ambos grupos

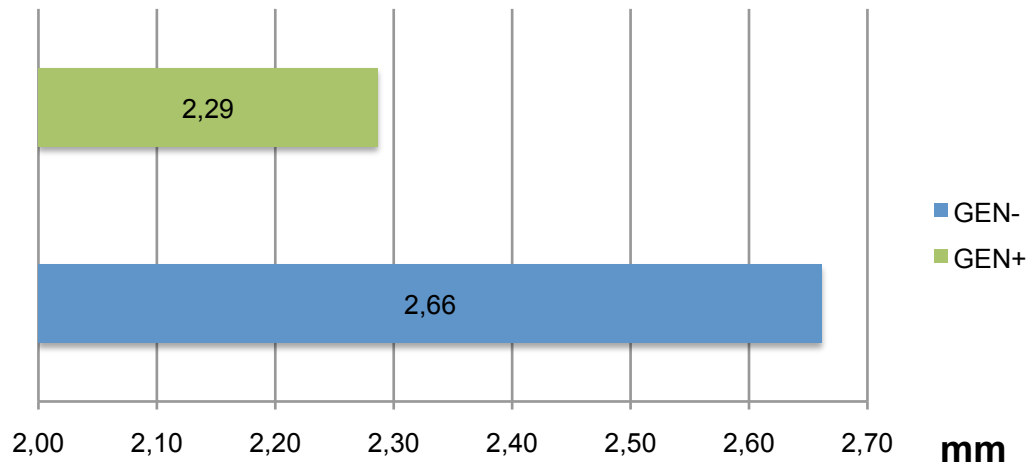


Figura 11. Datos clínicos en el análisis de boca completa: distribución de frecuencias de diferentes categorías de profundidad de bolsa (en %), visita inicial en ambos grupos

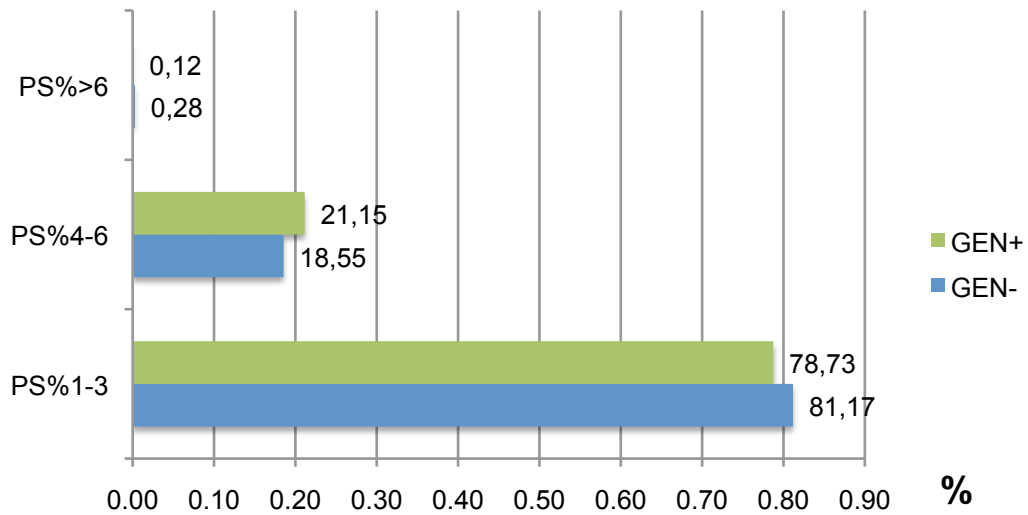


Figura 12. Datos clínicos en el análisis de boca completa: Sangrado al Sondaje (SAS en %), visita inicial en ambos grupos

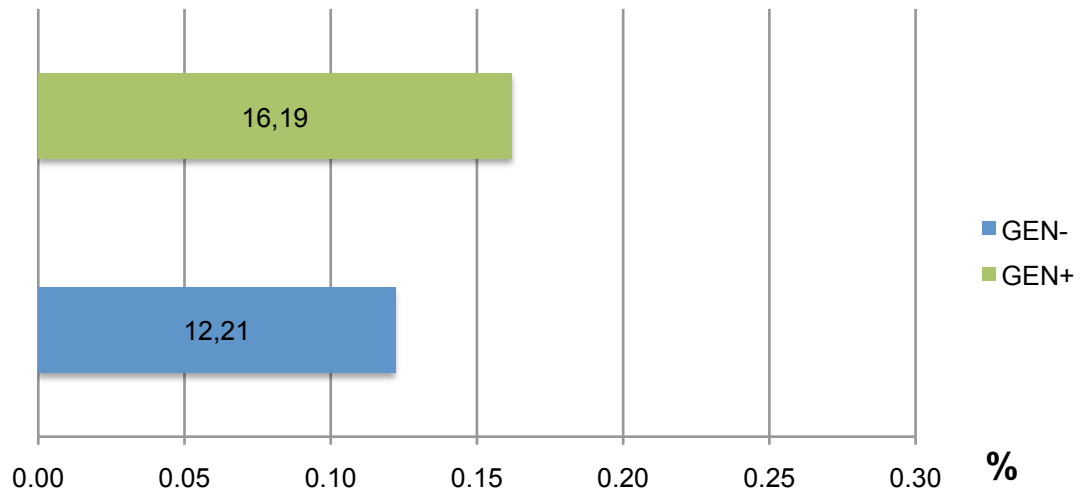


Figura 13. Datos clínicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Índice de Placa (IP en %), visita inicial en ambos grupos

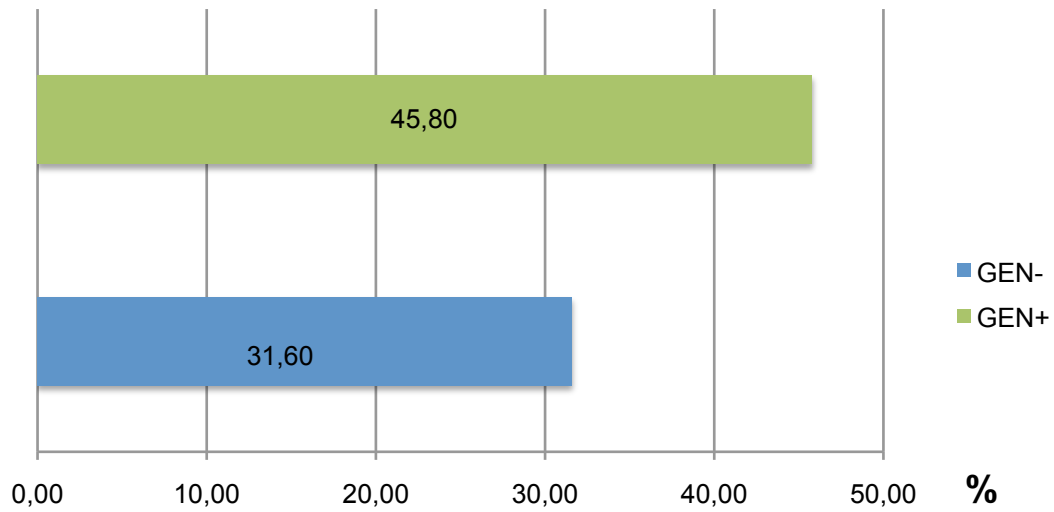


Figura 14. Datos clínicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Profundidad de Sondaje media (PS en mm) y Desviación Estándar (DE), visita inicial en ambos grupos

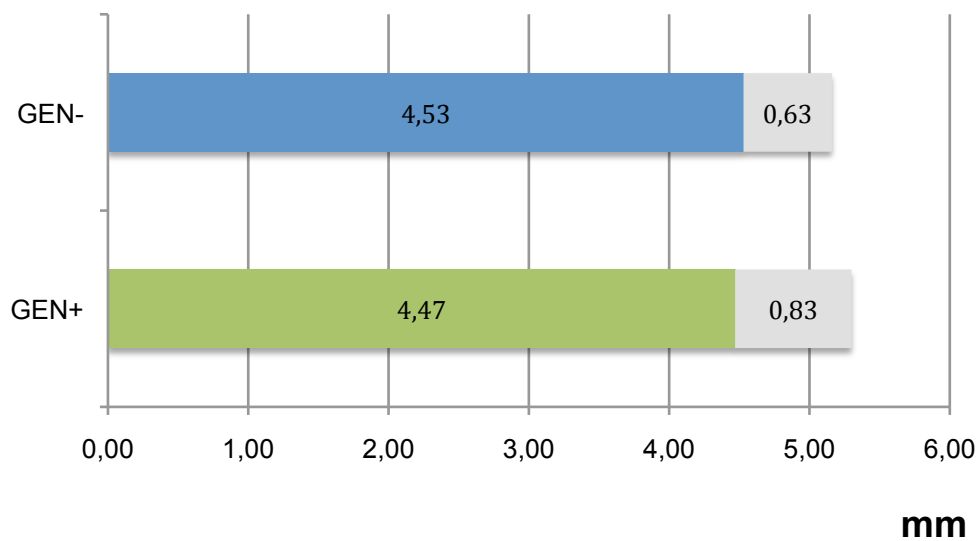


Figura 15. Datos clínicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Sangrado al Sondaje (SAS en %), visita inicial en ambos grupos

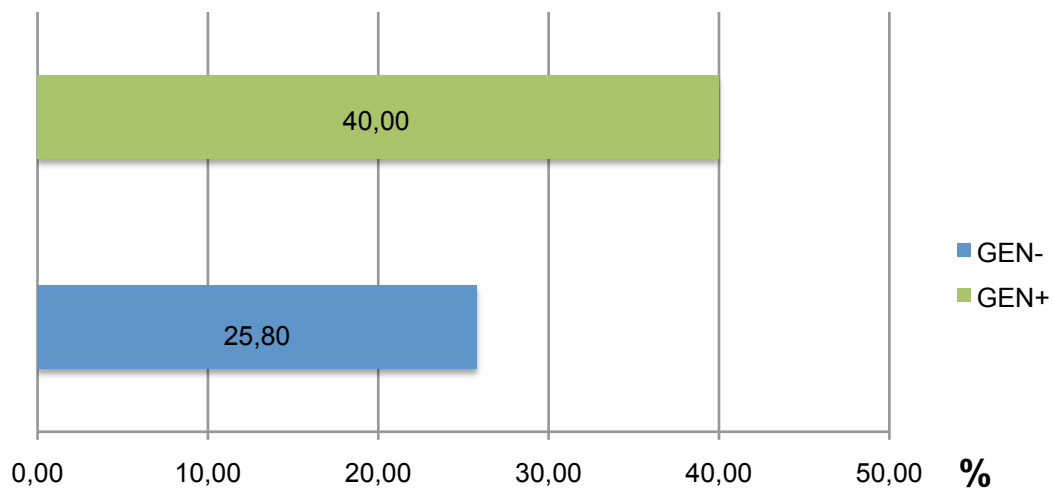


Figura 16. Datos clínicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Nivel de inserción clínico (mm) y Desviación Estándar (DE), visita inicial en ambos grupos

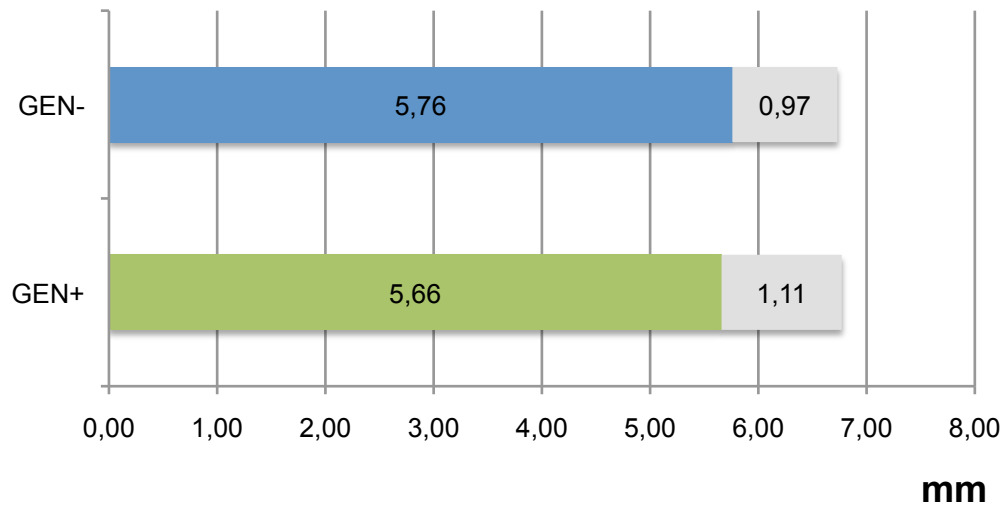
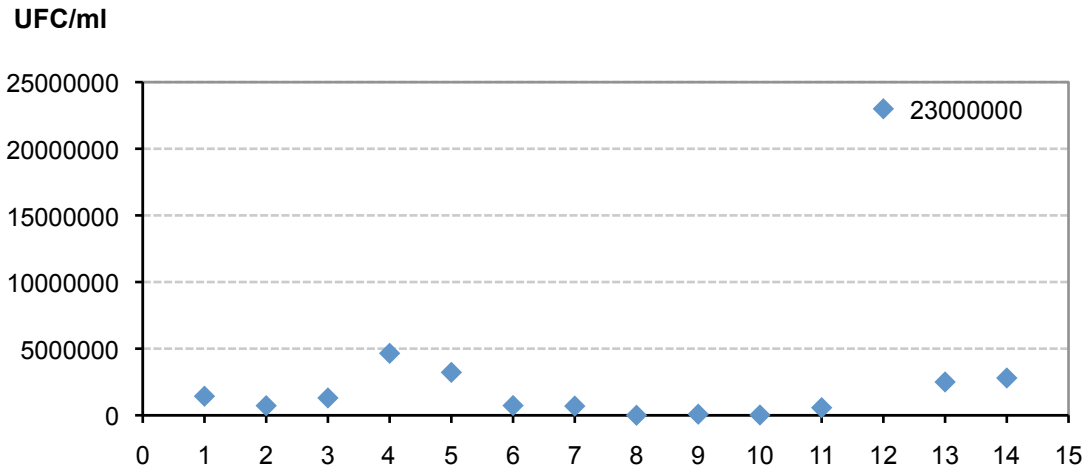
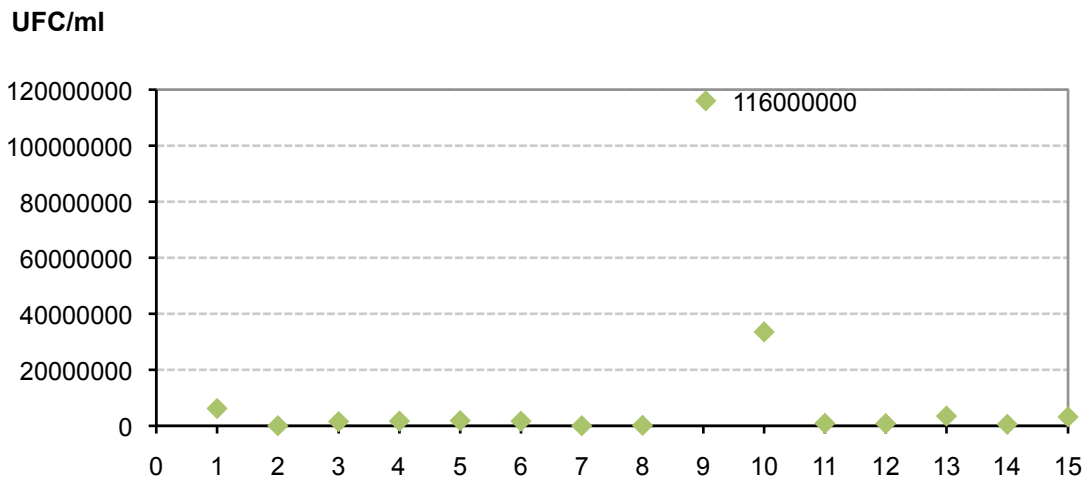


Figura 17. Datos microbiológicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Cuantificación Flora Total (UFC/mL), visita inicial grupo GEN – (a), grupo GEN+ (b)



a.



b.

Tabla 3. Datos microbiológicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Frecuencia de Detección (%) y Proporción media (%) de cada patógeno en la flora, visita inicial en ambos grupos de estudio

Frecuencia de Detección (%)							
	Aa	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn
GEN-	0,00	50,00	78,57	14,29	21,43	35,71	92,86
GEN+	0,00	53,33	86,67	13,33	40,00	40,00	93,33
Proporción media (%)							
	Aa	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn
GEN-	0,00	24,91	5,15	3,02	3,31	3,30	6,69
GEN+	0,00	24,18	3,75	6,54	3,52	0,80	9,20

Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 4. Datos microbiológicos en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) media de cada patógeno en la flora total y sólo en las muestras positivas, visita inicial en ambos grupos de estudio

UFC/ml media								
	Total	Aa	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn
GEN-	2,98x10 ⁶	0	2,02x10 ⁵	6,52x10 ⁴	9,55x10 ³	1,16x10 ⁵	1,20x10 ⁴	1,11x10 ⁵
GEN+	1,14x10 ⁷	0	7,57x10 ⁶	5,51x10 ⁵	7,88x10 ⁴	1,12x10 ⁴	1,50x10 ⁴	3,74x10 ⁵
UFC/ml muestras positivas								
	Aa	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn	
GEN-	0	4,03x10 ⁵	8,30x10 ⁴	6,68x10 ⁴	5,41x10 ⁵	3,37x10 ⁴	1,20x10 ⁵	
GEN+	0	1,42x10 ⁷	6,36x10 ⁵	5,91x10 ⁵	2,81x10 ⁴	3,76x10 ⁴	4,01x10 ⁵	

Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*

E.III. ANÁLISIS INTERGRUPO DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS DURANTE EL ESTUDIO

E.III.1 VARIABLES CLÍNICAS: ANÁLISIS DE BOCA COMPLETA

El promedio de número de dientes presentes durante los 12 meses del estudio se mantuvo sin diferencias significativas entre los pacientes de ambos grupos. Se observó la pérdida de un diente, por fractura, en un paciente del grupo GEN- entre las visitas inicial y 3 meses.

E.III.1.1 ÍNDICE DE PLACA

La evolución de los valores medios de IP se pueden observar en la Figura 18 y en la Tabla 5. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de estudio en las distintas visitas. Sin embargo, se ha observado una diferencia estadísticamente significativa en la evolución de los 30 pacientes evaluados ($p=0,013$), desvelando una disminución global del IP de 23,07% a 14,42%, desde la visita inicial hasta los 12 meses de observación. En general, se puede observar una mayor reducción de los valores medios del IP en los pacientes del grupo GEN+, que mostró una tendencia a la significación ($p=0,083$).

E.III.1.2 ÍNDICE GINGIVAL

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de IG entre los dos grupos de estudio en las distintas visitas (Fig. 19, Tabla 6). Sin embargo, se puede observar una tendencia para un mayor reducción en los pacientes del grupo GEN+ ($p=0,079$).

E.III.1.3 PROFUNDIDAD DE SONDAJE

La evolución de los valores de PS promedio en ambos grupos demuestra pequeñas alteraciones durante los 12 meses del estudio. Sin embargo, la reducción observada fue estadísticamente significativa ($p=0,012$). La diferencia descrita en el valor medio de PS en

la visita inicial entre los dos grupos, se mantuvo en las diferentes visitas. No se observaron diferencias en los cambios ocurridos entre los pacientes de ambos grupos ($p=0,750$) (Fig. 20, Tabla 7).

E.III.1.4 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE DIFERENTES CATEGORÍAS DE PROFUNDIDAD DE BOLSA

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la proporción de bolsas de 1-3 mm entre los pacientes de los dos grupos de estudio en las distintas visitas (Fig. 21). Las diferencias en las proporciones promedio de bolsas de 1-3 mm entre los grupos no fueron estadísticamente significativas ($p=0,542$). Además, no se observaron diferencias significativas en la evolución de los 30 pacientes del estudio ($p=0,506$) ni tampoco en la comparación global entre los dos grupos al final del estudio ($p=0,907$) (Tabla 8).

Los valores medios de proporción de bolsas de 4-6 mm en ambos grupos y en las distintas visitas se pueden observar en la Tabla 9. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p=0,322$); sin embargo, se puede observar una tendencia para una disminución significativa de bolsas de 4-6 mm entre las visitas 3-6 meses, 6-9 meses y 9-12 meses para los 30 pacientes evaluados ($p=0,06$) (Fig. 22).

No se han observado diferencias estadísticamente significativas en la proporción de bolsas > 6 mm entre los pacientes de los dos grupos de estudio en las distintas visitas (Tabla 10). Tampoco se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la evolución de los 30 pacientes ($p=0,884$) y entre los dos grupos al final del estudio ($p=0,349$) (Fig. 23).

E.III.1.5 SANGRADO AL SONDAJE

Los cambios ocurridos en los valores medios de SAS en las distintas visitas de los dos grupos de estudio se pueden observar en la Tabla 11. A pesar de la tendencia hacia la significación estadística en la comparación de los valores de la visita ($p=0,086$), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio durante los 12 meses de evaluación. Sin embargo, cuando se analizó la evolución de los 30

pacientes entre la visita inicial y la visita 12 meses, se observó una disminución global del SAS, con tendencia hacia la significancia estadística ($p=0,094$) (Fig. 24).

E.III.2 VARIABLES CLÍNICAS: ANÁLISIS DE LAS LOCALIZACIONES SELECCIONADAS

E.III.2.1 ÍNDICE DE PLACA

No se han detectado diferencias estadísticamente significativas en los valores medios del IP en las localizaciones seleccionadas, cuando se compararon los pacientes de los grupos GEN- y GEN+ en las distintas visitas del estudio (Tabla 12). En la evolución de los valores de IP entre los 30 pacientes no hubo cambios estadísticamente significativos ($p=0,307$), tampoco en la comparación global entre los dos grupos al final del estudio ($p=0,120$).

E.III.2.2 PROFUNDIDAD DE SONDAJE

La comparación de los valores medios de PS, en las distintas visitas de ambos grupos, se puede observar en la Tabla 13. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de estudio ($p=0,475$); sin embargo, se pueden destacar diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$) en la evolución de los valores de los 30 pacientes, demostrando una reducción de la PS desde la visita inicial hasta la visita 12 meses (Fig. 25).

E.III.2.3 SANGRADO AL SONDAJE

No se han detectado diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de SAS, entre los dos grupos de estudio, en las diferentes visitas (Tabla 12). Sin embargo, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,010$) en la evolución de los valores de los 30 pacientes, manifestando una disminución del SAS en las localizaciones seleccionadas entre las diferentes visitas.

E.III.2.4 NIVEL DE INSERCIÓN CLÍNICO

Los valores medios de NIC en las localizaciones seleccionadas de los pacientes de ambos grupos en las diferentes visitas, se pueden apreciar en la Tabla 13. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio ($p=0,171$), ni tampoco en la comparación global entre los dos grupos al final del estudio ($p=0,720$). La disminución de los valores de NIC de los 30 pacientes del estudio, manifiesta una tendencia hacia la significancia estadística ($p=0,088$) (Fig. 26).

E.III.3 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Durante los 12 meses de evaluación clínica de los pacientes del estudio, se realizaron tomas de muestra de placa bacteriana subgingival a los pacientes en paralelo con la evaluación clínica, en las localizaciones que presentaran actividad de enfermedad, de acuerdo con el protocolo del estudio.

Así, en los distintos tiempos de observación se ha realizado el análisis microbiológico y estudio de los patógenos periodontales a los siguientes pacientes:

	GEN-		GEN+	
	nº	pacientes	nº	pacientes
inicial	14*	a1 a a14	15	b1 a b15
3 meses	9	a1, a2, a3, a4, a6, a7, a8, a10, a12	5	b2, b7, b8, b9, b12
6 meses	9	a1, a2, a3, a4, a6, a7, a8, a9, a11	4	b1, b2, b4, b7
9 meses	3	a5, a6, a7	7	b3, b5, b6, b8, b8, b10, b14
12 meses	5	a4, a5, a6, a7, a8	1	b10

* por problemas técnicos no evaluó la muestra del paciente a15

Los datos microbiológicos más relevantes son aquellos aportados por la evaluación basal, como factor de riesgo para pérdida de inserción futura. Los resultados microbiológicos de las localizaciones que habían perdido inserción en cada visita del

estudio, permiten una descripción de las características de las mismas, así como la comparación de los hallazgos entre los dos grupos.

Los resultados de **cuantificación de la flora total** (UFC/mL), han sido analizados durante los distintos períodos de observación, como se representa en la Fig. 27.

El análisis comparativo de las medias permite concluir que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes en las diferentes visitas (Tabla 14).

La **frecuencia de detección** de cada patógeno periodontal en cada grupo de estudio y en las diferentes visitas está representada, en porcentaje, en la Tabla 15. A pesar de la imposibilidad de comparación entre los dos grupos de estudio de los valores de cada patógeno en cada visita se puede decir, de forma general, que el patógeno periodontal más frecuente en ambos grupos y en la mayoría de las visitas fue *F. nucleatum*. Otros patógenos, como *P. intermedia* y *P. gingivalis*, aparecieron en porcentajes elevados en las distintas visitas cuando es evaluado cada grupo aislado, pero con frecuencias diferentes en la comparación entre grupos de estudio. No se detectó *A. actinomycetemcomitans* en ninguna muestra evaluada durante el estudio.

P. gingivalis representó la mayor **proporción de la flora** de todos los patógenos evaluados, en la mayoría de las visitas, en ambos grupos de estudio (Tabla 16).

La media de **unidades formadoras de colonia de cada patógeno** en el total de las muestras evaluadas y sólo en las muestras positivas está representada en las Tablas 17 y 18.

Figura 18. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: Índice de Placa (IP en %) en cada visita de estudio para ambos grupos

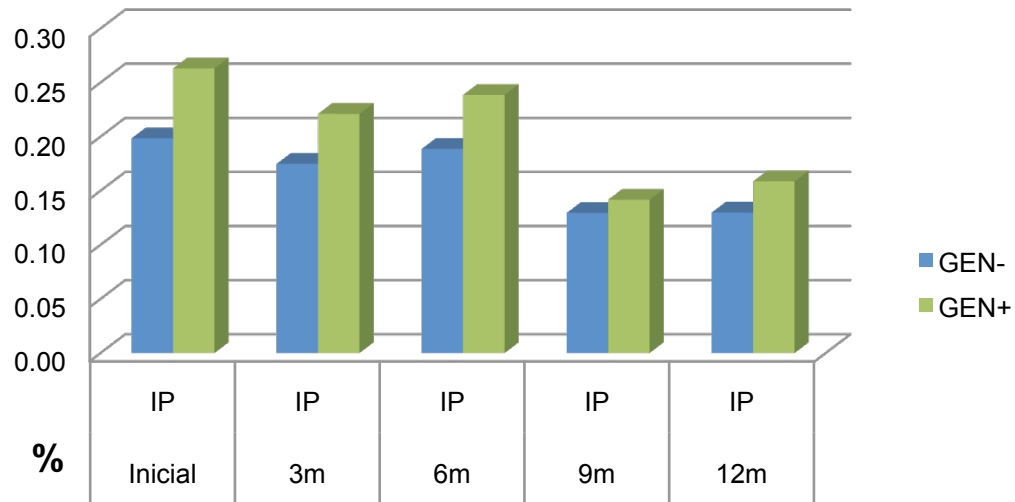


Tabla 5. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación del Índice de Placa (IP en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

IP (%)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	19,84	9,04	26,30	14,28	0,150
3 meses	17,48	10,43	22,10	12,02	0,271
6 meses	18,86	12,22	23,85	19,22	0,403
9 meses	12,94	8,31	14,16	6,23	0,654
12 meses	12,98	8,82	15,86	11,05	0,437

DE, Desviación Estándar

Figura 19. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: Índice gingival (IG en %) en cada visita de estudio para ambos grupos

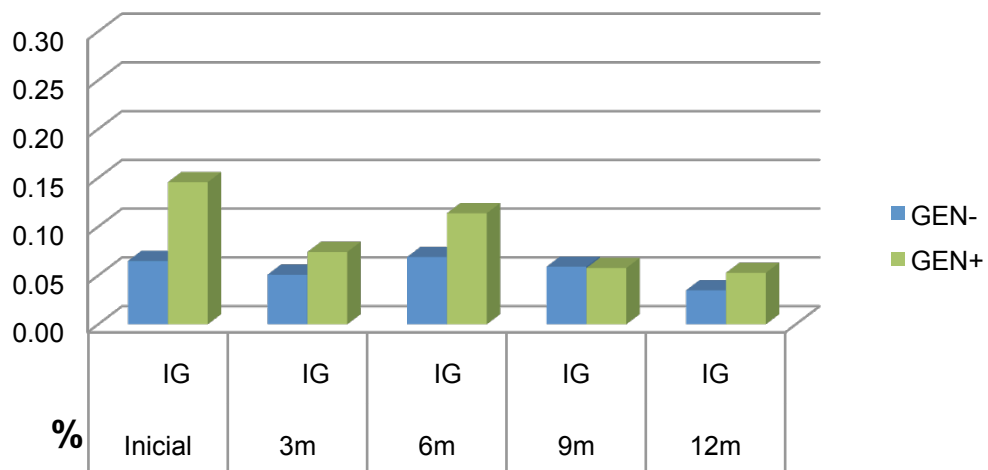


Tabla 6. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación del Índice gingival (IG en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

IG (%)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	6,50	5,31	14,57	22,14	0,181
3 meses	5,09	5,88	7,42	5,78	0,283
6 meses	6,90	5,08	11,39	19,45	0,394
9 meses	5,91	3,99	5,77	4,85	0,932
12 meses	3,49	2,92	5,28	6,09	0,314

DE, Desviación Estándar

**Figura 20. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa:
Profundidad de Sondaje media (PS en mm) en cada visita de estudio para ambos
grupos**

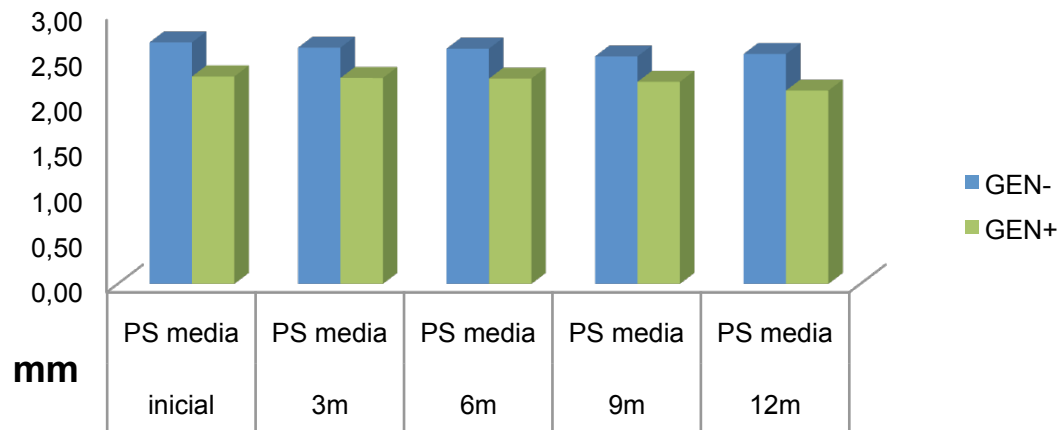


Tabla 7. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación de la Profundidad de Sondaje media (PS en mm) para ambos grupos en cada visita de estudio

PS (mm)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	2,66	0,40	2,29	0,45	0,023
3 meses	2,60	0,29	2,27	0,46	0,024
6 meses	2,59	0,28	2,26	0,52	0,039
9 meses	2,51	0,27	2,23	0,49	0,064
12 meses	2,53	0,23	2,13	0,40	0,002

DE, Desviación Estándar

**Figura 21. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa:
Proporción de bolsas 1-3 mm (en %) en cada visita de estudio para ambos grupos**

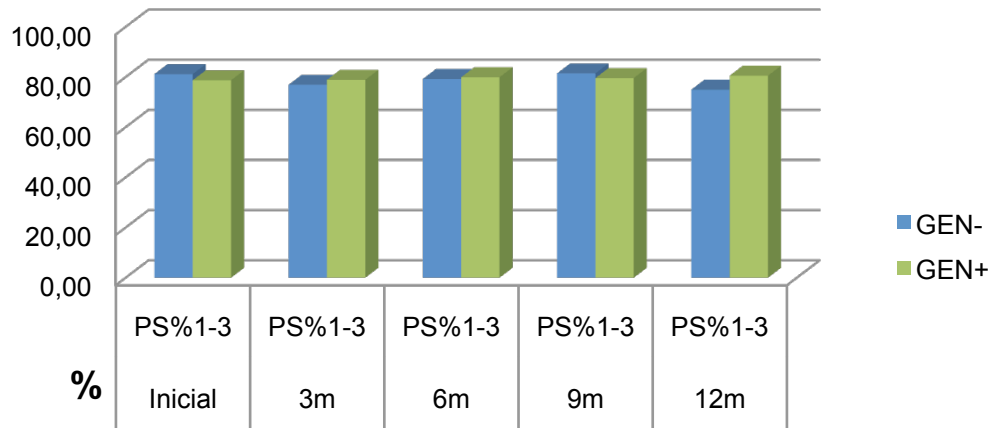


Tabla 8. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación de la Proporción de bolsas de 1-3 mm (en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

PS 1-3 mm	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	81,17	9,78	78,73	8,89	0,480
3 meses	76,92	7,73	78,89	7,58	0,487
6 meses	79,23	7,65	79,92	13,08	0,861
9 meses	81,45	6,00	79,60	11,52	0,587
12 meses	74,97	21,73	80,54	13,04	0,402

DE, Desviación Estándar

**Figura 22. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa:
Proporción de bolsas 4-6 mm (en %) en cada visita de estudio para ambos grupos**

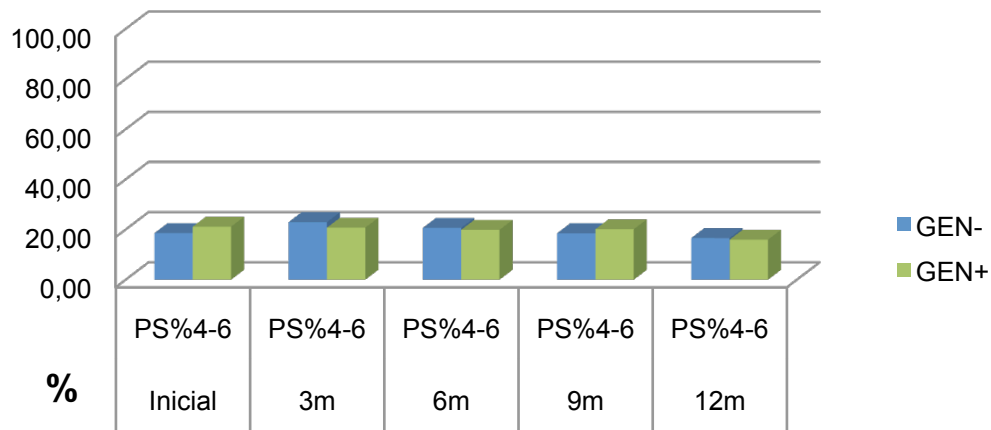


Tabla 9. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación de la Proporción de bolsas de 4-6 mm (en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

PS 4-6 mm	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	18,55	9,61	21,15	8,89	0,448
3 meses	22,96	7,61	20,75	7,10	0,419
6 meses	20,65	7,65	19,88	13,05	0,845
9 meses	18,51	5,98	20,12	11,47	0,634
12 meses	16,62	8,17	15,96	8,87	0,834

DE, Desviación Estándar

**Figura 23. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa:
Proporción de bolsas >6 mm en cada visita de estudio para ambos grupos**

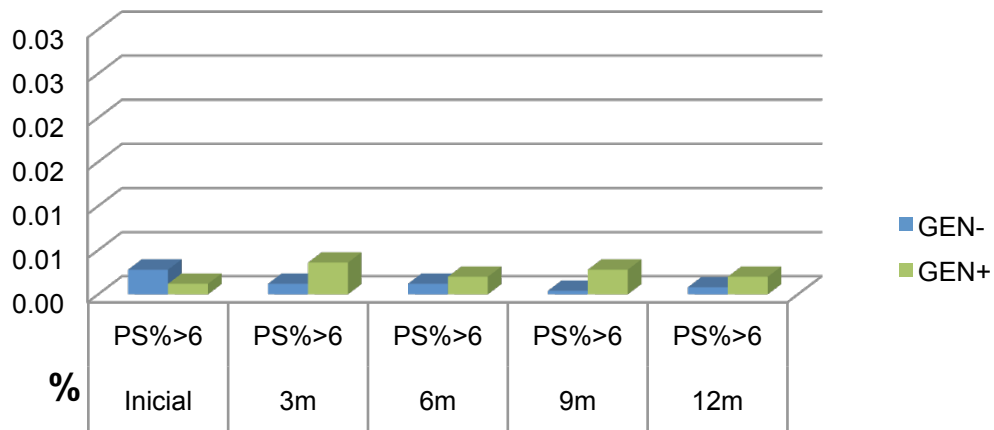


Tabla 10. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación de la Proporción de bolsas de >6 mm (en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

PS >6 mm	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	0,28	0,55	0,12	0,33	0,339
3 meses	0,12	0,33	0,36	0,80	0,299
6 meses	0,12	0,33	0,20	0,49	0,606
9 meses	0,04	0,15	0,28	0,74	0,234
12 meses	0,08	0,31	0,20	0,49	0,429

DE, Desviación Estándar

**Figura 24. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa:
Sangrado al Sondaje (SAS en %) en cada visita de estudio para ambos grupos**

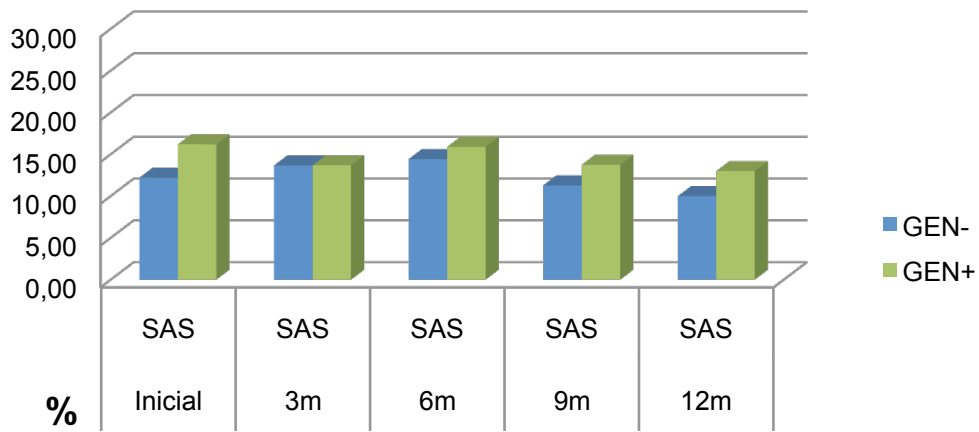


Tabla 11. Cambios en las variables clínicas en el análisis de boca completa: comparación de la media de Sangrado al Sondaje (SAS en %) para ambos grupos en cada visita de estudio

SAS (%)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	12,21	4,61	16,19	7,34	0,086
3 meses	13,67	7,06	13,68	5,85	0,999
6 meses	14,43	6,95	15,89	9,44	0,632
9 meses	11,29	4,88	13,75	8,05	0,320
12 meses	10,00	5,00	13,00	9,00	0,308

DE, Desviación Estándar

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

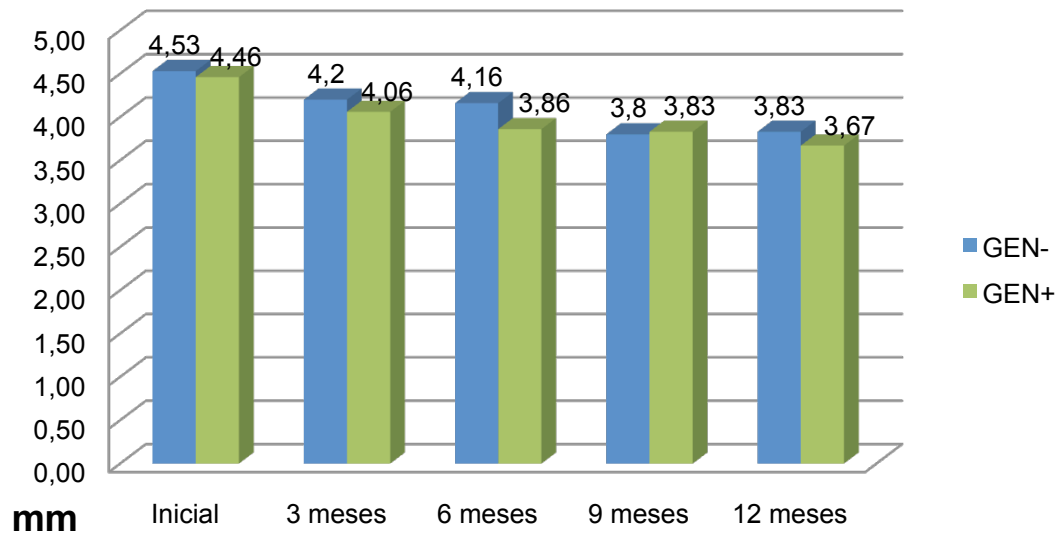
Tabla 12. Cambios en las variables clínicas en el análisis de las localizaciones seleccionadas: comparación del Índice de Placa (IP en %) y Sangrado al Sondaje (SAS en %) en cada visita de estudio para ambos grupos

IP (%)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	31,67	26,67	45,83	27,41	0,162
3 meses	36,67	30,42	35,83	28,29	0,939
6 meses	40,00	24,64	27,50	22,26	0,156
9 meses	29,17	23,94	25,00	19,48	0,605
12 meses	24,17	21,37	20,83	22,49	0,681

SAS (%)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	25,83	15,28	40,00	24,18	0,065
3 meses	25,83	19,17	35,00	14,33	0,149
6 meses	28,33	16,00	28,33	20,30	1,000
9 meses	26,67	19,97	25,83	14,54	0,897
12 meses	20,00	19,36	27,50	22,26	0,333

DE, Desviación Estándar

Figura 25. Cambios en las variables clínicas en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Profundidad de Sondaje (PS en mm) en cada visita de estudio para ambos grupos



ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS

Figura 26. Cambios en las variables clínicas en el análisis de las localizaciones seleccionadas: Nivel de Inserción Clínico (NIC en mm) en cada visita de estudio para ambos grupos

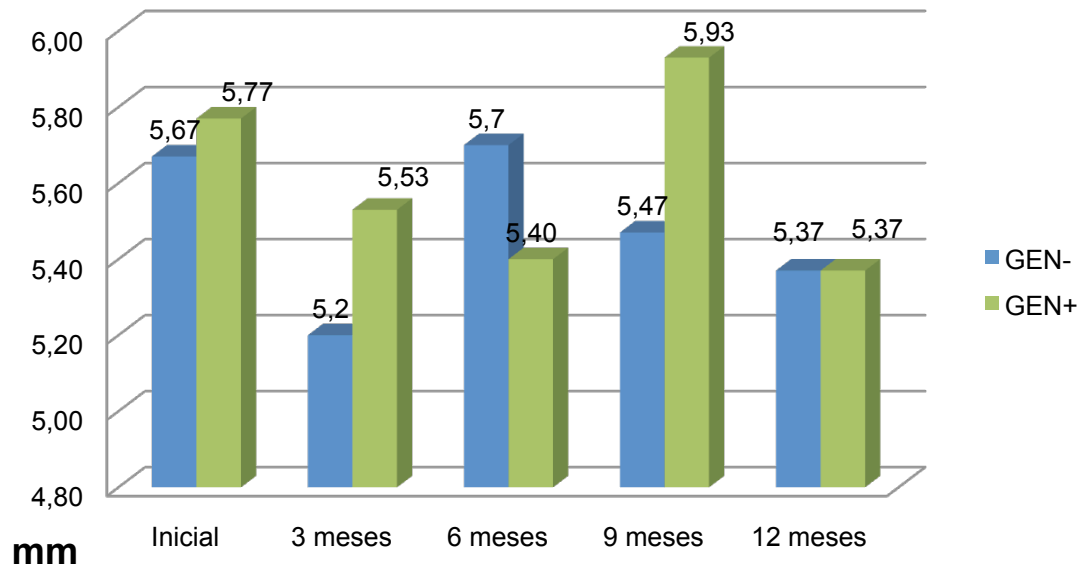


Tabla 13. Cambios en las variables clínicas en el análisis de las localizaciones seleccionadas: comparación de la Profundidad de Sondaje (PS en mm) y del Nivel de Inserción Clínico (NIC en mm) en cada visita de estudio para ambos grupos

PS (mm)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	4,53	0,64	4,47	0,83	0,808
3 meses	4,20	0,56	4,07	0,73	0,579
6 meses	4,17	0,45	3,87	0,81	0,221
9 meses	3,80	0,68	3,83	0,70	0,895
12 meses	3,83	0,75	3,67	0,72	0,540

NIC (mm)	GEN-		GEN+		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	5,67	0,98	5,77	1,12	0,796
3 meses	5,20	0,68	5,53	1,30	0,386
6 meses	5,70	0,84	5,40	1,45	0,495
9 meses	5,47	0,64	5,93	1,28	0,217
12 meses	5,37	0,93	5,37	1,14	1,000

DE, Desviación Estándar

Figura 27. Cambios en las variables microbiológicas: Flora Total (UFC/mL) en cada visita de estudio para ambos grupos

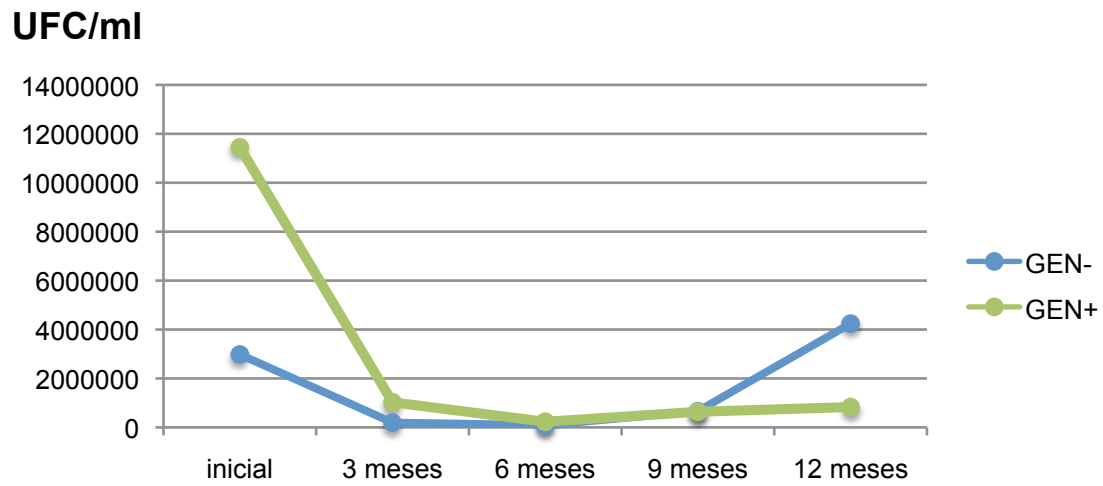


Tabla 14. Cambios en las variables microbiológicas: comparación de la Flora Total en unidades formadores de colonia por mL (UFC/mL) en cada visita de estudio para ambos grupos

Flora Total	GEN-	GEN+	t-test
	promedio	promedio	p valor
inicial	$2,98 \times 10^6$	$1,14 \times 10^7$	0,303
3 meses	$1,95 \times 10^5$	$1,02 \times 10^6$	0,453
6 meses	$9,09 \times 10^4$	$2,30 \times 10^5$	0,425
9 meses	$6,61 \times 10^5$	$6,37 \times 10^5$	0,973
12 meses	$4,24 \times 10^6$	$8,31 \times 10^5$	0,147

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 15. Cambios en las variables microbiológicas: Frecuencia de detección de cada patógeno en la flora (en %) en cada visita de estudio para ambos grupos

GEN-	n° de muestras	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn
inicial	14	50,00	78,57	14,29	21,43	35,71	92,86
3 meses	9	55,56	66,67	22,22	44,44	11,11	100,00
6 meses	9	55,56	77,78	11,11	66,67	33,33	100,00
9 meses	3	0,67	0,33	0,33	0,67	0,67	0,33
12 meses	5	80,00	60,00	0,00	20,00	0,00	80,00
GEN+	n° de muestras	Pg	PI	Tf	PM	Cr	Fn
inicial	15	53,33	86,67	13,33	40,00	40,00	93,33
3 meses	5	0,40	0,20	0,20	0,60	0,20	1,00
6 meses	4	0,50	0,25	0,00	0,50	0,00	0,75
9 meses	7	0,29	0,83	0,14	0,67	0,00	1,00
12 meses	1	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,00

Pg, Porphyromonas gingivalis; Pi, Prevotella intermedia; Tf, Tannerella forsythia; Pm, Parvimonas micra; Cr, Campylobacter rectus; Fn, Fusobacterium nucleatum

Tabla 16. Cambios en las variables microbiológicas: Proporción media de cada patógeno en la flora (en %) en cada visita de estudio para ambos grupos

GEN-	n° de muestras	Pg	Pi	Tf	Pm	Cr	Fn
inicial	14	24,91	5,15	3,02	3,31	3,30	6,69
3 meses	9	32,94	7,05	8,95	17,00	3,40	11,27
6 meses	9	33,53	3,76	8,42	1,95	1,93	4,91
9 meses	3	18,50	40,00	4,00	9,50	4,00	4,00
12 meses	5	10,75	5,33	0,00	2,00	0,00	11,25
GEN+	n° de muestras	Pg	PI	Tf	Pm	Cr	Fn
inicial	15	24,18	3,75	6,54	3,52	0,80	0,20
3 meses	5	47,95	3,00	35,80	2,70	3,00	21,40
6 meses	4	34,35	15,30	0,00	1,83	0,00	2,30
9 meses	7	34,27	20,93	1,35	3,57	0,00	4,54
12 meses	1	39,68	11,90	0,79	7,94	0,00	7,14

Pg, Porphyromonas gingivalis; Pi, Prevotella intermedia; Tf, Tannerella forsythia; Pm, Parvimonas micra; Cr, Campylobacter rectus; Fn, Fusobacterium nucleatum

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 17. Cambios en las variables microbiológicas: Media de unidades formadoras de colonia para cada patógeno (en UFC/mL) en cada visita de estudio para ambos grupos

UFC/ml		Inicial	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Pg	GEN-	2,02x10 ⁵	1,41x10 ⁵	1,82x10 ⁵	1,90x10 ⁵	2,91x10 ⁵
	GEN+	7,57x10 ⁵	1,85x10 ⁷	8,03x10 ⁵	2,64x10 ⁵	1,33x10 ⁷
Pi	GEN-	6,52x10 ⁴	1,22x10 ⁵	4,50x10 ⁴	4,30x10 ⁵	1,90x10 ⁴
	GEN+	5,51x10 ⁵	6,96x10 ⁵	2,37x10 ⁵	5,70x10 ⁵	3,99x10 ⁶
Tf	GEN-	9,55x10 ³	1,90x10 ⁴	1,33x10 ⁴	4,30x10 ⁴	0,00
	GEN+	7,88x10 ⁴	3,00x10 ³	0,00	6,46x10 ⁴	2,64x10 ⁵
Pm	GEN-	1,16x10 ⁵	1,52x10 ⁶	1,72x10 ⁴	1,20x10 ⁵	1,86x10 ⁴
	GEN+	1,12x10 ⁴	4,84x10 ⁴	2,57x10 ⁴	4,06x10 ⁴	2,66x10 ⁶
Cr	GEN-	1,20x10 ⁴	4,91x10 ³	2,53x10 ³	2,77x10 ⁴	0,00
	GEN+	1,50x10 ⁴	1,08x10 ³	0,00	0,00	0,00
Fn	GEN-	1,11x10 ⁵	2,15x10 ⁵	5,30x10 ⁴	4,30x10 ⁴	1,07x10 ⁵
	GEN+	3,74x10 ⁵	2,14x10 ⁵	1,10x10 ⁴	4,62x10 ⁵	2,40x10 ⁶

Pg, Porphyromonas gingivalis; Pi, Prevotella intermedia; Tf, Tannerella forsythia; Pm, Parvimonas micra; Cr, Campylobacter rectus; Fn, Fusobacterium nucleatum

Tabla 18. Cambios en las variables microbiológicas: Media de unidades formadoras de colonia (en UFC/mL) para cada patógeno en las muestras positivas en cada visita de estudio para ambos grupos

UFC/ml		Inicial	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
Pg	GEN-	4,03x10 ⁵	2,54x10 ⁶	3,30x10 ⁵	2,84x10 ⁵	3,64x10 ⁵
	GEN+	1,42x10 ⁷	4,64x10 ⁷	1,60x10 ⁶	9,24x10 ⁶	1,33x10 ⁷
Pi	GEN-	8,30x10 ⁴	1,83x10 ⁵	5,77x10 ⁴	1,29x10 ⁶	3,16x10 ⁴
	GEN+	6,36x10 ⁵	6,96x10 ⁵	9,50x10 ⁴	7,98x10 ⁵	3,99x10 ⁶
Tf	GEN-	6,68x10 ⁴	8,52x10 ⁴	1,20x10 ⁵	1,28x10 ⁵	0,00
	GEN+	5,91x10 ⁵	1,50x10 ⁴	0,00	4,32x10 ⁵	2,64x10 ⁵
Pm	GEN-	5,41x10 ⁵	3,42x10 ⁶	2,60x10 ⁴	1,81x10 ⁵	9,30x10 ⁴
	GEN+	2,81x10 ⁴	8,07x10 ⁵	5,15x10 ⁴	7,11x10 ⁴	2,66x10 ⁶
Cr	GEN-	3,37x10 ⁴	4,42x10 ⁴	7,60x10 ³	4,10x10 ⁴	0,00
	GEN+	3,76x10 ⁴	5,40x10 ³	0,00	0,00	0,00
Fn	GEN-	1,20x10 ⁵	2,15x10 ⁵	5,30x10 ⁴	1,28x10 ⁵	1,33x10 ⁵
	GEN+	4,01x10 ⁵	2,14x10 ⁵	1,47x10 ⁴	5,40x10 ⁵	2,40x10 ⁶

Pg, Porphyromonas gingivalis; Pi, Prevotella intermedia; Tf, Tannerella forsythia; Pm, Parvimonas micra; Cr, Campylobacter rectus; Fn, Fusobacterium nucleatum

E.IV. EVALUACIÓN DE LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS: ASOCIACIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS EN LA EVALUACIÓN INICIAL CON LA PÉRDIDA DE INSERCIÓN FUTURA

De acuerdo con los objetivos del estudio, se ha realizado la evaluación de la progresión de la periodontitis en el total de la población de estudio y en los dos grupos de pacientes, GEN- y GEN+, basada fundamentalmente, en la pérdida de inserción (PI) observada durante el seguimiento de 12 meses. Además, se ha relacionado las alteraciones en el nivel de inserción con las variables clínicas y microbiológicas, con el objetivo de estudiar el riesgo de PI futura.

Se ha definido la PI a nivel del paciente y a nivel de la localización:

- Un paciente con PI es aquel que: a) ha perdido inserción en, al menos, una localización entre la visita inicial y tres meses; o b) ha perdido inserción en, al menos, dos localizaciones durante los doce meses del estudio, en la comparación entre dos visitas consecutivas.
- Una localización con PI es aquella con cambio en el nivel de inserción relativo (NIR) mayor a 0,9 mm entre dos visitas consecutivas.

La cuantificación de los pacientes que han perdido inserción, con alguno de los dos criterios considerados, está representada en la Tabla 19. El número de pacientes que presentaron PI ha sido superior al número de pacientes que no han perdido inserción. La cuantificación del número de pacientes de los grupos GEN- y GEN+, con y sin PI está representada en la Tabla 20.

Se describen, a continuación, la comparación en las variables clínicas y microbiológicas de los pacientes con y sin PI, considerando el total de la población de estudio y los pacientes de los grupos GEN- y GEN+, en primer lugar, en los intervalos entre la visita inicial y tres meses y, posteriormente, entre la visita inicial y doce meses.

Tabla 19. Progresión de la periodontitis: número de pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) en los dos intervalos de estudio considerados

	Pérdida de Inserción (PI)	
	sin PI	con PI
0-3 meses	14	16
0-12 meses	12	18

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 20. Progresión de la periodontitis: número de pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) en los grupos GEN- y GEN+ en los dos intervalos de estudio considerados

	Pérdida de Inserción (PI)			
	sin PI		con PI	
	GEN-	GEN+	GEN-	GEN+
0-3 meses	7	7	8	8
0-12 meses	6	6	9	9

E.IV.1 ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES: TOTAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

E.IV.1.1 VARIABLES CLÍNICAS

La comparación de las distintas variables clínicas evaluadas entre los pacientes con y sin PI, respecto al total de la población de estudio, entre las visitas inicial y tres meses están representados en la Tabla 21. En general, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros clínicos evaluados.

Adicionalmente, fueron analizados los cambios ocurridos en cada grupo entre las dos visitas (Tabla 21). Se puede destacar la disminución de los valores promedio de PS entre las dos visitas, en la mayoría de los pacientes, con significación estadística en el grupo sin PI ($p= 0,030$). No se detectaron diferencias significativas en el grupo con PI ($p= 0,162$). Las variaciones en la proporción promedio de bolsas de 1-3 mm entre las dos visitas, en el grupo sin PI, no fue estadísticamente significativa ($p=0,471$); sin embargo, la disminución ocurrida en el grupo con PI era estadísticamente significativa ($p=0,031$). Asimismo, se puede subrayar una tendencia hacia un aumento significativo de bolsas de 4-6 mm para los 16 pacientes del grupo con PI ($p=0,042$).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 21. Progresión de la periodontitis: variables clínicas en las visitas inicial y tres meses en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) para el total de la población de estudio

IP (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	22,00	12,00	23,00	12,00	0,905
3 meses	20,00	11,00	19,00	11,00	0,899
t-test (p)	0,483		0,143		

IG (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	11,00	7,00	10,00	21,00	0,891
3 meses	7,00	7,00	5,00	4,00	0,438
t-test (p)	0,156		0,400		

PS (mm)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	2,58	0,54	2,37	0,36	0,219
3 meses	2,42	0,44	2,44	0,40	0,884
t-test (p)	0,030		0,162		

PS 1-3 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	78,00	9,00	80,00	8,00	0,567
3 meses	80,00	8,00	75,00	6,00	0,105
t-test (p)	0,471		0,031		

PS 4-6 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	20,00	9,00	19,00	8,00	0,601
3 meses	19,00	7,00	23,00	6,00	0,102
t-test (p)	0,513		0,042		

PS >6 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	0,30	0,50	0,10	0,30	0,262
3 meses	0,20	0,30	0,20	0,70	0,581
t-test (p)	0,480		0,416		

SAS (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
inicial	13,00	6,00	15,00	6,00	0,654
3 meses	13,00	6,00	14,00	6,00	0,937
t-test (p)	0,968		0,672		

IP, Índice de Placa (IP en %); IG, Índice gingival (IG en %); PS, Profundidad de Sondaje (PS en %); PS 1-3 mm, PS 4-6 mm, PS > 6 mm, Proporción de bolsas (en %); SAS, Sangrado al Sondaje (SAS en %); DE, desviación estándar

E.IV.1.2 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Los resultados de las distintas variables microbiológicas de los pacientes con y sin PI entre las visitas inicial y tres meses también se han comparado. Los valores medios de **cuantificación de la flora total** (UFC/mL) están representados en la Tabla 22. El análisis comparativo de las medias permite concluir que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes.

En general, no hubo diferencias en los valores de **frecuencia de detección** de cada patógeno periodontal evaluado entre los pacientes con y sin PI. Los patógenos periodontales más frecuentes en ambos grupos fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia* seguidos por *P. gingivalis*, en los pacientes con PI y por *C. rectus* en los pacientes sin PI (Tabla 23).

P. gingivalis representó la mayor **proporción de la flora** de todos los patógenos evaluados en los pacientes con y sin PI entre las visitas inicial y tres meses. Los demás patógenos representaron porcentajes medios inferiores al 10%. Se puede destacar una diferencia entre la proporción media de *C. rectus*, con tendencia hacia la significación estadística ($p=0,071$) (Tabla 24).

La media de **unidades formadoras de colonia de cada patógeno**, en el total de las muestras evaluadas y sólo en las muestras positivas, está representada en la Tabla 25. A pesar de que no se observaron diferencias estadísticamente significativas, los valores medios de UFC/mL de cada patógeno fueron superiores en los pacientes con PI.

Tabla 22. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Flora Total (UFC/mL) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para el total de la población de estudio

Flora Total (UFC/mL)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p
	$4,12 \times 10^6$	$8,92 \times 10^6$	$9,99 \times 10^6$	$2,88 \times 10^7$	0,451

DE, desviación estándar

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 23. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Frecuencia de Detección de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para el total de la población de estudio

Frecuencia de Detección (%)	sin PI	con PI	chi-cuadrado
Pg	38,46	62,50	NS
Pi	76,62	87,50	NS
Tf	7,69	18,75	NS
Pm	23,08	37,50	NS
Cr	53,85	25,00	NS
Fn	100,00	87,50	NS

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; NS, no estadísticamente significativo

Tabla 24. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Proporción media de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para el total de la población de estudio

Proporción media (%)					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	23,53	31,49	25,02	28,40	0,590
Pi	2,99	2,28	5,39	5,16	0,436
Tf	3,60	NV	5,17	6,03	NV
Pm	2,03	1,71	4,16	3,15	0,409
Cr	1,43	1,90	2,82	1,79	0,071
Fn	9,62	2,12	6,48	7,20	0,752

DE, desviación estándar; NV, no valorable

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 25. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Media de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) para cada patógeno en el total de las muestras y en las muestras positivas en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para el total de la población de estudio

Media UFC/mL /patógeno					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	2,12x10 ⁶	7,36x10 ⁶	5,55x10 ⁶	2,14x10 ⁷	0,925
Pi	1,65x10 ⁵	4,12x10 ⁵	4,40x10 ⁵	1,43x10 ⁶	0,927
Tf	8,92x10 ³	3,22x10 ⁴	7,50x10 ⁴	2,89x10 ⁵	NV
Pm	5,64x10 ³	1,38x10 ⁴	1,07x10 ⁵	4,01x10 ⁵	0,596
Cr	1,63x10 ⁴	2,59x10 ⁴	1,14x10 ⁴	2,44x10 ⁴	0,205
Fn	2,58x10 ⁵	6,95x10 ⁵	2,38x10 ⁵	5,70x10 ⁵	0,473

Media UFC/ml /patógeno (muestras +)					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	5,50x10 ⁶	1,18x10 ⁷	8,88x10 ⁶	2,70x10 ⁷	0,925
Pi	2,14x10 ⁵	4,63x10 ⁵	5,03x10 ⁵	1,53x10 ⁶	0,927
Tf	1,16x10 ⁵	NV	4,00x10 ⁵	6,58x10 ⁵	NV
Pm	2,44x10 ⁴	2,14x10 ⁴	2,86x10 ⁵	6,49x10 ⁵	0,596
Cr	3,03x10 ⁴	2,91x10 ⁴	4,55x10 ⁴	3,01x10 ⁴	0,205
Fn	2,58x10 ⁵	6,95x10 ⁵	2,73x10 ⁵	6,04x10 ⁵	0,473

Pg, Porphyromonas gingivalis; Pi, Prevotella intermedia; Tf, Tannerella forsythia; Pm, Parvimonas micra; Cr, Campylobacter rectus; Fn, Fusobacterium nucleatum; DE, desviación estándar; NV, no valorable

E.IV.2 ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES: GRUPOS DE ESTUDIO (GEN – Y GEN +)

E.IV.2.1 VARIABLES CLÍNICAS

La Tabla 26 representa el análisis comparativo de las distintas variables clínicas evaluadas en los pacientes con y sin PI, considerando ambos grupos de estudio (GEN- y GEN+) en las visitas inicial y tres meses. En general, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas en los valores obtenidos de las distintas variables clínicas; sin embargo, se puede destacar una tendencia para la significación estadística ($p=0,064$) en el valor medio de IG, en la visita inicial, entre los pacientes sin PI (0,08% DE 0,05) y con PI (0,04% DE 0,03) del grupo GEN- . Asimismo, se aprecia una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,048$) en el valor promedio de PS, en la visita inicial, entre los mismos pacientes [sin PI (2,95 DE 0,33) y con PI (2,58 DE 0,32)].

La comparación de las variables clínicas, entre la visita inicial y tres meses, en cada grupo, GEN- y GEN+ permite destacar algunas diferencias estadísticamente significativas:

- la disminución del valor promedio de PS en los pacientes sin PI del grupo GEN- ($p=0,019$);
- el aumento del valor medio de SAS de los pacientes sin PI del grupo GEN- ($p=0,013$).

Asimismo, se aprecia una tendencia hacia la significación estadística en la disminución de los valores medios de SAS de los pacientes sin PI del grupo GEN- ($p=0,091$) y en la disminución del valor medio de IP de los pacientes con PI del grupo GEN- ($p=0,051$) (Tabla 26).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 26. Progresión de la periodontitis: variables clínicas en las visitas inicial y tres meses en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) para los grupos de estudio GEN- y GEN+

IP (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	23,00	10,00	24,00	15,00	0,948	22,00	15,00	22,00	9,00	0,922
3 meses	20,00	8,00	16,00	11,00	0,438	19,00	15,00	22,00	11,00	0,654
t-test (p)	0,597		0,051			0,681		0,995		

IG (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	8,00	5,00	4,00	3,00	0,064	13,00	9,00	16,00	29,00	0,786
3 meses	6,00	7,00	5,00	3,00	0,635	8,00	7,00	6,00	4,00	0,561
t-test (p)	0,455		0,573			0,262		0,380		

PS (mm)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	2,95	0,33	2,58	0,32	0,048	2,21	0,45	2,16	0,27	0,804
3 meses	2,67	0,30	2,64	0,26	0,844	2,17	0,43	2,24	0,42	0,740
t-test (p)	0,019		0,441			0,599		0,246		

PS 1-3 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	75,00	11,00	79,00	11,00	0,505	82,00	7,00	82,00	6,00	0,990
3 meses	78,00	8,00	75,00	5,00	0,472	82,00	8,00	75,00	8,00	0,151
t-test (p)	0,422		0,196			0,861		0,104		

PS 4-6 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	24,00	11,00	20,00	11,00	0,536	17,00	7,00	17,00	6,00	0,990
3 meses	21,00	7,00	23,00	4,00	0,483	17,00	8,00	24,00	7,00	0,147
t-test (p)	0,483		0,261			0,898		0,113		

PS >6 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	0,50	0,70	0,20	0,40	0,356	0,08	0,20	0,01	0,01	0,301
3 meses	0,10	0,40	0,40	0,10	0,528	0,10	0,20	0,10	0,40	0,912
t-test (p)	0,316		0,623			0,603		0,350		

SAS (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
inicial	11,00.	4,00.	14,00.	8,00.	0,479	15,00.	7,00.	15,00.	2,00.	0,853
3 meses	15,00.	5,00.	12,00.	8,00.	0,606	12,00.	7,00.	14,00.	2,00.	0,410
t-test (p)	0,013		0,801			0,091		0,505		

IP, Índice de Placa (IP en %); IG, Índice gingival (IG en %); PS, Profundidad de Sondaje (PS en %); PS 1-3 mm, PS 4-6 mm, PS > 6 mm, Proporción de bolsas (en %); SAS, Sangrado al Sondaje (SAS en %); DE, desviación estándar

E.IV.2.2 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Los valores medios de cuantificación de la flora total (UFC/mL) de los pacientes con y sin PI, entre las visitas inicial y tres meses, de los dos grupos de estudio GEN- y GEN+ están representados en la Tabla 27. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes.

Los patógenos periodontales más frecuentes en la flora subgingival de los pacientes con y sin PI de ambos grupos fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia*. La frecuencia de detección de *P. gingivalis* fue similar en los pacientes con PI de ambos grupos. En el grupo GEN- no se detectó *P. micra* en los pacientes sin PI mientras que apareció en el 37,50% de las muestras de los pacientes con PI. En el grupo GEN+ no se ha detectado *T. forsythia* en los pacientes sin PI, mientras que estaba presente en 25,0% de las muestras de los pacientes con PI (Tabla 28).

De todos los patógenos evaluados, *P. gingivalis* representaba la mayor proporción de la flora en los pacientes con y sin PI en ambos grupos. En el grupo GEN- no hubo diferencias significativas en los porcentajes medios de los patógenos; sin embargo, en el grupo GEN+ se puede destacar tendencia a la significación significativa en la proporción media de *C. rectus* ($p=0,051$) y de *P. intermedia* ($p=0,085$) (Tabla 29). La media de unidades formadoras de colonia de cada patógeno fue, en general, superior para los pacientes con PI de ambos grupos de estudio en el total de las muestras evaluadas y sólo en las muestras positivas. Se puede destacar la diferencia estadísticamente significativa en los valores de UFC/mL de *P. intermedia* de los pacientes con y sin PI del grupo GEN- ($p=0,033$) (Tabla 30).

Tabla 27. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Flora Total (UFC/mL) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Flora Total (UFC/mL)									
sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
GEN-				p	GEN+				p
media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
1,67x10 ⁶	1,39x10 ⁶	3,96x10 ⁶	7,82x10 ⁶	0,442	6,23x10 ⁶	1,21x10 ⁷	1,60x10 ⁷	4,04x10 ⁷	0,531

DE, desviación estándar

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 28. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Frecuencia de Detección de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Frecuencia de detección (%)						
	sin PI	con PI	chi- cuadrado	sin PI	con PI	chi- cuadrado
	GEN-			GEN+		
Pg	33,33	62,50	NS	42,86	62,50	NS
Pi	66,67	87,50	NS	85,71	87,50	NS
Tf	16,67	12,50	NS	0,00	25,00	NS
Pm	0,00	37,50	NS	42,86	37,50	NS
Cr	50,00	25,00	NS	57,14	25,00	NS
Fn	100,00	87,50	NS	100,00	87,50	NS

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; NS, no estadísticamente significativo

Tabla 29. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Proporción media de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Proporción media (%)										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-				p	GEN+				p
	media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
Pg	12,93	0,46	29,70	29,04	0,674	30,60	42,37	20,33	30,26	0,749
Pi	5,09	1,34	5,19	6,40	0,206	1,59	1,56	5,59	4,09	0,085
Tf	3,60	NV	2,43	NV	NV	0,00	NV	6,54	7,83	NV
Pm	0,00	NV	3,31	3,32	NV	2,03	1,71	5,01	3,49	0,342
Cr	2,64	2,62	4,29	1,01	0,341	0,53	0,35	1,35	0,08	0,051
Fn	4,63	2,32	8,46	9,65	0,702	13,91	29,20	4,50	3,14	0,920

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; NV, no valorable; DE, Desviación estándar

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 30. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Media de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) para cada patógeno en el total de las muestras y en las muestras positivas en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y tres meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Media UFC/mL /patógeno										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-				p	GEN+				p
	media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
Pg	9,92x10 ⁴	1,62x10 ⁵	2,79x10 ⁵	4,71x10 ⁵	0,588	3,85x10 ⁶	1,00x10 ⁷	1,08x10 ⁷	3,03x10 ⁷	0,962
Pi	8,59x10 ⁴	7,94x10 ⁴	4,97x10 ⁴	7,03x10 ⁴	0,033	2,32x10 ⁵	5,68x10 ⁵	8,30x10 ⁵	2,01x10 ⁶	0,427
Tf	1,93x10 ⁴	4,73x10 ⁴	2,22x10 ³	6,27x10 ³	NV	0,00	NV	1,48x10 ⁵	4,09x10 ⁵	NV
Pm	0,00	NV	2,03x10 ⁵	5,69x10 ⁵	NV	1,05x10 ⁴	1,80x10 ⁴	1,19x10 ⁴	2,26x10 ⁴	0,524
Cr	1,56x10 ⁴	3,14x10 ⁴	9,36x10 ³	1,80x10 ⁴	0,423	1,70x10 ⁴	2,27x10 ⁴	1,34x10 ⁴	3,07x10 ⁴	0,564
Fn	8,40x10 ⁴	9,44x10 ⁴	1,32x10 ⁵	1,70x10 ⁵	0,494	4,07x10 ⁵	9,50x10 ⁵	3,45x10 ⁵	8,00x10 ⁵	0,780

Media UFC/mL /patógeno (muestras +)										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-				p	GEN+				p
	media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
Pg	2,98x10 ⁵	1,53x10 ⁵	4,46x10 ⁵	5,58x10 ⁵	0,588	8,97x10 ⁶	1,53x10 ⁷	1,73x10 ⁷	3,83x10 ⁷	0,962
Pi	1,29x10 ⁵	5,58x10 ⁵	5,68x10 ⁴	7,28x10 ⁴	0,033	2,71x10 ⁵	6,12x10 ⁵	9,49x10 ⁵	2,14x10 ⁶	0,427
Tf	1,16x10 ⁵	NV	1,77x10 ⁴	NV	NV	0,00	NV	5,91x10 ⁵	8,05x10 ⁵	NV
Pm	0,00	NV	5,41x10 ⁵	9,26x10 ⁵	NV	2,44x10 ⁴	2,14x10 ⁴	3,17x10 ⁴	2,90x10 ⁴	0,524
Cr	3,12x10 ⁴	4,18x10 ⁴	3,75x10 ⁴	1,27x10 ⁴	0,423	2,97x10 ⁴	2,29x10 ⁴	5,53x10 ⁴	4,80x10 ⁴	0,564
Fn	8,40x10 ⁴	9,44x10 ⁴	1,51x10 ⁵	1,74x10 ⁵	0,494	4,07x10 ⁵	9,50x10 ⁵	3,94x10 ⁵	8,51x10 ⁵	0,780

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; NV, no valorable; DE, desviación estándar

E.IV.3 ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y DOCE MESES: TOTAL DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

El número de pacientes que perdieron inserción en al menos dos localizaciones durante los doce meses del estudio, en la comparación entre dos visitas consecutivas, está representado en la Tabla 31. Se puede destacar, además, el número de localizaciones con cambio en el NIR mayor a 0,9 mm.

E.IV.3.1 VARIABLES CLÍNICAS

En la Tabla 32 está representada la comparación de los valores de cada variable clínica evaluada de los pacientes con y sin PI, entre la visita inicial y doce meses, considerando el total de la población de estudio. No se han detectado diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables evaluadas.

Cuando se compararon los valores en el mismo grupo (con y sin PI), entre visitas, se puede destacar la disminución estadísticamente significativa de los valores medios de IP en los pacientes con PI ($p=0,015$) y con tendencia hacia la significación estadística en los pacientes sin PI ($p=0,099$). También los cambios en el valor promedio de PS de los pacientes sin PI fueron estadísticamente significativos ($p=0,035$). Asimismo, se puede subrayar una tendencia para un aumento significativo de bolsas de 4-6 mm para los 12 pacientes del grupo sin PI ($p=0,076$). Los valores de SAS disminuyeron en ambos grupos de pacientes; sin embargo, la diferencia en los pacientes con PI presentaba una tendencia hacia la significación estadística ($p=0,076$) (Tabla 32).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 31. Progresión de la periodontitis: numero de pacientes y de localizaciones con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses

nº localizaciones	Pérdida de Inserción (PI)	
	visita inicial - visita 12 meses	
	nº pacientes sin PI	nº pacientes con PI
0	6	
1	6	
2		8
3		2
4		4
5		3
6		1
Total	12	18

Tabla 32. Progresión de la periodontitis: variables clínicas en las visitas inicial y doce meses de los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) para el total de la población de estudio

IP (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	23,00	12,00	23,00	12,00	0,980
12 meses	16,00	11,00	13,00	9,00	0,469
t-test (p)	0,099		0,015		

IG (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	10,00	7,00	10,00	20,00	0,965
12 meses	5,00	6,00	3,00	3,00	0,257
t-test (p)	0,106		0,176		

PS (mm)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	2,53	0,52	2,43	0,41	0,559
12 meses	2,30	0,46	2,35	0,32	0,726
t-test (p)	0,035		0,343		

PS 1-3 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	78,00	9,00	80,00	9,00	0,492
12 meses	83,00	10,00	74,00	20,00	0,164
t-test (p)	0,172		0,154		

PS 4-6 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	21,00	8,00	19,00	9,00	0,535
12 meses	24,00	9,00	17,00	7,00	0,341
t-test (p)	0,076		0,639		

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

PS >6 mm	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	0,40	0,50	0,10	0,20	0,140
12 meses	0,10	0,20	0,20	0,40	0,668
t-test (p)	0,207		0,651		

SAS (%)	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
inicial	13,00	7,00	14,00	6,00	0,690
12 meses	12,00	8,00	10,00	6,00	0,690
t-test (p)	0,429		0,076		

IP, Índice de Placa (IP en %); IG, Índice gingival (IG en %); PS, Profundidad de Sondaje (PS en %); PS 1-3 mm, PS 4-6 mm, PS > 6 mm, Proporción de bolsas (en %); SAS, Sangrado al Sondaje (SAS en %); DE, desviación estándar

E.IV.3.2 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Las tablas 33 a 36 presentan los resultados de las variables microbiológicas evaluadas en los pacientes con y sin PI entre la visita inicial y doce meses. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables registradas; sin embargo, se pueden destacar algunas discrepancias. Los valores medios de cuantificación de la flora total (UFC/mL) de los pacientes sin PI fueron inferiores a los detectados en los pacientes con PI, como se puede observar en la Tabla 33.

Los patógenos periodontales más frecuentes en la flora subgingival de los pacientes con y sin PI fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia*. La frecuencia de detección de *P. gingivalis* y *C. rectus* fue similar. En los pacientes sin PI no se ha detectado *T. forsythia* mientras que apareció en 22,22% de las muestras de los pacientes con PI.

Por otra parte, en los pacientes sin PI, *P. micra* estaba presente en 45,45% de las muestras mientras que sólo se ha detectado en 22,22% de los pacientes con PI (Tabla 34).

En lo que respecta a la proporción de la flora, la mayoría de los patógenos evaluados en los pacientes con y sin PI representa porcentajes medios inferiores al 10%. Sobresale la proporción de *P. gingivalis* en los pacientes con PI. No obstante, no se han detectado diferencias estadísticamente significativas (Tabla 35).

Los valores medios de unidades formadoras de colonia de cada patógeno fueron superiores en los pacientes con PI, sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 36).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 33. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Flora Total (UFC/mL) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para el total de la población de estudio

	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	P valor
Flora Total (UFC/mL)	2,95x10 ⁶	5,89x10 ⁶	9,64x10 ⁶	2,76x10 ⁷	0,388

DE, desviación estándar

Tabla 34. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Frecuencia de Detección de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para el total de la población de estudio

Frecuencia de Detección (%)	sin PI	con PI	chi-cuadrado
Pg	45,45	55,56	NS
Pi	81,82	83,33	NS
Tf	0,00	22,22	NS
Pm	45,45	22,22	NS
Cr	36,36	38,89	NS
Fn	100,00	88,89	NS

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NS, no significativo

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 35. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Proporción media de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para el total de la población de estudio

Proporción media (%)					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	7,54	5,79	33,01	31,51	0,208
Pi	3,01	2,75	5,22	4,93	0,256
Tf	0,00	NV	4,78	4,98	NV
Pm	4,02	3,43	2,74	2,14	0,968
Cr	2,27	2,25	1,74	1,84	0,500
Fn	11,01	23,04	5,92	6,74	0,769

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NV, no valorable

Tabla 36. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Media de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) para cada patógeno en el total de las muestras y en las muestras positivas en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para el total de la población de estudio

Media UFC/mL /patógeno					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	$7,08 \times 10^4$	$1,13 \times 10^5$	$6,42 \times 10^6$	$2,08 \times 10^7$	0,236
Pi	$6,03 \times 10^4$	$6,36 \times 10^4$	$4,73 \times 10^5$	$1,38 \times 10^6$	0,730
Tf	0,00	NV	$7,31 \times 10^4$	$2,73 \times 10^5$	NV
Pm	$1,57 \times 10^5$	$4,82 \times 10^5$	$3,57 \times 10^3$	$9,92 \times 10^3$	0,479
Cr	$1,20 \times 10^4$	$2,46 \times 10^4$	$1,45 \times 10^4$	$2,55 \times 10^4$	0,616
Fn	$3,16 \times 10^5$	$7,49 \times 10^5$	$2,05 \times 10^5$	$5,40 \times 10^5$	0,648

Media UFC/ml /patógeno (muestras +)					
	sin PI		con PI		t-test
	media	DE	media	DE	p valor
Pg	$1,56 \times 10^5$	$1,24 \times 10^5$	$1,16 \times 10^7$	$2,74 \times 10^7$	0,236
Pi	$7,38 \times 10^4$	$6,28 \times 10^4$	$5,68 \times 10^5$	$1,50 \times 10^6$	0,730
Tf	0,00	NV	$3,29 \times 10^5$	$5,56 \times 10^5$	NV
Pm	$3,46 \times 10^5$	$7,07 \times 10^5$	$1,61 \times 10^4$	$1,70 \times 10^4$	0,479
Cr	$3,31 \times 10^4$	$3,30 \times 10^4$	$3,74 \times 10^4$	$2,90 \times 10^4$	0,616
Fn	$3,16 \times 10^5$	$7,49 \times 10^5$	$2,31 \times 10^5$	$5,70 \times 10^5$	0,648

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NV, no valorable

E.IV.4 ANÁLISIS COMPARATIVO EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y DOCE MESES: GRUPOS DE ESTUDIO (GEN – Y GEN +)

E.IV.4.1 VARIABLES CLÍNICAS

La comparación de cada una de las variables clínicas en las visitas inicial y tras doce meses de los pacientes con y sin PI de ambos grupos de estudio, está representada en la Tabla 37. Se observaron algunas diferencias con tendencia para la significación estadística entre los pacientes con y sin PI del grupo GEN- en la visita inicial, respecto a los valores medios de IG ($p=0,098$), a la proporción de bolsas de 1-3 mm ($p=0,066$) y a la proporción de bolsas de 4-6 mm ($p=0,079$). Además se puede destacar, en el mismo grupo de pacientes, una diferencia estadísticamente significativa en los valores promedio de PS ($p=0,048$).

La comparación de las variables clínicas, entre la visita inicial y doce meses, en cada grupo, GEN- (con y sin PI) y GEN+ (con y sin PI) permite detectar algunas diferencias, principalmente en el grupo GEN-, de las que se destacan los valores medios de IP y los valores medios de SAS en los pacientes con PI ($p=0,046$ y $p=0,062$, respectivamente).

Tabla 37. Progresión de la periodontitis: variables clínicas en las visitas inicial y doce meses en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) para los grupos de estudio GEN- y GEN+

IP (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	23,00	11,00	18,00	6,00	0,347	24,00	14,00	28,00	15,00	0,576
12 meses	16,00	10,00	11,00	7,00	0,302	16,00	12,00	16,00	10,00	0,934
t-test (p)	0,101		0,046			0,366		0,099		

IG (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	9,00	6,00	5,00	3,00	0,098	11,00	8,00	17,00	28,00	0,674
12 meses	5,00	3,00	3,00	2,00	0,188	7,00	9,00	4,00	3,00	0,547
t-test (p)	0,134		0,123			0,371		0,256		

PS (mm)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	2,90	0,31	2,50	0,37	0,048	2,17	0,43	2,37	0,47	0,428
12 meses	2,57	0,17	2,51	0,26	0,596	2,03	0,52	2,2	0,3	0,437
t-test (p)	0,053		0,964			0,383		0,132		

PS 1-3 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	76,00	10,00	85,00	7,00	0,066	81,00	7,00	77,00	9,00	0,352
12 meses	81,00	8,00	71,00	27,00	0,386	86,00	12,00	77,00	13,00	0,241
t-test (p)	0,395		0,075			0,284		0,957		

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

PS 4-6 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	24,00	10,00	15,00	7,00	0,079	18,00	7,00	23,00	9,00	0,355
12 meses	15,00	8,00	18,00	8,00	0,468	14,00	12,00	17,00	6,00	0,570
t-test (p)	0,193		0,570			0,265		0,128		

PS >6 mm (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	0,60	0,80	0,10	0,20	0,061	0,10	0,20	0,10	0,40	0,858
12 meses	0,00	0,00	0,10	0,40	0,434	0,20	0,30	0,20	0,60	1
t-test (p)	0,109		0,681			0,363		0,799		

SAS (%)	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p valor	media	DE	media	DE	p valor
inicial	11,00	5,00	13,00	3,00	0,433	16,00	7,00	16,00	7,00	0,989
12 meses	11,00	5,00	9,00	5,00	0,509	13,00	10,00	13,00	7,00	0,952
t-test (p)	0,978		0,062			0,371		0,351		

IP, Índice de Placa (IP en %); IG, Índice gingival (IG en %); PS, Profundidad de Sondaje (PS en %); PS 1-3 mm, PS 4-6 mm, PS > 6 mm, Proporción de bolsas (en %); SAS, Sangrado al Sondaje (SAS en %); DE, desviación estándar

E.IV.4.2 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Los valores medios de cuantificación de la flora total (UFC/mL) de los pacientes con y sin PI entre las visitas inicial y doce meses, de los dos grupos de estudio GEN- y GEN+ están representados en la Tabla 38. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes.

F. nucleatum se ha detectado en 100,00% de las muestras de placa bacteriana subgingival de los pacientes sin PI y en 88,89% de los pacientes con PI, de ambos grupos. La frecuencia de detección de *P. intermedia* y de *P. gingivalis* fue similar en los pacientes con y sin PI de ambos grupos. Ningún paciente sin PI presentó *T. forsythia* en la flora subgingival. A pesar de las discrepancias, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 39).

P. gingivalis representa la mayor proporción de la flora en los pacientes con PI de ambos grupos. Los demás patógenos representan porcentajes inferiores al 10%. No hubo diferencias significativas en los porcentajes medios de los patógenos; sin embargo, en los pacientes sin PI del grupo GEN+ se puede destacar una elevada proporción media de *F. nucleatum* de 16,40% (Tabla 40).

La media de unidades formadoras de colonia de cada patógeno fue, en general, superior, para los pacientes con PI de ambos grupos de estudio en el total de las muestras evaluadas y sólo en las muestras positivas. Se puede destacar la diferencia con tendencia a la significación estadística ($p=0,076$) de los valores de UFC/mL de la *P. intermedia* entre los pacientes con y sin PI del grupo GEN- (Tabla 41).

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 38. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Flora Total (UFC/mL) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Flora Total (UFC/mL)									
sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
GEN-				p	GEN+				p
media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
5,96x10 ⁶	9,58x10 ⁶	1,32x10 ⁶	1,57x10 ⁶	0,341	1,69x10 ⁶	1,39x10 ⁶	1,79x10 ⁷	3,82x10 ⁷	0,238

DE, desviación estándar

Tabla 39. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas – Frecuencia de Detección de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Frecuencia de detección (%)						
	sin PI	con PI	chi- cuadrado	sin PI	con PI	chi- cuadrado
	GEN-			GEN+		
Pg	40,00	55,56	NS	50,00	55,56	NS
Pi	80,00	77,78	NS	83,33	88,89	NS
Tf	0,00	22,22	NS	0,00	22,22	NS
Pm	20,00	22,22	NS	66,67	22,22	NS
Cr	40,00	33,33	NS	33,33	44,44	NS
Fn	100,00	88,89	NS	100,00	88,89	NS

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NS, no estadísticamente significativo

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Tabla 40. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Proporción media de cada patógeno en la flora (en %) en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Proporción media (%)										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-					GEN+				
	media	DE	media	DE	p	media	DE	media	DE	p
Pg	6,78	9,16	32,16	26,32	0,452	8,06	4,91	33,86	39,23	0,574
Pi	4,11	2,81	5,75	6,06	0,825	2,13	2,61	4,75	4,07	0,233
Tf	0,00	NV	3,02	0,83	NV	0,00	NV	6,54	7,83	NV
Pm	7,00	NV	1,46	0,65	NV	3,28	3,46	4,01	2,62	0,467
Cr	3,76	2,49	2,99	2,35	0,602	0,78	0,31	0,81	0,63	0,694
Fn	4,54	2,90	8,04	8,97	0,441	16,40	31,28	3,81	2,60	0,411

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NV, no valorable

Tabla 41. Progresión de la periodontitis: variables microbiológicas - Media de unidades formadoras de colonia (UFC/mL) para cada patógeno en el total de las muestras y en las muestras positivas en los pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) entre las visitas inicial y doce meses, para los grupos de estudio GEN- y GEN+

Media UFC/mL /patógeno										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-				p	GEN+				p
	media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
Pg	5,17x10 ⁴	8,26x10 ⁴	2,85x10 ⁵	4,56x10 ⁵	0,553	8,67x10 ⁴	1,39x10 ⁵	1,26x10 ⁷	2,88x10 ⁷	0,338
Pi	8,89x10 ⁴	7,41x10 ⁴	5,15x10 ⁴	7,41x10 ⁴	0,076	3,58x10 ⁴	4,58x10 ⁴	8,95x10 ⁵	1,90x10 ⁶	0,302
Tf	0,00	NV	1,49x10 ⁴	3,84x10 ⁴	NV	0,00	NV	1,31x10 ⁵	3,86x10 ⁵	NV
Pm	3,22x10 ⁵	7,20x10 ⁵	1,50x10 ³	4,41x10 ³	NV	1,69x10 ⁴	2,60x10 ⁴	5,64x10 ³	1,34x10 ⁴	0,610
Cr	1,61x10 ⁴	3,51x10 ⁴	9,75x10 ³	1,69x10 ⁴	0,746	8,60x10 ³	1,39x10 ⁴	1,93x10 ⁴	3,23x10 ⁴	0,834
Fn	1,33x10 ⁵	1,08x10 ⁵	9,95x10 ³	1,59x10 ⁵	0,364	4,69x10 ⁵	1,03x10 ⁶	3,11x10 ⁵	7,55x10 ⁵	0,734

Media UFC/mL /patógeno (muestras +)										
	sin PI		con PI		t-test	sin PI		con PI		t-test
	GEN-				p	GEN+				p
	media	DE	media	DE		media	DE	media	DE	
Pg	1,29x10 ⁵	8,52x10 ⁴	5,13x10 ⁵	5,20x10 ⁵	0,553	1,73x10 ⁵	1,61x10 ⁵	2,26x10 ⁷	3,72x10 ⁷	0,338
Pi	1,12x10 ⁵	6,29x10 ⁴	6,63x10 ⁴	7,87x10 ⁴	0,076	4,29x10 ⁴	4,73x10 ⁴	1,01x10 ⁶	2,00x10 ⁶	0,302
Tf	0,00	NV	6,68x10 ⁴	6,94x10 ⁴	NV	0,00	NV	5,91x10 ⁵	8,05x10 ⁵	NV
Pm	1,61x10 ⁶	NV	6,74x10 ³	9,21x10 ³	NV	2,95x10 ⁴	2,72x10 ⁴	2,54x10 ⁴	2,10x10 ⁴	0,610
Cr	4,03x10 ⁴	5,46x10 ⁴	2,93x10 ⁴	1,68x10 ⁴	0,746	2,58x10 ⁴	8,75x10 ³	4,35x10 ⁴	3,71x10 ⁴	0,834
Fn	1,33x10 ⁵	1,08x10 ⁵	1,12x10 ⁵	1,66x10 ⁵	0,364	4,69x10 ⁵	1,03x10 ⁶	3,49x10 ⁵	7,98x10 ⁵	0,734

Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Tf, *Tannerella forsythia*; Pm, *Parvimonas micra*; Cr, *Campylobacter rectus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; DE, desviación estándar; NV, no valorable

E.V. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN: ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Con el objetivo de identificar qué variables, evaluadas en la visita inicial, influyeron en la PI observada en los intervalos entre la visita inicial y tres meses y entre la visita inicial y doce meses, se ha realizado un análisis multivariante. Se han considerado todas las variables clínicas, microbiológicas, inmunológicas y el genotipo (GEN- y GEN+) descritas en el protocolo de estudio.

E.V.1 ANÁLISIS MULTIVARIANTE EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL Y TRES MESES

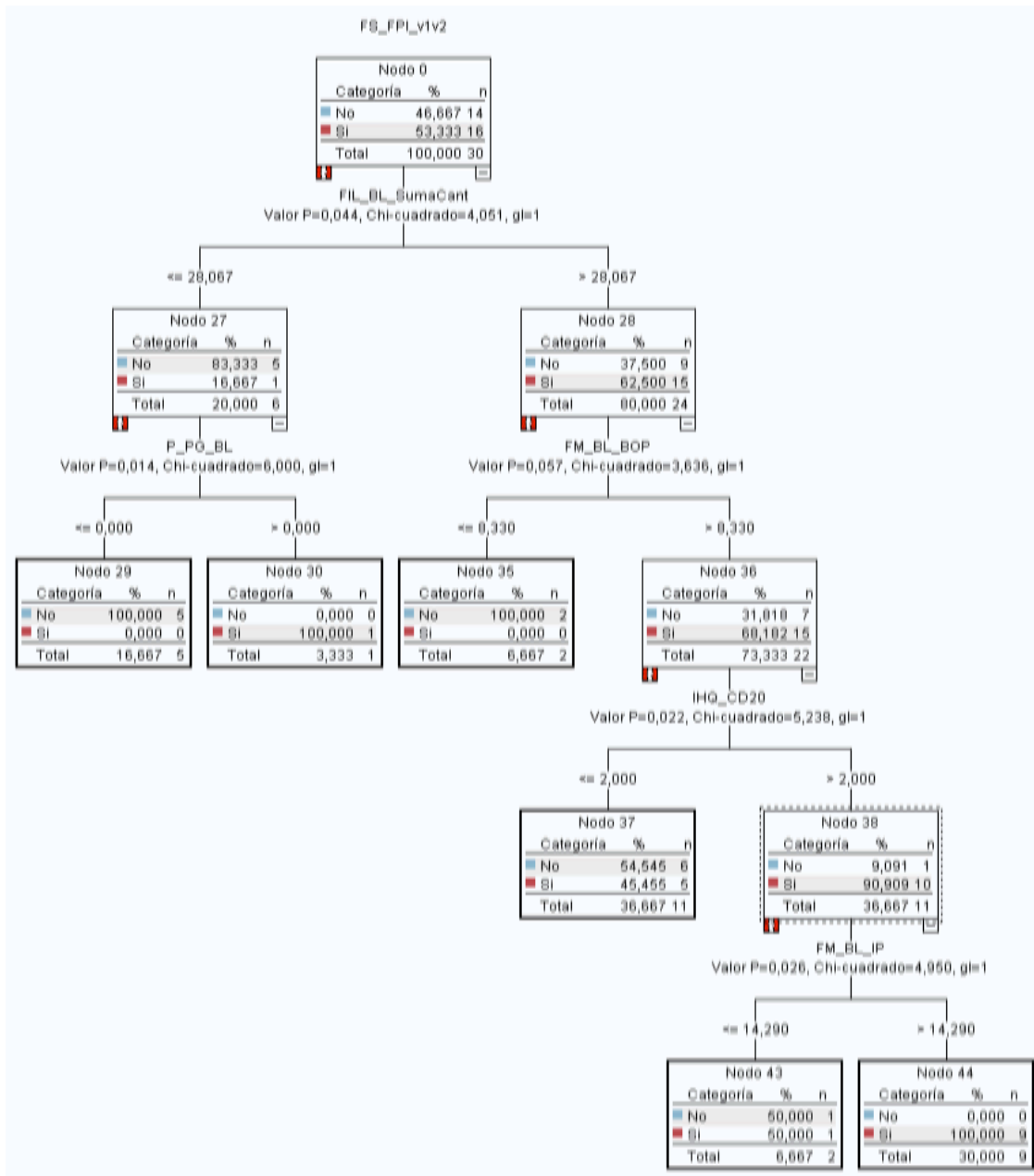
La cantidad de IL-1 β en la visita inicial fue la variable con mayor influencia en la PI observada a los tres meses: cuando la cantidad de IL-1 β fue inferior a 28,0%, la mayoría de los pacientes (83,3%) no perdieron inserción. Adicionalmente, en este grupo de pacientes, cuando se combinaba con la ausencia de *P. gingivalis* no se detectó ningún paciente con PI (100,0%) (Fig. 28).

Por otro lado, cuando la cantidad de IL-1 β fue superior a 28,0%, el porcentaje de pacientes sin PI disminuyó hasta 37,5%. En este grupo de pacientes, cuando el valor de sangrado al sondaje fue inferior a 8,3%, ningún paciente perdió inserción (100,0%) mientras que si el valor de sangrado al sondaje era superior a 8,3%, sólo el 31,8% de los pacientes no presentaban PI.

Este grupo de pacientes fue subdividido de acuerdo con la cantidad de anti-CD20: si el valor fue inferior a 2, la proporción de pacientes sin PI fue superior (54,5%) mientras que si el valor de anti-CD20 fue superior a 2 y el índice de placa mayor a 14,2%, todos los pacientes presentaban PI (Fig.28).

Todas las demás variables evaluadas no demostraron influencia estadísticamente significativa en este modelo.

Figura 28. Análisis multivariante: influencia de las variables clínicas, microbiológicas y inmunológicas en la pérdida de inserción entre la visita inicial y tres meses



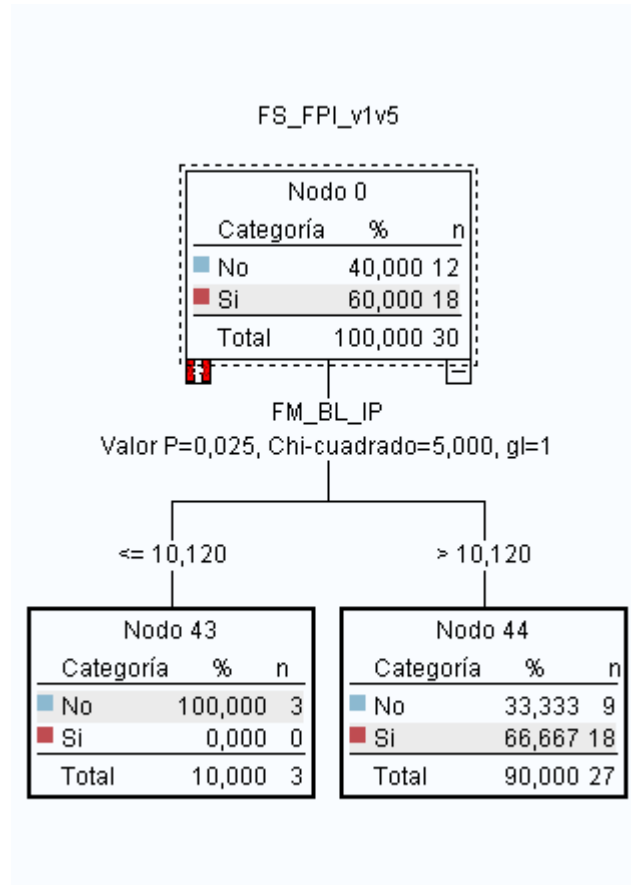
FS FPI v1-v2, pérdida de inserción entre la visita inicial y tres meses; IL BL Suma Cant, cantidad total de IL-1 β en la visita inicial; P PG BL, porcentaje de *P. gingivalis* en la visita inicial; FM BL BOP, sangrado al sondaje en la visita inicial; IHQ CD20, cantidad de anti-CD20 en la visita inicial; FM BL IP, índice de placa en la visita inicial

**E.V.2 ANÁLISIS MULTIVARIANTE EN EL INTERVALO ENTRE LAS VISITAS INICIAL
Y DOCE MESES**

Cuando se consideraron todas las variables evaluadas en la visita inicial, IP fue la variable más relevante en la predicción de futura PI, entre la visita inicial y doce meses: con un valor de IP inferior a 10,1% ningún paciente había perdido inserción; por el contrario, con un IP superior a 10,1%, el porcentaje de pacientes sin PI disminuyó hasta el 33,3% (Fig.29).

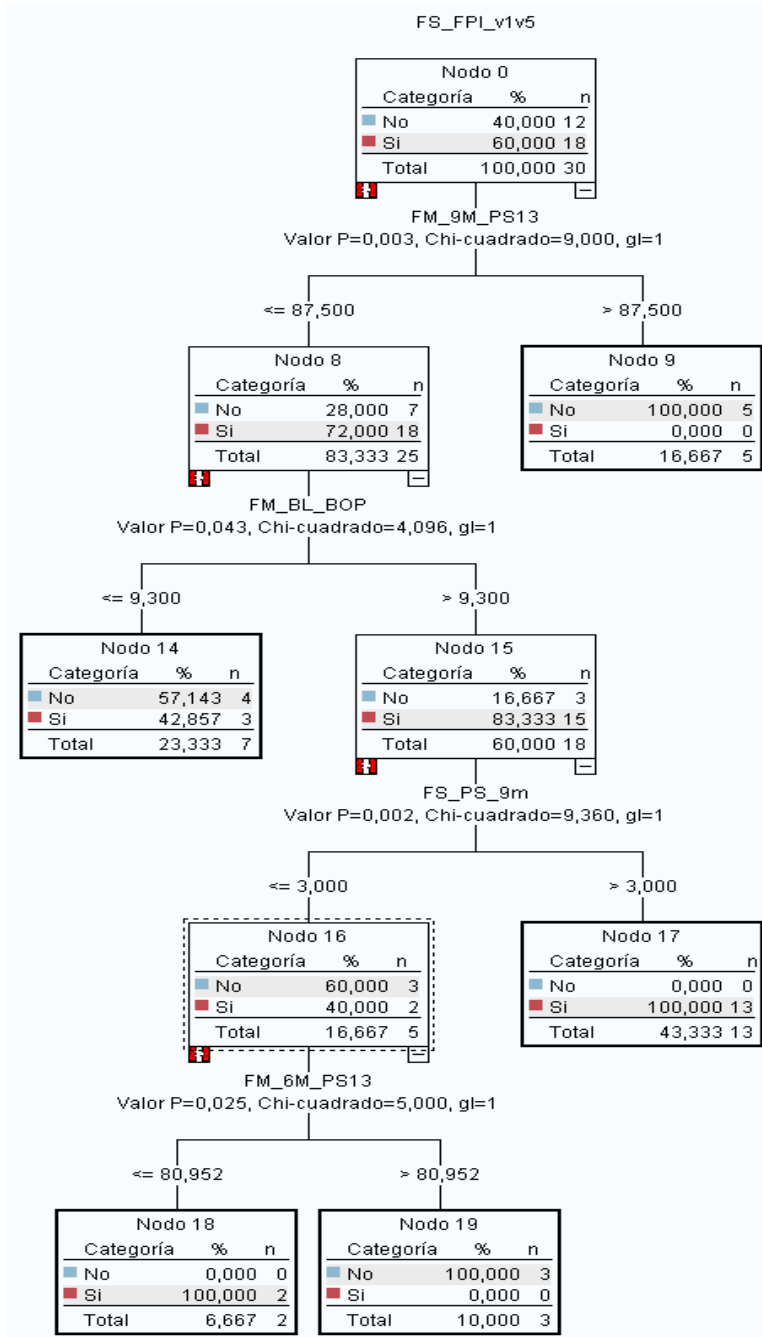
Cuando se consideraba, además, la evolución de las variables clínicas, el porcentaje de localizaciones con PS 1-3 mm en la visita a nueve meses fue el parámetro más importante: cuando el valor fue superior al 87,5%, ningún paciente había perdido inserción; por otra parte, con un valor de PS 1-3 mm inferior a 87,5%, el porcentaje de pacientes sin PI disminuyó hasta el 28,0%. En este grupo de pacientes, cuando la variable SAS en la visita inicial fue inferior a 9,3%, la proporción de pacientes sin PI disminuyó hasta el 57,1%; por el contrario, cuando el SAS fue superior a 9,3%, el número de pacientes sin PI disminuyó hasta el 16,6%. En este subgrupo de pacientes, si la PS media en la visita a los nueve meses era inferior a 3 mm, el porcentaje de pacientes sin PI aumentaba de 16% hasta el 60%, y si era superior a 3 mm, el 100,0% de los pacientes habían perdido inserción. Finalmente, si la proporción de localizaciones con PS 1-3 mm en la visita a los seis meses era mayor de 80,9%, el porcentaje de pacientes sin PI aumentaba de 60% hasta 100% (Fig. 30).

Figura 29. Análisis multivariante: influencia de la variable clínica, índice de placa, en la pérdida de inserción entre la visita inicial y doce meses



FS FPI v1-v5, pérdida de inserción entre la visita inicial y doce meses; FM BL IP, índice de placa en la visita inicial

Figura 30. Análisis multivariante: influencia de la variable clínica, proporción de localizaciones con profundidad de sondaje 1-3 mm (PS 1-3 mm), en la pérdida de inserción entre la visita inicial y doce meses



FS FPI v1-v5, pérdida de inserción entre la visita inicial y doce meses; FM 9M PS13, proporción de bolsas PS 1-3 mm en visita 9 meses; FM BL BOP, sangrado al sondaje en

la visita 9 meses; FS PS 9m, profundidad de sondaje media en la visita 9 meses; FM 6M PS13, proporción de bolsas PS 1-3 mm en la visita 6 meses

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

F. DISCUSIÓN

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

F. DISCUSIÓN

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue estudiar la influencia de las variables clínicas y microbiológicas en la progresión de la periodontitis, en dos cohortes de pacientes con periodontitis crónica avanzada, tratados y en fase de mantenimiento periodontal, y con distinto polimorfismo genético respecto a IL-1 β . Para cumplir los objetivos propuestos, fueron seleccionados 30 pacientes adultos, caucasianos, de ascendencia hispánica, posteriormente agrupados en dos grupos, GEN- y GEN+, de acuerdo con el resultado del test genético realizado.

La población de estudio presentaba 11 hombres y 19 mujeres, con una media de edad de 49 años (rango 36-60 años), la mayoría no fumadores (n=24). No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de estudio respecto a la distribución por sexo y edad; sin embargo, de los 6 pacientes fumadores, 5 pertenecían al grupo GEN-.

La caracterización de la población, en la visita inicial, permitió concluir que en general, no hubo diferencias en las variables clínicas evaluadas (IP, IG, PS, SAS, NIC) entre los pacientes de ambos grupo de estudio, GEN- y GEN+. Tampoco se detectaron diferencias estadísticamente significativas en las distintas variables microbiológicas analizadas; los patógenos periodontales más frecuentes fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia*; *P. gingivalis* representó la mayor proporción de la flora de todos los patógenos evaluados.

Los cambios ocurridos en las variables clínicas evaluadas, en las distintas visitas, no demostraron discrepancias entre los pacientes GEN- y GEN+; sin embargo, la disminución de IP observada en los 30 pacientes, fue estadísticamente significativa ($p=0,013$).

La progresión de la periodontitis en el total de la población de estudio y en los dos grupos de pacientes, GEN- y GEN+, fue basada fundamentalmente, en la PI observada durante los intervalos de seguimiento entre la evaluación basal y a los 3 y 12 meses. El número de pacientes que presentaron PI fue superior al número de pacientes que no habían perdido inserción (con PI n= 18, sin PI n=12); sin embargo, el numero de pacientes con PI y sin PI en los grupos GEN- y GEN+, fue idéntico (con PI n=9, sin PI n=6). Entre las visitas inicial y tres meses se pueden destacar la disminución del valor promedio de PS en los pacientes sin PI del grupo GEN- ($p=0,019$) y el aumento del valor medio de SAS de los pacientes sin PI del grupo GEN- ($p=0,013$). Los patógenos periodontales más frecuentes fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia*.

La frecuencia de detección de *P. gingivalis* fue similar en los pacientes con PI de ambos grupos. Entre las visitas inicial y doce meses se puede destacar la disminución del valor medio de IP en los dos grupos de pacientes; sin embargo, en los pacientes con PI del grupo GEN-, la diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,046$) y la disminución del valor medio de SAS también en ambos grupos de pacientes; sin embargo, en los pacientes del grupo GEN- con PI, la diferencia demostró una tendencia hacia la significación estadística ($p=0,062$). El perfil microbiológico fue similar al descrito en el intervalo entre las visitas inicial y tres meses.

Los resultados de nuestro estudio no demostraron diferencias significativas en la progresión de la periodontitis entre los pacientes GEN- y GEN+. Tampoco se encontraron diferencias relevantes en el análisis microbiológico y la cuantificación de los patógenos periodontales, entre los dos grupos evaluados.

La evaluación de la relación entre las distintas variables estudiadas y el riesgo de futura PI permitió concluir que la cantidad de IL-1 β , en la visita inicial fue la variable con mayor influencia en la PI observada a los tres meses. Por otro lado, los pacientes con IL-1 β inferior a 28,0%, en los que no se detectó la presencia de *P. gingivalis*, no perdieron inserción durante el intervalo entre las visitas inicial y tres meses. IP fue la variable más relevante en la predicción de futura PI, entre la visita inicial y doce meses; ningún paciente con IP inferior a 10,1% perdió inserción en el intervalo entre las visitas inicial y doce meses;

F.I. POBLACIÓN DE ESTUDIO

A partir de la publicación del estudio de Kornman y cols. (Kornman y cols. 1997), se ha realizado un número significativo de estudios con el objetivo de evaluar el papel del polimorfismo genético de la IL-1 β en el inicio, progresión y respuesta al tratamiento de la periodontitis, en pacientes fumadores y no fumadores. Las discrepancias en los resultados encontrados entre los distintos estudios pueden estar relacionados con una serie de factores. La prevalencia del polimorfismo genético de la IL-1 β en las poblaciones estudiadas, relacionada con variaciones étnicas, es un factor claramente relevante. En poblaciones caucásicas europeas, la frecuencia reportada varió entre 29% y 46% [29% (Parkhill y cols. 2000); 42,9% (Papapanou y cols. 2001); 46,4% (Hodge y cols. 2001); 43,5% (Meisel y cols. 2002); 38% (Sakellari y cols. 2003)].

Se han encontrado valores de prevalencia similares por autores que evaluaron poblaciones caucásicas de Estados Unidos [29,1% (Kornman y cols. 1997); 38% (McGuire y cols. 1999); 27,6% (Socransky y cols. 2000); 35,3% (Lang y cols. 2000); 34% (McDevitt y cols. 2000)]. En el estudio de Caffesse y cols. (2002), la prevalencia encontrada en una población de 50 pacientes hispánicos (mexicanos) fue de 26% (Caffesse y cols. 2002), valor similar al hallado por López e cols. (2005) en un grupo de 330 pacientes chilenos con periodontitis crónica (Lopez y cols. 2005). Agrawal y cols. (2006) detectaron un porcentaje de 30%, en un grupo de 120 individuos de Maharashtra (India) (Agrawal y cols. 2006). En oposición, Armitage y cols. (2000) detectaron, en un grupo de 300 individuos chinos, una prevalencia de genotipo positivo de 2,3% (Armitage y cols. 2000).

En nuestro trabajo, no se planteó el objetivo de evaluar la prevalencia del genotipo positivo en una determinada población, pero se realizó un número elevado de tests genéticos (PST ®) hasta conseguir 15 pacientes positivos. La dificultad en encontrar, en la población evaluada, pacientes genotipo positivo para la IL-1 β , fue un factor preponderante para el limitado tamaño muestral de nuestro estudio. Efectivamente, el número de pacientes evaluados en los estudios publicados es otro factor a considerar. Ioannidis (2003) evaluó 55 revisiones sistemáticas con meta-análisis referentes a asociaciones genéticas; testó la magnitud del efecto genético en relación con el número de pacientes en la población evaluada. El autor concluyó que, a pesar de la dificultad metodológica, son necesarios miles de pacientes para estimar el impacto de un polimorfismo genético en determinada patología (Ioannidis 2003). Sin embargo, ninguno de los estudios publicados está de acuerdo con ese criterio; la mayoría incluye una población de estudio inferior a 100 pacientes. McDevitt y cols. (2000) estudiaron la relación entre el polimorfismo genético de la IL-1 y el diagnóstico periodontal en un grupo de pacientes de una clínica privada; la población de estudio incluyó 44 pacientes con periodontitis crónica (18 GEN+/26 GEN-) y 46 pacientes con salud periodontal (13 GEN+/33 GEN-) (McDevitt y cols. 2000). Nastri & Caruso (2003) analizaron la asociación entre el genotipo compuesto y la periodontitis severa en 20 pacientes (7 GEN+) y 10 controles (4 GEN+) (Nastri y cols. 2003). Sakellari y cols. (2003) evaluaron 45 pacientes con periodontitis crónica, 20 GEN+ y 25 GEN- (Sakellari y cols. 2003); posteriormente, los autores examinaron 192 individuos con diferente diagnóstico periodontal, 56 con periodontitis crónica (19 GEN+/36 GEN-) (Sakellari y cols. 2006). En nuestro trabajo

fueron evaluados 30 pacientes con periodontitis crónica; a pesar de este bajo número, el tamaño muestral puede ser considerado como comparable con otros estudios publicados.

Otros autores han evaluado poblaciones más numerosas. Papapanou y cols. (2001) en un estudio de casos y controles, estudiaron 205 pacientes, 132 con periodontitis y 73 con salud periodontal; sin embargo, los autores incluyeron casos de periodontitis con distinta severidad, moderada o avanzada (Papapanou y cols. 2001). Igualmente, en el estudio de casos y controles realizado por Meisel y cols. (2004) se evaluó un número relevante de pacientes, 1085; sin embargo, los autores dividieron los pacientes en salud periodontal y periodontitis, sin hacer referencia a la severidad encontrada (Meisel y cols. 2004).

F.II. DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

El criterio utilizado para definir periodontitis es otro factor primordial en la evaluación de los resultados y posibles comparaciones entre los estudios. Durante los últimos años, se han sugerido diferentes sistemas para definir periodontitis. De acuerdo con la clasificación presentada por Armitage (1999), la periodontitis crónica es “una enfermedad infecciosa que resulta en la inflamación de los tejidos de soporte del diente, pérdida de inserción y pérdida ósea progresiva...caracterizada por formación de bolsas y/o recesión gingival”. Según la extensión de la destrucción observada, la periodontitis crónica se clasifica en localizada (< 30% localizaciones) o generalizada (> 30% localizaciones); según la severidad, basada en la PI, se clasifica en leve (PI = 1-2 mm), moderada (PI = 3-4 mm) y severa o avanzada (PI ≥ 5 mm) (Armitage 1999). A pesar de las limitaciones inherentes, referidas en la literatura, es la clasificación más utilizada actualmente (Armitage y cols. 2010). van der Velden (2000) propuso una clasificación basada en la utilización de diferentes parámetros: extensión y severidad de la destrucción periodontal, características clínicas y edad, con el objetivo de limitar la posibilidad de múltiples interpretaciones (Van der Velden 2000). Posteriormente, el autor sugirió que estos parámetros sólo deben ser aplicados en situaciones en las que se ha diagnosticado periodontitis, definida como la presencia de bolsas periodontales ≥ 4mm y pérdida de inserción (van der Velden 2005). Tonetti y cols. (2005) propusieron un sistema de definición de periodontitis más específico y sensible, con el propósito de uniformizar los trabajos de investigación, basado en dos criterios: 1. presencia de PI proximal ≥ 3 mm en 2 ó más dientes no adyacentes; 2. presencia de PI proximal ≥ 5 mm en más de 30% de

los dientes (Tonetti y cols. 2005). Page y cols. (2007) revisaron las diferentes clasificaciones publicadas y propusieron un sistema, diseñado para estudios de vigilancia de poblaciones, basado en dos categorías: 1. periodontitis moderada – presencia de 2 ó más localizaciones interproximales con PI \geq 4 mm o 2 ó más localizaciones con profundidad de sondaje \geq 5 mm, en diferentes dientes; 2. periodontitis severa - presencia de 2 o más localizaciones interproximales con PI \geq 6 mm, en diferentes dientes y 1 ó más localizaciones con profundidad de sondaje \geq 5 mm (Page y cols. 2007). En nuestro trabajo se consideraron, únicamente, pacientes con diagnóstico clínico de periodontitis crónica avanzada, de acuerdo con los criterios de Armitage (1999), definida como una PI generalizada en todos los cuadrantes y pérdida ósea radiográfica superior al 50% en la mayoría de los dientes.

La existencia de diferentes criterios para definir periodontitis, influye de forma considerable los resultados de los estudios e imposibilita, en la mayoría de las situaciones, establecer comparaciones. Teniendo en consideración que la transferencia de los resultados encontrados en la investigación para la clínica diaria es el objetivo principal de la investigación científica, la utilización de un sistema de clasificación simple, específico y sensible, con utilización de un umbral definido, es fundamental (Costa y cols. 2009, Baelum y cols. 2012).

F.III. CRITERIOS DE PROGRESIÓN

En nuestro trabajo, la evaluación de la progresión de la periodontitis en el total de la población de estudio y en los dos grupos de pacientes, GEN- y GEN+, fue basada, fundamentalmente, en la pérdida de inserción (PI) observada durante el seguimiento a 3 y 12 meses. Se ha definido la PI a nivel del paciente y a nivel de la localización:

- Un paciente con PI es aquel que: a) ha perdido inserción en, al menos, una localización entre la visita inicial y tres meses; o b) ha perdido inserción en, al menos, dos localizaciones durante los doce meses del estudio, en la comparación entre dos visitas consecutivas.
 - Una localización con PI es aquella con cambio en el nivel de inserción relativo (NIR) mayor a 0,9 mm entre dos visitas consecutivas.
-

En la mayoría de los estudios publicados, que evalúan el papel de las variables clínicas, microbiológicas y genéticas en la progresión de la periodontitis, se ha considerado, generalmente, un valor de PI \geq 2 mm como indicador de progresión (Lang y cols. 1986, Claffey y cols. 1990, Cullinan y cols. 2001, Tonetti y cols. 2005, Byrne y cols. 2009). Ocasionalmente, en estudios epidemiológicos, fue seleccionado un umbral de PI \geq 3 mm (Socransky y cols. 1984, Ogawa y cols. 2002). En comparación con el valor elegido en nuestro trabajo, el criterio utilizado en la mayoría de los estudios no permite detectar diferencias mínimas de PI, lo que puede menospreciar el valor predictivo de cada variable evaluada, en un determinado intervalo de tiempo.

Oringer y cols. (1998) estudiaron el efecto de diferentes umbrales de PI (0,58 mm; 1,16 mm; 1,74 mm), evaluados con una sonda periodontal de presión controlada, en la incidencia de progresión de la periodontitis. Los resultados demostraron que la incidencia de progresión fue dependiente del umbral utilizado; los autores sugirieron que las localizaciones con menor PI pueden ser más susceptibles a futura PI, en comparación con localizaciones con historia de destrucción periodontal (Oringer y cols. 1998).

F.IV. RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES CLÍNICAS Y MICROBIOLÓGICAS ESTUDIADAS Y EL POLIMORFISMO GENÉTICO

La población de nuestro trabajo de investigación incluyó un grupo de pacientes con periodontitis crónica avanzada en fase de mantenimiento y distinto polimorfismo genético respecto a IL-1 β , que realizaron la fase activa del tratamiento periodontal (raspado y alisado radicular y, en algunos casos, cirugía periodontal), en la clínica del Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid.

Uno de los objetivos del trabajo fue evaluar la relación entre las distintas variables clínicas y microbiológicas con el genotipo polimórfico para la IL-1 β . En general, no se han detectado diferencias en las variables clínicas, entre los pacientes de ambos grupo de estudio, GEN- y GEN+.

Una de las variables clínicas evaluados en nuestro trabajo fue el IG, parámetro indicativo de inflamación superficial; el valor medio entre los pacientes del grupo GEN- fue 7% y entre los pacientes del grupo GEN+ fue 15% (p=0,180). Estos resultados están de acuerdo con los presentados por otros autores. Caffesse y cols. (2002) evaluaron 22

pacientes (5 GEN+) en fase de mantenimiento; no encontraron diferencias en el valor medio de IG entre los pacientes del grupo GEN- (10,6%) y GEN+ (11,3%) (Caffesse y cols. 2002). Igualmente, en el estudio realizado por Kowalski y cols. (2006) no se encontraron diferencias significativas en el valor medio de IG en los pacientes de ambos grupos de estudio (GEN- 38,0%; GEN+ 31,3%) (Kowalski y cols. 2006)

Sin embargo, no existen datos suficientes en la literatura para establecer una correlación entre el IG y el genotipo positivo de la IL-1 β .

Otra variable clínica evaluada en nuestro trabajo fue el SAS; el valor medio entre los pacientes del grupo GEN- fue 12% y entre los pacientes del grupo GEN+ fue 16% ($p=0,085$). En la mayoría de los estudios, y de acuerdo con nuestro resultado, no hay diferencias en el valor medio de SAS y el genotipo. Por ejemplo, en el estudio de Kornman y cols. (1997) el valor medio de SAS fue de 16,2% y 19,1% para los pacientes de los grupos GEN- y GEN+, respectivamente (Kornman y cols. 1997). Cullinan y cols. (2001) estudiaron 295 pacientes (38,9% GEN+); en la evaluación inicial del estudio longitudinal prospectivo, el valor medio de SAS fue de 13,3% en los pacientes del grupo GEN+ y de 14,1% en los pacientes del grupo GEN- (Cullinan y cols. 2001). También Feloutzis y cols. (2003) reportaron, en un estudio realizado en 90 pacientes (31% GEN+) en fase de mantenimiento, diferencias no significativas en valores medios de SAS, 13,0% (GEN-) y 5,81 (GEN+) (Feloutzis y cols. 2003). De acuerdo con Agerbaek y cols. (2006), la presencia de valores similares de SAS (GEN- 19,0%; GEN+ 16,3%) entre los 151 pacientes evaluados (35,8% GEN+) reflejó la eficacia clínica de la fase de mantenimiento periodontal (Agerbaek y cols. 2006). En oposición, Agrawal y cols. (2006), encontraron una prevalencia superior de localizaciones con SAS en pacientes GEN+ (98%) en comparación con los pacientes GEN- (67%) (Agrawal y cols. 2006). Asimismo, los resultados del estudio de Archana y cols. (2012) indicaron una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,01$) en el valor medio de SAS entre los pacientes GEN+ (72,2%) y GEN- (40,9%). A este respecto, Shapira y cols. (2005) concluyeron que, de acuerdo con el conocimiento actual, es difícil establecer una relación entre el GEN+ y el SAS. Los autores apuntaron, como posibles razones, el reducido tamaño muestral de los diferentes estudios, la evaluación de los parámetros inflamatorios como variables secundarias y la influencia de los factores modificables, como el tabaco, en el SAS (Shapira y cols. 2005).

La mayoría de los estudios que analizaron el efecto del genotipo, evaluaron una o más variables de severidad y extensión de la periodontitis, incluyendo profundidad de sondaje y nivel de inserción clínico. En nuestro trabajo, el valor medio de PS fue de 2,66 mm para los pacientes del grupo GEN- y de 2,29 mm para los pacientes del grupo GEN+; a pesar de no ser clínicamente significativa, la diferencia entre los dos grupos fue estadísticamente significativa ($p=0,022$). Este resultado está en desacuerdo con el publicado por Kowalki y cols. (2006), relativo a una población de 16 pacientes (7 GEN+) con periodontitis crónica avanzada; el valor medio de PS fue de 3,5 mm y de 5,1 mm para los pacientes de los grupos GEN- y GEN+, respectivamente (Kowalski y cols. 2006). En oposición, otros autores no encontraron diferencias en los valores de PS. Por ejemplo, Cullinan y cols. (2001) describieron valores medios de PS comparables entre los grupos GEN- y GEN+, en la evaluación inicial del estudio longitudinal con 5 años de observación (Cullinan y cols. 2001). Nastri y cols. (2003), en un estudio de casos y controles que incluyó 20 pacientes (35% GEN+), reportaron valores medios de PS de 5,05 mm (GEN+) y 5,27 mm (GEN-) (Nastri y cols. 2003). Koning y cols. (2005) tampoco no encontraron diferencias entre los valores de PS (5,3 mm GEN- vs 4,7 mm GEN+), en un estudio realizado en 53 pacientes (22,6% GEN+) con periodontitis crónica, tratados y en fase de mantenimiento (Konig y cols. 2005).

Los resultados de nuestro trabajo, correspondientes a la visita inicial, indicaron una media de NIC, en las localizaciones seleccionadas, de 5,6 mm y de 5,7 mm para los grupos GEN- y GEN+, respectivamente. La diferencia entre los dos grupos no fue estadísticamente significativa ($p=0,795$). En el estudio de Agrawal y cols. (2006) tampoco se detectaron diferencias significativas en los valores de NIC, entre los pacientes GEN- y GEN+ ($p>0,05$) (Agrawal y cols. 2006). En oposición, López y cols. (2005) detectaron diferencias significativas con menor número de dientes ($p=0,048$) y una mayor porcentaje de localizaciones con PI ($p=0,023$) en los pacientes del grupo GEN+ (Lopez y cols. 2005).

A pesar de que la pérdida de dientes es considerada una variable clínica, en la mayoría de los casos los dientes no se pierden, sino son extraídos por el clínico durante la fase de mantenimiento periodontal, es decir, la pérdida de dientes es dependiente de la decisión del clínico, lo que supone un factor de confusión. En oposición, la PI puede reflejar efectivamente la progresión de la periodontitis. En nuestro trabajo, la pérdida de dientes no fue considerada como variable respuesta para la comparación entre los dos grupos de estudio ni tampoco para evaluar la progresión de la periodontitis. Sin embargo, algunos

estudios publicados en la literatura consideraron este parámetro. Maguire y cols. (1999), en un estudio transversal, estudiaron 42 pacientes caucasianos, fumadores y no fumadores, en fase de mantenimiento periodontal durante 14 años. El riesgo de pérdida de dientes aumentó 2,7 veces, en los pacientes GEN+, y 2,9 veces en los pacientes fumadores; el efecto combinado del genotipo positivo y del tabaco aumentó 7,7 veces el riesgo de pérdida de dientes (McGuire y cols. 1999).

Cattabriga y cols. (2001), en un estudio longitudinal retrospectivo, evaluaron el efecto del genotipo positivo en la pérdida ósea radiográfica y en la pérdida de dientes. La población del estudio incluyó 60 pacientes no fumadores (23 GEN+) con periodontitis moderada a avanzada, tratados y en fase de mantenimiento durante 10 años. No fueron detectadas diferencias en la pérdida de dientes entre pacientes GEN- y GEN+. Sin embargo, la combinación entre el genotipo positivo y el nivel óseo en la visita inicial, fue importante en la predicción de variaciones del nivel del hueso alveolar después del tratamiento (Cattabriga y cols. 2001). Según Nieri y cols. (2002) la extensión de la pérdida ósea en la visita inicial asociada al genotipo positivo, puede ser considerado un indicador pronóstico para pérdida ósea futura (Nieri y cols. 2002).

Igualmente, en nuestro trabajo, no se detectaron diferencias en las variables microbiológicas analizadas, entre los pacientes GEN- y GEN+, en la visita inicial. Los patógenos periodontales más frecuentes fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia*; *P. gingivalis* representó la mayor proporción de la flora de todos los patógenos evaluados. Socransky y cols. (2000) estudiaron 2736 muestras de placa bacteriana subgingival tomadas en la superficie mesio-vestibular de todos los dientes de 108 pacientes con periodontitis y diferente genotipo polimórfico para la IL-1. Los pacientes GEN+ presentaron mayor proporción de especies del complejo rojo y naranja, asociadas a inflamación y destrucción periodontal, cuando fueron comparados con los pacientes GEN-. Los autores propusieron posibles explicaciones para la diferencia encontrada. Una posibilidad está relacionada con el efecto directo de la IL-1 en el crecimiento y/o virulencia de las especies bacterianas, previamente descrito en la literatura (Porat y cols. 1991, Kanangat y cols. 1999); otro posible mecanismo está relacionado a una sobreproducción de IL-1 α y IL-1 β , en los pacientes GEN+ (Gore y cols. 1998), asociada a aumento de la respuesta inflamatoria y de los niveles de especies bacterianas subgingivales, en particular las pertenecientes al los complejos rojo y naranja (Ramberg y cols. 1996, Socransky y cols. 1998) Los resultados encontrados en nuestro trabajo no

están de acuerdo con los presentados por Socransky y cols (2000). Se pueden destacar algunas diferencias metodológicas entre los estudios, ya que en el estudio mencionado el análisis microbiológico fue realizado a través de técnicas de hibridización ADN-ADN (Socransky y cols. 1994) y la población seleccionada incluyó pacientes con periodontitis y distintos grados de severidad.

Kowalski y cols. (2006) obtuvieron resultados similares al relacionar el genotipo con la cantidad total de bacterias patogénicas periodontales; a pesar del número limitado de pacientes (7 GEN+), fueron identificados los mismos patógenos periodontales en ambos grupos; sin embargo, la cantidad total de bacterias de los complejos rojo y naranja fue, respectivamente, 3 veces y 2 veces superior en los pacientes del grupo GEN+. La evaluación microbiológica fue realizada a través de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction* , PCR) (Kowalski y cols. 2006).

Contrariamente, y de acuerdo con los resultados de nuestro trabajo, Papapanou y cols. (2001) no encontraron diferencias en el perfil microbiológico de pacientes con distinto genotipo. Curiosamente, los autores reportaron niveles inferiores de anticuerpos séricos contra las bacterias seleccionadas en los pacientes del grupo GEN+ (Papapanou y cols. 2001).

Por otra parte, Laine y cols. (2001) relacionaron los polimorfismos del gen IL-1 con parámetros microbiológicos y con el tabaco, en 105 pacientes con periodontitis, 52 fumadores y 53 no fumadores; los autores utilizaron cultivo bacteriano e identificaron la presencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*. Los resultados del estudio indicaron que la prevalencia de las bacterias evaluadas fue similar entre los pacientes fumadores y no fumadores; sin embargo, en la mayoría de los pacientes GEN+ no fueron detectadas las bacterias patogénicas periodontales estudiadas (Laine y cols. 2001).

En el estudio transversal realizado por Agerbaek y cols. (2006), los pacientes del grupo GEN- presentaron niveles superiores de bacterias patogénicas periodontales (i.e. *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* y *P. intermedia*) que los pacientes GEN+. Los autores sugirieron, en la conclusión del artículo, que es necesaria una menor carga bacteriana en los pacientes GEN+ para desarrollar el mismo grado de periodontitis (Agerbaek y cols. 2006).

F.V. RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO GENÉTICO Y LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS

El segundo objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el impacto del polimorfismo genético de la IL-1 en la progresión de la periodontitis. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los cambios ocurridos en las diferentes variables clínicas evaluadas entre los pacientes GEN- y GEN+ en las distintas visitas. Los pocos estudios publicados con el mismo propósito presentaron resultados inconsistentes.

El sangrado al sondaje es el parámetro clínico más significativo para evaluar inflamación periodontal. En nuestro trabajo, el valor medio de SAS, ha disminuido en los dos grupos de pacientes entre las visitas inicial y doce meses, sin diferencias significativas entre los pacientes GEN- y GEN+. Este resultado es contrario al publicado por Lang y cols. (2000) en un estudio longitudinal prospectivo realizado en 323 pacientes, fumadores y no fumadores, en fase de mantenimiento periodontal. Los resultados del estudio indicaron una mayor prevalencia y incidencia de SAS en los pacientes GEN+, no fumadores (Lang y cols. 2000).

En nuestro trabajo, la evolución de los valores de PS promedio en ambos grupos demostró pequeñas alteraciones durante los 12 meses del estudio. Sin embargo, la reducción observada fue estadísticamente significativa ($p=0,012$). La diferencia descrita en el valor medio de PS en la visita inicial entre los dos grupos, se mantuvo en las diferentes visitas. No se observaron diferencias en los cambios ocurridos entre los pacientes GEN- y GEN+ ($p=0,750$). König y cols. (2005) evaluaron, en un estudio retrospectivo con duración media 15,5 años, la influencia del genotipo de la IL-1 en las alteraciones de profundidad de sondaje y en la pérdida de dientes. Los resultados del estudio están de acuerdo con nuestro trabajo; los autores no encontraron diferencias significativas en los cambios de PS, entre los pacientes GEN- y GEN+ (König y cols. 2005)

La utilidad de los parámetros microbiológicos como indicadores de progresión de la periodontitis fue sugerida en distintos estudios longitudinales prospectivos (Wennstrom y cols. 1987, Haffajee y cols. 1991, Haffajee y cols. 1995, Haffajee y cols. 1996, Rams y cols. 1996, Dahlen y cols. 1998, Chaves y cols. 2000, Tran y cols. 2001). Algunos autores demostraron que la ausencia de los patógenos periodontales es mejor predictor de salud periodontal que su presencia de enfermedad (Wennstrom y cols. 1987, Dahlen y cols.

1998). Por otro lado, otros estudios encontraron una relación entre la presencia de los patógenos a partir de determinado umbral, y el riesgo de recurrencia de la periodontitis. Rams y cols (1996) demostraron un riesgo aumentado 2,5 veces, si se detectaban *A. actinomycetemomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus* y *P. micra* en la visita inicial (Rams y cols. 1996). Chaves y cols. (2000) identificaron la presencia de *P. gingivalis* como un importante factor predictivo de pérdida ósea y progresión de la periodontitis (Chaves y cols. 2000). Tran y cols. (2001) concluyeron que los pacientes en los que se observaba persistencia de *T. forsythia* en la flora subgingival, presentaron 5,3 veces más probabilidad de pérdida de inserción que aquellos pacientes en los que no fue detectada la presencia de *T. forsythia* (Tran y cols. 2001). Byrne y cols. (2009) realizaron un estudio longitudinal prospectivo durante doce meses; los autores evaluaron la capacidad de los parámetros clínicos y microbiológicos de prever progresión de la periodontitis, definida como pérdida de inserción clínica ≥ 2 mm. Ninguna de las variables clínicas estudiadas permitió pronosticar la pérdida de inserción futura; sin embargo, la presencia de niveles aumentados de *P. gingivalis* y *T. denticola* en la placa bacteriana subgingival ayudó a identificar las localizaciones con riesgo significativo de progresión (Byrne y cols. 2009). Por el contrario, en nuestro trabajo de investigación ninguno de los patógenos periodontales evaluados demostró una relación significativa con la presencia o ausencia de pérdida de inserción observada.

La revisión sistemática de Huynh-Ba y cols. (2007) reveló falta de evidencia científica para soportar la utilización del genotipo IL-1 en la discriminación de pacientes con riesgo de progresión de la periodontitis. Según los autores, la evaluación del genotipo en conjunto con otros factores (i.e. tabaco y presencia de bacterias específicas) puede proporcionar información adicional respecto a progresión (Huynh-Ba y cols. 2007).

F.VI. INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO GENÉTICO EN EL RESULTADO DEL TRATAMIENTO PERIODONTAL

Otros estudios publicados en la literatura evaluaron el impacto del genotipo polimórfico de la IL-1 en la evolución de la periodontitis en pacientes no tratados, o en el resultado del tratamiento periodontal activo, quirúrgico o no quirúrgico.

Cullinan y cols (2001) investigaron el efecto del genotipo en 295 pacientes caucásicos (38,9% GEN+) durante un periodo de observación de 5 años. En ese intervalo de tiempo

no fue realizado ningún tratamiento periodontal, incluyendo mantenimiento. Los resultados del estudio indicaron que los pacientes con más de 50 años, no fumadores y GEN+ presentaron un aumento estadísticamente significativo en el valor medio de PS ($p < 0,05$). Adicionalmente, los pacientes GEN+ fumadores y GEN+ con presencia de *P. gingivalis* en la placa bacteriana subgingival, presentaron mayor prevalencia de bolsas con profundidad $\geq 3,5$ mm. Considerando todos los grupos evaluados, los pacientes GEN+ no presentaron mayor PI cuando fueron comparados con los pacientes GEN-. Los autores concluyeron que el genotipo positivo de la IL-1 es un factor adicional, pero no imprescindible para la progresión de la periodontitis (Cullinan y cols. 2001). En relación con el artículo de Cullinan y cols. (2001), la revisión sistemática de Huynh-Ba y cols. (2007) comenta la naturaleza multifactorial de la periodontitis, reforzando el papel del tabaco y de la presencia de *P. gingivalis* como factores de riesgo para la progresión de la enfermedad (Huynh-Ba y cols. 2007).

Ehmke y cols. (1999), en un estudio longitudinal prospectivo, evaluaron 33 pacientes (16 GEN+), durante 24 meses tras tratamiento periodontal no quirúrgico, raspado y alisado radicular; en el grupo test, constituido por 17 pacientes, se incluyó en el tratamiento asociado antibiótico sistémico e irrigación subgingival con clorhexidina. Los autores no encontraron diferencias en la PI observada (umbral considerado ≥ 2 mm), entre los pacientes GEN- y GEN+ (Ehmke y cols. 1999).

De Sanctis y cols. (2000) estudiaron el impacto del genotipo en el mantenimiento en la ganancia de NIC obtenida tras tratamiento periodontal quirúrgico, a través de técnicas de regeneración tisular guiada (RTG), con utilización de membranas de politetrafluoroetileno expandido (ePTFE). Los 40 pacientes incluidos en el estudio (14 GEN+) presentaban defectos óseos verticales con PI > 8 mm en la visita inicial. Los resultados demostraron que el genotipo positivo no afectó la respuesta al tratamiento después de 1 año de seguimiento pero, sin embargo, tuvo un impacto relevante en la estabilidad a largo plazo (4 años). Los autores concluyeron que los pacientes GEN+ tienen 10 veces más probabilidad de PI comparados con los pacientes GEN- (De Sanctis y cols. 2000). En oposición, Christgau y cols. (2003) no detectaron diferencias en los resultados clínicos y radiográficos obtenidos 12 meses después del tratamiento regenerativo de defectos infraóseos, con utilización de diferentes tipos de membranas, entre pacientes GEN- y GEN+ (Christgau y cols. 2003). Asimismo, Weiss y cols. (2004), en un estudio retrospectivo realizado a 44 pacientes (13 GEN+) con defectos infraóseos tratados con

injertos óseos, concluyeron que el genotipo no influyó en los resultados clínicos del tratamiento, es decir no hubo diferencias estadísticamente significativas en la disminución de PS ($p=0,70$) y ganancia de inserción ($p=0,40$) entre los pacientes GEN- y GEN+ (Weiss y cols. 2004). El estudio longitudinal publicado por Cortellini y cols. (2004) evaluó la influencia del genotipo en el resultado de técnicas de RTG en 86 pacientes (32 GEN+) durante un periodo medio de 8 años. Los autores concluyeron que los resultados clínicos obtenidos con RTG pueden mantenerse a largo plazo, sin diferencias significativas entre pacientes GEN+ y GEN- ($p=0,438$)(Cortellini y cols. 2004).

Caffesse y cols. (2002) evaluaron el resultado de la cirugía mucogingival para recubrir recesiones, mediante injertos de tejido conectivo, en 22 pacientes (5 GEN+). Los autores no encontraron diferencias significativas en el porcentaje de recubrimiento obtenido, entre los pacientes GEN- y GEN+; sin embargo, un mayor número de pacientes GEN- presentaron cubrimiento radicular completo (Caffesse y cols. 2002). Igualmente, Jankovic y cols. (2013) evaluaron la estabilidad del cubrimiento radicular, en dos periodos de observación (12 y 36 meses después del tratamiento quirúrgico), en 55 pacientes (19 GEN+). A los 12 meses, no se detectaron diferencias en la efectividad del tratamiento ni tampoco en el porcentaje de cubrimiento obtenido entre los pacientes GEN+ y GEN-; sin embargo, a los 36 meses los pacientes GEN+ perdieron aproximadamente 20% del cubrimiento alcanzado. Los autores concluyeron que el genotipo tuvo un impacto importante en la estabilidad, a largo plazo, del tratamiento de recesiones localizadas (Jankovic y cols. 2013).

De acuerdo con la revisión de la literatura de Grigoriadou y cols. (2010), todavía no existe evidencia científica suficiente para determinar la influencia del genotipo polimórfico de la IL-1 en el resultado clínico del tratamiento periodontal (Grigoriadou y cols. 2010). Los estudios publicados en la literatura que evalúan la cicatrización tras tratamiento periodontal no quirúrgico o quirúrgico incluyen un número reducido de pacientes y comprenden un período de observación muy variable, lo que imposibilita la detección de diferencias estadísticamente significativas entre pacientes GEN+ y GEN-.

F.VII. EVALUACIÓN DEL RIESGO DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN

Con el objetivo de evaluar el riesgo de futura PI, hemos analizado las variables clínicas, microbiológicas, inmunológicas y genéticas que influyeron en la PI observada, entre las

visitas inicial y tres meses y entre las visitas inicial y doce meses mediante un de análisis multivariante. La cantidad de IL-1 β en la visita inicial fue la variable con mayor influencia en la pérdida de inserción observada a los tres meses: la mayoría de los pacientes con IL-1 β inferior a 28%, no perdieron inserción; adicionalmente, en este grupo de pacientes, cuando se combinaba con la ausencia de *P. gingivalis*, no se detectó ningún paciente con pérdida de inserción. Por otro lado, IP fue la variable más relevante en la predicción de futura pérdida de inserción: con un valor de IP inferior a 10,1% ningún paciente había perdido inserción; por el contrario, con un IP superior 10,1%, el porcentaje de pacientes sin PI disminuyó hasta el 33,3%.

Pocos estudios publicados en la literatura han utilizado esta metodología estadística para evaluación de los resultados encontrados. Gamonal y cols. (2010) estudiaron la prevalencia y extensión de la pérdida de inserción en dos cohortes de pacientes adultos. El análisis multivariante permitió identificar los principales indicadores de riesgo para pérdida de inserción clínica > 6 mm en una o más localizaciones: edad – el número de localizaciones con pérdida de inserción avanzada fue 38,5% en el grupo adultos jóvenes (35 a 44 años) y 69,3% en el grupo de adultos mayores (65 a 74 años) ($p < 0,05$); sexo – la pérdida de inserción fue superior en los hombres ($p < 0,05$); bajo nivel educacional (≤ 12 años de escolaridad) y tabaco – los valores de pérdida de inserción fueron 2,5 mm para los pacientes no fumadores y 2,8 mm para los pacientes fumadores ($p < 0,05$) (Gamonal y cols. 2010). Laine y cols. (2013) utilizaron un modelo similar para evaluar la susceptibilidad a la periodontitis. Los autores evaluaron, a través de árboles de decisión, el papel de doce polimorfismos genéticos y de siete especies bacterianas en el riesgo para la periodontitis. El objetivo fue distinguir entre periodontitis y salud periodontal con base a los resultados del cultivo bacteriano y del genotipo, por separado y, posteriormente, combinar datos genéticos y microbiológicos. Los autores identificaron la presencia de *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y de los SNP TNF - 857 y IL-1 α como discriminadores entre periodontitis y salud periodontal (Laine y cols. 2013).

La validez del análisis multivariante depende del diseño del estudio, incluyendo del tamaño muestral, selección del polimorfismo genético y patógenos periodontales y del método microbiológico elegido. En nuestro trabajo de investigación, el limitado número de pacientes, asociado a una cantidad considerable de variables evaluadas, condicionó la interpretación de los resultados.

F.VIII. OTROS FACTORES ASOCIADOS AL RIESGO DE PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS

En los factores de riesgo genéticos subyacen, en parte, las diferencias en la susceptibilidad a la periodontitis (Kinane y cols. 2003), incluyendo las respuesta inflamatoria y inmunológica del huésped, capaz de inducir alteraciones en el ambiente subgingival, favoreciendo el crecimiento de patógenos periodontales (Bartold y cols. 2013). En nuestro trabajo de investigación hemos abordado la influencia de los factores genéticos y microbiológicos en la progresión de la periodontitis. Nuestros resultados no han demostrado una relación significativa entre el polimorfismo genético de la IL-1 y la presencia de bacterias específicas con la pérdida de inserción. Teniendo en consideración el número limitado de pacientes incluidos en el estudio, no valoramos el papel de otros factores, importantes en la evaluación del riesgo individual en la periodontitis, como el tabaco o diabetes mellitus no controlada.

El tabaco es, indudablemente, el factor de riesgo modificable más relevante para la periodontitis (Bergstrom 2006, Stabholz y cols. 2010). El tabaco modifica la respuesta local y sistémica del huésped, caracterizada por una reacción inflamatoria exacerbada, con aumento de citocinas y otros componentes, como colagenasas y proteasas (Johannsen y cols. 2014). La reciente revisión de Nociti y cols. (2015) evaluó la literatura disponible relacionada con el efecto del tabaco en la progresión de la periodontitis y en la respuesta al tratamiento periodontal. Los autores, además de concluir que los pacientes fumadores presentan un aumento de susceptibilidad a la periodontitis, incremento de la severidad y progresión, cuando eran comparados con los no fumadores, confirmaron que tabaco contribuye a una respuesta desfavorable al tratamiento periodontal no quirúrgico y quirúrgico (Nociti y cols. 2015). Por consiguiente, el efecto individual del tabaco es importante y puede hacer menos evidente el papel de otros factores, como la genética, en la patogénesis de la periodontitis.

La diabetes mellitus es un factor de riesgo para la periodontitis en el sentido en que aumenta su prevalencia, severidad, extensión y progresión (Genco y cols. 2013). Se han propuesto varios mecanismos para explicar su papel en la periodontitis, todos relacionados con un aumento de la respuesta inflamatoria, que resulta en la elevación de los niveles de IL-1 β en el FCG (Salvi y cols. 1997).

A pesar de no haber sido estudiados en este trabajo de investigación, estos factores modificables están asociados a un aumento de los marcadores sistémicos de inflamación y una modificación de la regulación de genes a través de diferentes mecanismos biológicos (Reynolds 2014).

F.IX. TEST GENÉTICO UTILIZADO

En nuestro trabajo de investigación hemos evaluado el polimorfismo genético para la IL-1 β , asociado, en publicaciones previas, a una mayor severidad de la periodontitis. Para el análisis del polimorfismo se utilizó el test de susceptibilidad a la enfermedad periodontal - PST® (Periodontal Susceptibility Trait®, Medical Science Systems Inc., San Antonio, EE.UU.). Este test, no comercializado actualmente, permitió la evaluación del ADN y determinación del genotipo a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La metodología detallada fue descrita por Kornman y cols. (1997). Un paciente genotipo positivo es aquel que presenta, al menos, un alelo R en cada uno de los dos polimorfismos localizados en el clúster del gen IL-1, situado en el cromosoma 2. De acuerdo con Kornman y cols. (1997) la presencia de los alelos R IL-1 α -889 y IL-1 β +3953 fue designada genotipo compuesto para la IL-1 (Kornman y cols. 1997). Subsecuentemente, el test fue modificado, en la medida en que fue determinado otro polimorfismo, IL-1 α +4845, con 100% concordancia con el locus IL-1 α -889 y técnicamente más fácil de evaluar (Kornman y cols. 1998). Adicionalmente, como resultado del establecimiento de una nueva secuencia (empezada en +1, en lugar de 0), el polimorfismo IL-1 β +3953, identificado originalmente, es actualmente designado IL-1 β +3954. Esta alteración en la nomenclatura no representa ningún cambio en la secuencia de nucleótidos descrita inicialmente ni tampoco altera los *primers* utilizados en el proceso de amplificación.

La mayoría de los estudios publicados en la literatura, durante los últimos años, diseñados con objetivo de evaluar la influencia del polimorfismo genético para la IL-1 en el inicio y progresión de la periodontitis y en el resultado del tratamiento periodontal utilizaron, igualmente, el test de susceptibilidad a la enfermedad periodontal - PST® (Ehmke y cols. 1999, McGuire y cols. 1999, De Sanctis y cols. 2000, Lang y cols. 2000, Cattabriga y cols. 2001). La revisión sistemática y meta-análisis de las publicaciones relevantes, permitieron constatar una asociación significativa entre las variaciones del

gen IL-1 y la periodontitis (Nikolopoulos y cols. 2008, Grigoriadou y cols. 2010, Karimbux y cols. 2012). De acuerdo con Kornman y cols. (2002), la información obtenida a través del test genético, puede ser útil en la determinación del plan de tratamiento, selección de terapias individualizadas y motivación del paciente (Kornman y cols. 2002). Sin embargo, la utilización del test genético como parámetro diagnóstico y pronóstico, no está aceptada de manera consensuada. Algunos autores consideraron que los resultados del test genético deben ser interpretados con precaución y cuestionaron la utilidad del test en el establecimiento del intervalo de las consultas de mantenimiento periodontal. Adicionalmente, la diferencia en la prevalencia del genotipo positivo entre los diferentes grupos étnicos, limita la posibilidad de extrapolación de los resultados (Greenstein y cols. 2002)

Recientemente, empezó a ser comercializado otro test genético, denominado PerioPredict® (Interleukin Genetics. Massachusetts, EE.UU). Este test no representa un hallazgo genético nuevo, sino una extensión a los marcadores de los genes que codifican la IL-1, con el objetivo de ampliar la información en función de características étnicas. Giannobile y cols. (2013) evaluaron la utilidad del PerioPredict®, en conjunto con otros factores de riesgo previamente definidos, tabaco (Hanioka y cols. 2011) y presencia de diabetes (Lalla y cols. 2011), en la determinación de la frecuencia de citas de mantenimiento, en función del riesgo de cada paciente (Giannobile y cols. 2013). Sin embargo, de acuerdo con Diehl y cols. (2015) no existe, actualmente, evidencia científica que apoye el efecto de los testes genéticos en el riesgo de pérdida de dientes, ni tampoco, en los beneficios de dos citas de mantenimiento anuales (Diehl y cols. 2015). A este respecto, Braun y cols. (2015) concluyeron que hasta que la secuenciación del genoma en todos los pacientes con enfermedades específicas sea posible, los estudios experimentales basados en hallazgos biológicos siguen siendo relevantes (Braun y cols. 2015).

F.X. TÉCNICAS GENÉTICAS

A partir de finales de los años 1990, con la publicación del estudio de Kornman y cols. (1997) (Kornman y cols. 1997), los progresos en la investigación genética condujeron a un aumento significativo de estudios enfocados en la relación entre un polimorfismo genético específico y la periodontitis. En nuestro trabajo de investigación, como en la

mayoría de las publicaciones, se ha empleado la tecnología más común, la asociación de genes candidatos utilizados para estudiar un SNP en particular y analizar la relación entre la periodontitis y los marcadores genéticos; esta metodología implica la amplificación de la secuencia de ADN diana y detección del SNP utilizando fluorescencia o electroforesis (Kim y cols. 2007). Sin embargo, esta metodología ignora otros genes involucrados en la respuesta inflamatoria y inmunológica del huésped a la presencia de bacterias. Un determinado gen puede estar asociado a la periodontitis, no obstante, al no ser conocida su función, no será seleccionado como gen candidato.

Los estudios de asociación de genomas completos, cada vez más importantes en el estudio de enfermedades complejas, evitan esa limitación (Hindorff y cols. 2009). Un GWAS estudia las variaciones genéticas en todo el genoma humano; evalúa asociaciones genéticas con características observables o la presencia o ausencia de una enfermedad. En oposición a los estudios que evalúan genes candidatos, el GWAS escanea el genoma completo y, posiblemente, identifica marcadores genéticos nuevos.

Schaefer y cols. (2010) efectuaron el primer GWAS en Periodoncia. Identificaron la asociación entre el gen glicosiltransferasa GLT6D1 y la periodontitis agresiva, implicando este locus como un importante factor de susceptibilidad (Schaefer y cols. 2010). Divaris y cols. (2012) investigaron, a través de GWAS, los locus de riesgo para la colonización con bacterias patógenas periodontales. Fueron estudiados 1020 pacientes, 41% con salud periodontal o periodontitis crónica inicial y 19% con diagnóstico de periodontitis crónica avanzada. Los resultados del estudio no detectaron marcadores genéticos específicos ni tampoco permitieron establecer una asociación entre los SNP identificados y el diagnóstico de periodontitis crónica (Divaris y cols. 2012). Posteriormente, Divaris y cols. (2013) publicaron otro GWAS realizado en un cohorte de 4504 pacientes con periodontitis crónica. No fueron encontrados marcadores de asociación significativos con la periodontitis crónica, en la evaluación del genoma completo; sin embargo, seis de los locus investigados presentaron evidencia de asociación, sugiriendo la necesidad de realización de más estudios para confirmar su relevancia (Divaris y cols. 2013).

Teumer y cols. (2013) realizaron el primer GWAS en una población caucasiana, evaluando más de cuatro mil pacientes con periodontitis crónica y diferentes grados de severidad. Los autores concluyeron que ningún de los SNP evaluados demostró asociación con la periodontitis crónica (Teumer y cols. 2013).

Shaffer y cols. (2014) utilizaron el método GWAS para investigar polimorfismos genéticos relacionados con fenotipos de la periodontitis crónica, en particular profundidad de sondaje. Algunos de los locus estudiados fueron relevantes, sin embargo, tal como los GWAS descritos anteriormente, no fueron identificadas asociaciones significativas (Shaffer y cols. 2014). De acuerdo con Laine y cols. (2012), la metodología de evaluación del genoma completo puede, en el futuro próximo, identificar locus nuevos y/o sospechosos involucrados en la susceptibilidad a la periodontitis (Laine y cols. 2012). Efectivamente, son necesarios más estudios, con poblaciones más numerosas para detectar asociaciones significativas.

La mayoría de las variaciones genéticas, encontradas en más de 1% de la población y asociadas a características clínicas específicas, o son la variante “causal” o son marcadores que etiquetan un haplotipo que, a su vez, contiene la variante “causal”. Los haplotipos son combinaciones de variaciones de ADN heredadas en conjunto (Smith y cols. 2010). El análisis de los haplotipos es otro método prometedor en la identificación de factores genéticos asociados a susceptibilidad periodontal. Dado que es necesaria, apenas, una pequeña cantidad de SNP marcados para detectar variaciones genéticas en un haplotipo, este método puede ser más rentable en la búsqueda de los marcadores genéticos. Actualmente los pocos estudios publicados en la literatura, relacionaron la periodontitis y los haplotipos en los genes que codifican la interleuquina-4 (Holla y cols. 2008), interleuquina-6 (Nibali y cols. 2008) y el receptor de vitamina D (Park y cols. 2006).

De acuerdo con Laine y cols. (2012) la epigenética, concepto nuevo en la investigación periodontal, puede ser la llave en la conexión entre genética, enfermedad y ambiente. Las variaciones epigenéticas son alteraciones en la función de los genes, heredadas, que ocurren sin un cambio en la secuencia del ADN. En el caso de la periodontitis, los factores etiológicos y factores de riesgo, microorganismos y tabaco, pueden modificar el epigenoma individual y, de este modo, afectar la activación de genes y el fenotipo celular (Laine y cols. 2012).

F.XI. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En nuestro trabajo de investigación se empleó el cultivo para análisis microbiológico y para el estudio de los patógenos periodontales. Esta técnica permitió cuantificar las unidades formadoras de colonia por mililitro tanto de la flora total como de cada patógeno

periodontal. Adicionalmente, fue posible calcular la frecuencia de detección y la proporción de cada patógeno respecto a la flora total. El cultivo es, todavía, considerado la piedra angular de los métodos de diagnóstico microbiológicos (Loomer 2004, Teles y cols. 2013). Las principales ventajas del cultivo son la capacidad de detectar múltiples especies bacterianas, la posibilidad de obtención de recuentos absolutos o relativos de las bacterias cultivables; adicionalmente, es el único método capaz de identificar especies inesperadas, caracterizar adecuadamente nuevas especies y valorar la susceptibilidad antibiótica (Sanz y cols. 2004). Sin embargo, tiene limitaciones significativas incluyendo la baja sensibilidad, es decir la incapacidad de detectar niveles bajos de microorganismos, la necesidad de material de laboratorio específico y de personal experimentado, además del tiempo y coste (D'Ercole y cols. 2008). Laine y cols. (2001), en un estudio de casos y controles, utilizaron el cultivo para evaluar la relación entre la presencia de patógenos periodontales específicos (*A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*) y el genotipo de la IL-1 (Laine y cols. 2001).

En los últimos años, se han introducido otros métodos de diagnóstico microbiológico, como alternativa o coadyuvantes al cultivo. Algunos autores propusieron métodos enzimáticos para evaluar el biofilm subgingival y plantearon su utilidad como marcador de actividad de la periodontitis (Loesche y cols. 1992, Apsey y cols. 2006). El test BANA, basado en la actividad de la enzima con actividad tripsina fue desarrollado para investigar bacterias con perfil enzimático común - *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola* y *Capnocytophaga* spp. Sin embargo, la ausencia de estudios clínicos capaces de validar, adecuadamente, su utilidad diagnóstica, asociada a la baja especificidad y sensibilidad, han precipitado su retirada del mercado.

El desarrollo de técnicas de biología molecular, basadas en el análisis del ADN o ARN, permitieron estudiar fragmentos bacterianos y identificar las bacterias a través de secuencias complementarias. Las sondas de ácidos nucleicos tienen mayor sensibilidad que el cultivo y no requieren bacterias viables, una gran ventaja respecto al transporte de la muestra (Savitt y cols. 1988, van Steenberghe y cols. 1999). Socransky y cols. (1994) desarrollaron la tecnología de hibridación ADN-ADN en tablero de ajedrez (*checkerboard DNA-DNA hybridisation*) que permitió el procesamiento de cantidades elevadas de muestras de placa bacteriana subgingival para la detección de más de cuarenta especies en un único test (Socransky y cols. 1994) Socransky y cols. (2000) y Papapanou y cols. (2001) utilizaron este método en el análisis realizado a pacientes con periodontitis, con el

objetivo de relacionar los parámetros microbiológicos con el polimorfismo genético de la IL-1 (Socransky y cols. 2000, Papapanou y cols. 2001).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), desarrollada por Mullis en 1983, es una herramienta de biología molecular muy relevante, en el sentido en que permite alcanzar elevadas cantidades de ADN de manera sencilla. Algunos autores demostraron que la PCR es más exacta, comparada con el cultivo, en la identificación de los patógenos periodontales y descubrieron una frecuencia más elevada de detección de los microorganismos diana (Ashimoto y cols. 1996). Loomer (2004) detectó niveles más elevados de *T. forsythia* a través de PCR, en pacientes con gingivitis y periodontitis (Loomer 2004). La mayor prevalencia de especies negro pigmentadas en el análisis PCR puede estar relacionada, únicamente, con la existencia de especies difíciles de cultivar (Gomes y cols. 2005) o con el límite de detección menor (25 a 100 células) de la PCR en comparación con el cultivo (10^4 - 10^5 células).

Los tests de PCR originales proporcionaban apenas información cualitativa y heterogénea, es decir los resultados de los estudios mostraban valores de prevalencia muy discrepantes para cada bacteria (2% a 95% para *A. actinomycetemcomitans*), limitando su utilización clínica. El desarrollo de métodos PCR cuantitativos (PCR *real-time* y PCR *end-point*) permitió no sólo la detección de microorganismos específicos como también su cuantificación, utilizando controles específicos (Doungudomdacha y cols. 2000). Algunos estudios demostraron una correlación entre la PCR cuantitativa y el cultivo. Lau y cols. (2004) demostraron una elevada especificidad, sensibilidad y valor predictivo positivo de la PCR, en la detección de patógenos periodontales (Lau y cols. 2004). Boutaga y cols. (2006) confirmaron estos resultados y concluyeron que la PCR permite detectar pequeñas cantidades de bacterias, por debajo del umbral de detección del cultivo (Boutaga y cols. 2006).

De acuerdo con Sanz y cols. (2004) la selección del test microbiológico como medio complementario al diagnóstico periodontal, debe tener en consideración los siguientes parámetros: 1. Sensibilidad y especificidad del test – la tecnología PCR a tiempo real demostró un elevado grado de sensibilidad y especificidad, cuando se comparaba con el cultivo; 2. Facilidad de utilización y coste – el cultivo, el análisis *checkerboard* y la PCR a tiempo real necesitan equipamiento sofisticado y personal experimentado, lo que aumenta el coste y imposibilita de su utilización rutinaria; 3. Información proporcionada –

el cultivo permite la identificación de nuevas especies bacterianas mientras que la PCR o otras técnicas moleculares permiten detectar especies no cultivables (Sanz y cols. 2004).

En los últimos años, se ha introducido el término “microbioma” para definir el conjunto de microorganismos presentes en la cavidad oral. La diversidad de bacterias fue primero demostrada en cultivo, que permitió identificar y clasificar la mitad de las bacterias orales conocidas, y luego expandida a través de los métodos moleculares, que permitieron identificar especies no cultivables, nuevos filotipos asociados a salud y a periodontitis (Hutter y cols. 2003, Wade 2013). La tecnología molecular, basada en la secuenciación genética 16S rARN, reveló una serie importante de especies no identificadas previamente, que todavía necesitan evaluaciones adicionales para determinar sus características fenotípicas (Dewhirst y cols. 2010). El Proyecto del Microbioma Humano (*Human Microbiome Project* - HMP) es un proyecto internacional prometedor desarrollado con el objetivo de comprender los componentes microbianos de nuestro organismo; refleja la idea de considerarnos un supra-organismo, cuyo genoma total estaría representado por la suma de nuestro genoma más la totalidad del genoma de nuestro microbioma (Turnbaugh y cols. 2007). El primer cometido del HMP ha sido el desarrollo de un esquema taxonómico para todas las bacterias aisladas y filotipos, disponible para la consulta de investigadores, designado como Human Oral Microbiome Database (HOMD) (www.homd.org), importante para la investigación del papel del microbioma en salud y en enfermedades periodontales ((Chen y cols. 2010).

De acuerdo con Wade (2011), el estudio del microbioma no ha permitido todavía conocer mejor la patogénesis de las enfermedades periodontales; sin embargo, ha logrado identificar las especies asociadas a localizaciones activas y las involucradas en la interacción con el huésped que resulta en enfermedad (Wade 2011).

A pesar de no existir ningún método de diagnóstico microbiológico ideal, el cultivo es, todavía el método de referencia. El propósito de identificar y cuantificar las especies bacteriana presentes y las posibilidades técnicas y materiales de llevar a cabo el cultivo, justificó su selección en nuestro trabajo de investigación.

F.XII. INVESTIGACIONES FUTURAS

Aunque la relación entre los factores genéticos y microbiológicos y la periodontitis sea un tema estudiado desde hace muchos años, son necesarios más estudios prospectivos que evalúen la influencia de cada uno de los factores en la progresión de la enfermedad.

En ese sentido, será relevante delinear testes diagnósticos, suficientemente específicos y sensibles, que permitan identificar los pacientes susceptibles a la progresión de la periodontitis.

Adicionalmente, en la medida en que hasta hoy ningún parámetro, evaluado individualmente, permitió prever pérdida de inserción futura, puede ser útil construir un modelo funcional, combinando los distintos factores, para identificar pacientes con mayor riesgo de progresión de la periodontitis.

Idealmente, el diseño de los estudios debe contemplar un tamaño muestral adecuado para alcanzar validez y relevancia estadística, una selección adecuada de los pacientes, controlando las variables de confusión, como el tabaco, y la utilización de métodos de diagnóstico microbiológico y genético avanzados que permitan evaluar y cuantificar los microorganismos y caracterizar las variaciones genéticas posiblemente involucradas en la etiología y patogénesis de la periodontitis.

F.XIII. LIMITACIONES

El número limitado de pacientes incluidos en nuestro trabajo de investigación, constituye la principal limitación del estudio, con influencia directa en significación estadística y en la posibilidad de extrapolación de los resultados alcanzados.

Adicionalmente, la periodontitis crónica es una enfermedad compleja, de etiología bacteriana, multifactorial, es decir, la susceptibilidad involucra múltiples genes y factores ambientales, modificables. En nuestro trabajo estudiamos un SNP del genotipo compuesto. Esta metodología puede ser considerada una limitación ya que elimina la posibilidad de evaluar otros polimorfismos genéticos, capaces de actuar sinérgicamente.

A pesar del papel de las bacterias como factor etiológico de la periodontitis, la extensión y severidad de la enfermedad está influenciada por distintos factores de riesgo modificables, como el tabaco. La población de estudio seleccionada incluyó 6 pacientes considerados fumadores, y 5 de ellos pertenecían al grupo genotipo negativo lo que no permitió evaluar el tabaco como variable independiente. En ese sentido, la inclusión de pacientes fumadores puede ser considerada una limitación, por la posible influencia en los resultados obtenidos.

La metodología utilizada en la evaluación microbiológica también puede ser considerada una limitación del estudio. Durante las visitas de control trimestrales sólo se ha realizado toma de muestras de placa bacteriana subgingival en las localizaciones que habían perdido inserción, en el intervalo de tres meses correspondiente. Esto significa que fueron evaluadas localizaciones diferentes, imposibilitando la comparación entre visitas. En ese sentido, fue posible evaluar la influencia de los factores microbiológicos en la progresión de la periodontitis, a nivel del paciente y no a nivel de cada localización.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

G. CONCLUSIONES

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

G. CONCLUSIONES

La realización de este estudio de cohortes, prospectivo permitió llegar a las siguientes conclusiones:

No se han detectado diferencias, en la visita inicial, en las variables clínicas y microbiológicas evaluadas, entre los pacientes de ambos grupo de estudio, GEN- y GEN+.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en los cambios ocurridos entre las distintas visitas, en las diferentes variables clínicas evaluadas entre los pacientes GEN- y GEN+. Respecto a variables microbiológicas, tampoco se han detectado diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes GEN- y GEN+. De acuerdo con los datos de la visita inicial, los patógenos periodontales más frecuentes fueron *F. nucleatum* y *P. intermedia* y *P. gingivalis* representó la mayor proporción de la flora de todos los patógenos evaluados.

El número de pacientes con y sin pérdida de inserción (PI) en los grupos GEN- y GEN+, en los dos periodos de observación, fue similar.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables clínicas y microbiológicas evaluadas entre los pacientes de ambos grupo de estudio, GEN- y GEN+, y con PI y sin PI, en los dos periodos de observación;

La cantidad de IL-1 β en la visita inicial fue la variable con mayor influencia en la PI observada a los tres meses. El índice de placa fue la variable más relevante en la predicción de futura PI, entre la visita inicial y doce meses.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

H. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Agerbaek, M. R., N. P. Lang y cols. (2006). "Microbiological composition associated with interleukin-1 gene polymorphism in subjects undergoing supportive periodontal therapy." J Periodontol **77**(8): 1397-1402.

Agrawal, A. A., A. Kapley y cols. (2006). "Assessment of single nucleotide polymorphism at IL-1A+4845 and IL-1B+3954 as genetic susceptibility test for chronic periodontitis in Maharashtrian ethnicity." J Periodontol **77**(9): 1515-1521.

Ainamo, J. and I. Bay (1975). "Problems and proposals for recording gingivitis and plaque." Int Dent J **25**(4): 229-235.

Akira, S. (2001). "Toll-like receptors and innate immunity." Adv Immunol **78**: 1-56.

Akira, S., K. Takeda y cols. (2001). "Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity." Nat Immunol **2**(8): 675-680.

Alayan, J., E. Gemmell y cols. (2007). "The role of cytokines in a Porphyromonas gingivalis-induced murine abscess model." Oral Microbiol Immunol **22**(5): 304-312.

Albandar, J. M. (2002). "Periodontal diseases in North America." Periodontol 2000 **29**: 31-69.

Albandar, J. M., J. A. Brunelle y cols. (1999). "Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994." J Periodontol **70**(1): 13-29.

Albandar, J. M., Y. A. Buischi y cols. (1995). "Caries lesions and dental restorations as predisposing factors in the progression of periodontal diseases in adolescents. A 3-year longitudinal study." J Periodontol **66**(4): 249-254.

Albandar, J. M., C. F. Streckfus y cols. (2000). "Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss." J Periodontol **71**(12): 1874-1881.

Allen, P. F. and A. S. McMillan (1999). "The impact of tooth loss in a denture wearing population: an assessment using the Oral Health Impact Profile." Community Dent Health **16**(3): 176-180.

Aloufi, F., N. Bissada y cols. (2009). "Clinical assessment of peri-implant tissues in patients with varying severity of chronic periodontitis." Clin Implant Dent Relat Res **11**(1): 37-40.

Amano, A. (2010). "Bacterial adhesins to host components in periodontitis." Periodontol 2000 **52**(1): 12-37.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Apsey, D. J., N. Kaciroti y cols. (2006). "The diagnosis of periodontal disease in private practice." J Periodontol **77**(9): 1572-1581.

Armitage, G. C. (1995). "Clinical evaluation of periodontal diseases." Periodontol 2000 **7**: 39-53.

Armitage, G. C. (1996). "Periodontal diseases: diagnosis." Ann Periodontol **1**(1): 37-215.

Armitage, G. C. (1999). "Development of a classification system for periodontal diseases and conditions." Ann Periodontol **4**(1): 1-6.

Armitage, G. C. (2013). "Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics: a 50-year perspective." Periodontol 2000 **62**(1): 20-36.

Armitage, G. C. and M. P. Cullinan (2010). "Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis." Periodontol 2000 **53**: 12-27.

Armitage, G. C., Y. Wu y cols. (2000). "Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage." J Periodontol **71**(2): 164-171.

Ashimoto, A., C. Chen y cols. (1996). "Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions." Oral Microbiol Immunol **11**(4): 266-273.

Asikainen, S., C. H. Lai y cols. (1991). "Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease." Oral Microbiol Immunol **6**(2): 115-118.

Axelsson, P. and J. Lindhe (1981). "Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years." J Clin Periodontol **8**(3): 239-248.

Badersten, A., R. Nilveus y cols. (1985). "Effect of nonsurgical periodontal therapy. V. Patterns of probing attachment loss in non-responding sites." J Clin Periodontol **12**(4): 270-282.

Badersten, A., R. Nilveus y cols. (1990). "Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss. 5 years of observation following nonsurgical periodontal therapy." J Clin Periodontol **17**(2): 102-107.

Baehni, P., C. C. Tsai y cols. (1979). "Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. VIII. Detection of leukotoxic activity of a plaque-derived gram-negative microorganism." Infect Immun **24**(1): 233-243.

- Baehni, P. C. (2012). "Translating science into action--prevention of periodontal disease at patient level." Periodontol 2000 **60**(1): 162-172.
- Baelum, V., O. Fejerskov y cols. (1986). "Oral hygiene, gingivitis and periodontal breakdown in adult Tanzanians." J Periodontal Res **21**(3): 221-232.
- Baelum, V. and R. Lopez (2012). "Defining a periodontitis case: analysis of a never-treated adult population." J Clin Periodontol **39**(1): 10-19.
- Bartold, P. M. and A. S. Narayanan (2006). "Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues." Periodontol 2000 **40**: 29-49.
- Bartold, P. M. and T. E. Van Dyke (2013). "Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts." Periodontol 2000 **62**(1): 203-217.
- Beck, J. D., G. G. Koch y cols. (1994). "Attachment loss trends over 3 years in community-dwelling older adults." J Periodontol **65**(8): 737-743.
- Beck, J. D., T. Sharp y cols. (1997). "A 5-year study of attachment loss and tooth loss in community-dwelling older adults." J Periodontal Res **32**(6): 516-523.
- Becker, W., L. Berg y cols. (1979). "Untreated periodontal disease: a longitudinal study." J Periodontol **50**(5): 234-244.
- Berdeli, A., G. Emingil y cols. (2006). "Association of the IL-1RN2 allele with periodontal diseases." Clin Biochem **39**(4): 357-362.
- Bergstrom, J. (2006). "Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal." J Evid Based Dent Pract **6**(1): 33-41.
- Bergstrom, J., S. Eliasson y cols. (2000). "A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health." J Periodontol **71**(8): 1338-1347.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). "Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction." J Periodontal Res **28**(6 Pt 2): 500-510.
- Boch, J. A., N. Wara-aswapati y cols. (2001). "Interleukin 1 signal transduction--current concepts and relevance to periodontitis." J Dent Res **80**(2): 400-407.
- Borgnakke, W. S., P. V. Ylostalo y cols. (2013). "Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence." J Clin Periodontol **40** **Suppl 14**: S135-152.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Borgnakke, W. S., P. V. Ylostalo y cols. (2013). "Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence." J Periodontol **84**(4 Suppl): S135-152.

Boughman, J. A., J. A. Astemborski y cols. (1992). "Phenotypic assessment of early onset periodontitis in sibships." J Clin Periodontol **19**(4): 233-239.

Boutaga, K., A. J. van Winkelhoff y cols. (2006). "The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens." J Clin Periodontol **33**(6): 427-433.

Braun, T. M., L. Doucette-Stamm y cols. (2015). "Counterpoint: Risk factors, including genetic information, add value in stratifying patients for optimal preventive dental care." J Am Dent Assoc **146**(3): 174-178.

Brett, P. M., P. Zygogianni y cols. (2005). "Functional gene polymorphisms in aggressive and chronic periodontitis." J Dent Res **84**(12): 1149-1153.

Brown, L. F., J. D. Beck y cols. (1994). "Incidence of attachment loss in community-dwelling older adults." J Periodontol **65**(4): 316-323.

Brown, L. J., R. C. Oliver y cols. (1990). "Evaluating periodontal status of US employed adults." J Am Dent Assoc **121**(2): 226-232.

Buchmann, R., R. F. Muller y cols. (2000). "Actinobacillus actinomycetemcomitans in destructive periodontal disease. Three-year follow-up results." J Periodontol **71**(3): 444-453.

Burt, B. A., A. I. Ismail y cols. (1990). "Risk factors for tooth loss over a 28-year period." J Dent Res **69**(5): 1126-1130.

Byrne, S. J., S. G. Dashper y cols. (2009). "Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of Porphyromonas gingivalis and Treponema denticola in subgingival plaque." Oral Microbiol Immunol **24**(6): 469-477.

Caffesse, R. G., R. M. De La Rosa y cols. (2002). "Effect of interleukin-1 gene polymorphism in a periodontally healthy Hispanic population treated with mucogingival surgery." J Clin Periodontol **29**(2): 177-181.

Cattabriga, M., R. Rotundo y cols. (2001). "Retrospective evaluation of the influence of the interleukin-1 genotype on radiographic bone levels in treated periodontal patients over 10 years." J Periodontol **72**(6): 767-773.

Chaffee, B. W. and S. J. Weston (2010). "Association between chronic periodontal disease and obesity: a systematic review and meta-analysis." J Periodontol **81**(12): 1708-1724.

Chambrone, L., D. Chambrone y cols. (2010). "Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies." J Clin Periodontol **37**(7): 675-684.

Chambrone, L., D. Chambrone y cols. (2009). "The influence of tobacco smoking on the outcomes achieved by root-coverage procedures: a systematic review." J Am Dent Assoc **140**(3): 294-306.

Chapple, I. L., I. Garner y cols. (1999). "Prediction and diagnosis of attachment loss by enhanced chemiluminescent assay of crevicular fluid alkaline phosphatase levels." J Clin Periodontol **26**(3): 190-198.

Charalampakis, G., G. Dahlen y cols. (2013). "Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study." Eur J Oral Sci **121**(5): 394-402.

Chavarry, N. G., M. V. Vettore y cols. (2009). "The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis." Oral Health Prev Dent **7**(2): 107-127.

Chaves, E. S., M. K. Jeffcoat y cols. (2000). "Persistent bacterial colonization of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy." J Clin Periodontol **27**(12): 897-903.

Chen, T., W. H. Yu y cols. (2010). "The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information." Database (Oxford) **2010**: baq013.

Cho-Yan Lee, J., N. Mattheos y cols. (2012). "Residual periodontal pockets are a risk indicator for peri-implantitis in patients treated for periodontitis." Clin Oral Implants Res **23**(3): 325-333.

Christgau, M., C. Aslanidis y cols. (2003). "Influence of interleukin-1 gene polymorphism on periodontal regeneration in intrabony defects." J Periodontal Res **38**(1): 20-27.

Claffey, N. and J. Egelberg (1995). "Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients." J Clin Periodontol **22**(9): 690-696.

Claffey, N., A. Kelly y cols. (1996). "Patterns of attachment loss in advanced periodontitis patients monitored following initial periodontal treatment." J Clin Periodontol **23**(6): 523-531.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Claffey, N., K. Nylund y cols. (1990). "Diagnostic predictability of scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth for probing attachment loss. 3 1/2 years of observation following initial periodontal therapy." J Clin Periodontol **17**(2): 108-114.

Colombo, A. P., R. P. Teles y cols. (2005). "Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results." J Periodontol **76**(5): 778-784.

Cortellini, P. and M. S. Tonetti (2004). "Long-term tooth survival following regenerative treatment of intrabony defects." J Periodontol **75**(5): 672-678.

Costa, F. O., A. N. Guimaraes y cols. (2009). "Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research." J Oral Sci **51**(2): 199-206.

Costerton, J. W., Z. Lewandowski y cols. (1995). "Microbial biofilms." Annu Rev Microbiol **49**: 711-745.

Costerton, J. W., P. S. Stewart y cols. (1999). "Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections." Science **284**(5418): 1318-1322.

Cullinan, M. P., B. Westerman y cols. (2001). "A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population." J Clin Periodontol **28**(12): 1137-1144.

D'Ercole, S., G. Catamo y cols. (2008). "Diagnosis in periodontology: a further aid through microbiological tests." Crit Rev Microbiol **34**(1): 33-41.

Dahlen, G. and B. Rosling (1998). "Identification of bacterial markers by culture technique in evaluation of periodontal therapy." Int Dent J **48**(2): 104-110.

Dahlen, G., M. Wikstrom y cols. (1996). "Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. A 5-year follow-up on individual patterns." J Periodontol **67**(9): 879-887.

Darveau, R. P. (2010). "Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis." Nat Rev Microbiol **8**(7): 481-490.

Darveau, R. P., A. Tanner y cols. (1997). "The microbial challenge in periodontitis." Periodontol 2000 **14**: 12-32.

Davey, M. E. and J. W. Costerton (2006). "Molecular genetics analyses of biofilm formation in oral isolates." Periodontol 2000 **42**: 13-26.

Dawson, D. R., 3rd and S. Jasper (2015). "Key systemic and environmental risk factors for implant failure." Dent Clin North Am **59**(1): 25-39.

De Sanctis, M. and G. Zucchelli (2000). "Interleukin-1 gene polymorphisms and long-term stability following guided tissue regeneration therapy." J Periodontol **71**(4): 606-613.

Dennison, D. K. and T. E. Van Dyke (1997). "The acute inflammatory response and the role of phagocytic cells in periodontal health and disease." Periodontol 2000 **14**: 54-78.

Dewhirst, F. E., T. Chen y cols. (2010). "The human oral microbiome." J Bacteriol **192**(19): 5002-5017.

Dewhirst, F. E., P. P. Stashenko y cols. (1985). "Purification and partial sequence of human osteoclast-activating factor: identity with interleukin 1 beta." J Immunol **135**(4): 2562-2568.

Diehl, S. R., F. Kuo y cols. (2015). "Interleukin 1 genetic tests provide no support for reduction of preventive dental care." J Am Dent Assoc **146**(3): 164-173 e164.

Dietrich, T., P. Sharma y cols. (2013). "The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease." J Periodontol **84**(4 Suppl): S70-84.

Dinarello, C. A. (2009). "Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family." Annu Rev Immunol **27**: 519-550.

Divaris, K., K. L. Monda y cols. (2012). "Genome-wide association study of periodontal pathogen colonization." J Dent Res **91**(7 Suppl): 21S-28S.

Divaris, K., K. L. Monda y cols. (2013). "Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study." Hum Mol Genet **22**(11): 2312-2324.

Do, M. J., K. Kim y cols. (2013). "Development of animal experimental periodontitis models." J Periodontal Implant Sci **43**(4): 147-152.

Dogan, B., J. Antinheimo y cols. (2003). "Subgingival microflora in Turkish patients with periodontitis." J Periodontol **74**(6): 803-814.

Doungudomdacha, S., A. Rawlinson y cols. (2000). "Enumeration of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans in subgingival plaque samples by a quantitative-competitive PCR method." J Med Microbiol **49**(10): 861-874.

Dzink, J. L., S. S. Socransky y cols. (1988). "The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases." J Clin Periodontol **15**(5): 316-323.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Ebersole, J. L. and K. S. Kornman (1991). "Systemic antibody responses to oral microorganisms in the cynomolgus monkey: development of methodology and longitudinal responses during ligature-induced disease." Res Immunol **142**(9): 829-839.

Ehmke, B., W. Kress y cols. (1999). "Interleukin-1 haplotype and periodontal disease progression following therapy." J Clin Periodontol **26**(12): 810-813.

Eke, P. I., B. A. Dye y cols. (2012). "Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010." J Dent Res **91**(10): 914-920.

Fardal, O., A. C. Johannessen y cols. (2004). "Tooth loss during maintenance following periodontal treatment in a periodontal practice in Norway." J Clin Periodontol **31**(7): 550-555.

Feloutzis, A., N. P. Lang y cols. (2003). "IL-1 gene polymorphism and smoking as risk factors for peri-implant bone loss in a well-maintained population." Clin Oral Implants Res **14**(1): 10-17.

Fiske, J., D. M. Davis y cols. (2001). "The emotional effects of tooth loss in partially dentate people attending prosthodontic clinics in dental schools in England, Scotland and Hong Kong: a preliminary investigation." Int Dent J **51**(6): 457-462.

Freter, R. and G. W. Jones (1983). "Models for studying the role of bacterial attachment in virulence and pathogenesis." Rev Infect Dis **5 Suppl 4**: S647-658.

Gamonal, J., C. Mendoza y cols. (2010). "Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey." J Periodontol **81**(10): 1403-1410.

Gemmell, E., K. Yamazaki y cols. (2007). "The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity." Periodontol 2000 **43**: 14-40.

Genco, R. J. (1992). "Host responses in periodontal diseases: current concepts." J Periodontol **63**(4 Suppl): 338-355.

Genco, R. J. and W. S. Borgnakke (2013). "Risk factors for periodontal disease." Periodontol 2000 **62**(1): 59-94.

Genco, R. J., A. W. Ho y cols. (1998). "Models to evaluate the role of stress in periodontal disease." Ann Periodontol **3**(1): 288-302.

Genco, R. J., J. J. Zambon y cols. (1988). "The origin of periodontal infections." Adv Dent Res **2**(2): 245-259.

- Gery, I., R. K. Gershon y cols. (1972). "Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. I. The responding cell." J Exp Med **136**(1): 128-142.
- Gevers, D., R. Knight y cols. (2012). "The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome." PLoS Biol **10**(8): e1001377.
- Giannobile, W. V., T. M. Braun y cols. (2013). "Patient stratification for preventive care in dentistry." J Dent Res **92**(8): 694-701.
- Gibbons, R. J. (1989). "Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases." J Dent Res **68**(5): 750-760.
- Gibbons, R. J. and M. Nygaard (1970). "Interbacterial aggregation of plaque bacteria." Arch Oral Biol **15**(12): 1397-1400.
- Gillespie, J., E. De Nardin y cols. (1992). "Production of an extracellular toxin by the oral pathogen *Campylobacter rectus*." Microb Pathog **12**(1): 69-77.
- Goldman, M. J., I. F. Ross y cols. (1986). "Effect of periodontal therapy on patients maintained for 15 years or longer. A retrospective study." J Periodontol **57**(6): 347-353.
- Gomes, B. P., R. C. Jacinto y cols. (2005). "Porphyromonas gingivalis, Porphyromonas endodontalis, Prevotella intermedia and Prevotella nigrescens in endodontic lesions detected by culture and by PCR." Oral Microbiol Immunol **20**(4): 211-215.
- Goodnow, C. C., C. G. Vinuesa y cols. (2010). "Control systems and decision making for antibody production." Nat Immunol **11**(8): 681-688.
- Goodson, J. M., A. C. Tanner y cols. (1982). "Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease." J Clin Periodontol **9**(6): 472-481.
- Gore, E. A., J. J. Sanders y cols. (1998). "Interleukin-1beta+3953 allele 2: association with disease status in adult periodontitis." J Clin Periodontol **25**(10): 781-785.
- Greenstein, G. and T. C. Hart (2002). "A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis." J Periodontol **73**(2): 231-247.
- Grenier, D. and R. Bouclin (2006). "Contribution of proteases and plasmin-acquired activity in migration of *Peptostreptococcus* micros through a reconstituted basement membrane." Oral Microbiol Immunol **21**(5): 319-325.
- Grenier, D., G. Chao y cols. (1989). "Characterization of sodium dodecyl sulfate-stable *Bacteroides gingivalis* proteases by polyacrylamide gel electrophoresis." Infect Immun **57**(1): 95-99.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Griffiths, G. S. and M. Addy (1981). "Effects of malalignment of teeth in the anterior segments on plaque accumulation." J Clin Periodontol **8**(6): 481-490.

Grigoriadou, M. E., S. O. Koutayas y cols. (2010). "Interleukin-1 as a genetic marker for periodontitis: review of the literature." Quintessence Int **41**(6): 517-525.

Grossi, S. G., J. J. Zambon y cols. (1994). "Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss." J Periodontol **65**(3): 260-267.

Haffajee, A. D., S. Dibart y cols. (1995). "Factors associated with different responses to periodontal therapy." J Clin Periodontol **22**(8): 628-636.

Haffajee, A. D., J. L. Dzink y cols. (1988). "Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions." J Clin Periodontol **15**(4): 255-262.

Haffajee, A. D. and S. S. Socransky (1994). "Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases." Periodontol 2000 **5**: 78-111.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1996). "Response to periodontal therapy in patients with high or low levels of *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* and *B. forsythus*." J Clin Periodontol **23**(4): 336-345.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1988). "Clinical, microbiological and immunological features of subjects with destructive periodontal diseases." J Clin Periodontol **15**(4): 240-246.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1984). "Clinical, microbiological and immunological features associated with the treatment of active periodontosis lesions." J Clin Periodontol **11**(9): 600-618.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1983). "Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level." J Clin Periodontol **10**(3): 298-310.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1991). "Microbial risk indicators for periodontal attachment loss." J Periodontal Res **26**(3 Pt 2): 293-296.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky y cols. (1991). "Relation of baseline microbial parameters to future periodontal attachment loss." J Clin Periodontol **18**(10): 744-750.

Hajishengallis, G., T. Abe y cols. (2013). "Role of complement in host-microbe homeostasis of the periodontium." Semin Immunol **25**(1): 65-72.

- Hamlet, S., R. Ellwood y cols. (2004). "Persistent colonization with *Tannerella forsythensis* and loss of attachment in adolescents." J Dent Res **83**(3): 232-235.
- Hanioka, T., M. Ojima y cols. (2011). "Causal assessment of smoking and tooth loss: a systematic review of observational studies." BMC Public Health **11**: 221.
- Harrel, S. K. and M. E. Nunn (2001). "The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. II. Relationship of occlusal treatment to the progression of periodontal disease." J Periodontol **72**(4): 495-505.
- Hart, T. C., L. Shapira y cols. (1994). "Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases." J Periodontol **65**(5 Suppl): 521-529.
- Haubek, D., O. K. Ennibi y cols. (2004). "The highly leukotoxic JP2 clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and progression of periodontal attachment loss." J Dent Res **83**(10): 767-770.
- Haubek, D., O. K. Ennibi y cols. (2001). "Early-onset periodontitis in Morocco is associated with the highly leukotoxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*." J Dent Res **80**(6): 1580-1583.
- Haubek, D., O. K. Ennibi y cols. (2008). "Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study." Lancet **371**(9608): 237-242.
- Haubek, D., K. Poulsen y cols. (1996). "Highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin." J Clin Microbiol **34**(6): 1576-1578.
- Heasman, L., F. Stacey y cols. (2006). "The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence." J Clin Periodontol **33**(4): 241-253.
- Heitz-Mayfield, L. J. (2005). "Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis." J Clin Periodontol **32** Suppl 6: 196-209.
- Henneke, P., O. Takeuchi y cols. (2001). "Novel engagement of CD14 and multiple toll-like receptors by group B streptococci." J Immunol **167**(12): 7069-7076.
- Herrera, D., B. Alonso y cols. (2008). "Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm." J Clin Periodontol **35**(8 Suppl): 45-66.
- Herrera, D., S. Roldan y cols. (2000). "The periodontal abscess (I). Clinical and microbiological findings." J Clin Periodontol **27**(6): 387-394.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Hilgert, J. B., F. N. Hugo y cols. (2006). "Stress, cortisol, and periodontitis in a population aged 50 years and over." J Dent Res **85**(4): 324-328.

Hill, A. B. (1965). "The Environment and Disease: Association or Causation?" Proc R Soc Med **58**: 295-300.

Hindorff, L. A., P. Sethupathy y cols. (2009). "Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(23): 9362-9367.

Hirschfeld, L. and B. Wasserman (1978). "A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients." J Periodontol **49**(5): 225-237.

Hobdell, M. H. (2001). "Economic globalization and oral health." Oral Dis **7**(3): 137-143.

Hodge, P. J., M. P. Riggio y cols. (2001). "Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis." J Clin Periodontol **28**(5): 430-436.

Holla, L. I., A. Fassmann y cols. (2008). "The association of interleukin-4 haplotypes with chronic periodontitis in a Czech population." J Periodontol **79**(10): 1927-1933.

Houri-Haddad, Y., A. Wilensky y cols. (2007). "T-cell phenotype as a risk factor for periodontal disease." Periodontol 2000 **45**: 67-75.

Howells, G. L. (1995). "Cytokine networks in destructive periodontal disease." Oral Dis **1**(4): 266-270.

Hughes, F. J. (1995). "Cytokines and cell signalling in the periodontium." Oral Dis **1**(4): 259-265.

Hugoson, A. and L. Laurell (2000). "A prospective longitudinal study on periodontal bone height changes in a Swedish population." J Clin Periodontol **27**(9): 665-674.

Hugoson, A., O. Norderyd y cols. (1998). "Distribution of periodontal disease in a Swedish adult population 1973, 1983 and 1993." J Clin Periodontol **25**(7): 542-548.

Hutter, G., U. Schlagenhaut y cols. (2003). "Molecular analysis of bacteria in periodontitis: evaluation of clone libraries, novel phylotypes and putative pathogens." Microbiology **149**(Pt 1): 67-75.

Huynh-Ba, G., N. P. Lang y cols. (2007). "The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review." J Clin Periodontol **34**(4): 305-317.

Ide, M. and P. N. Papapanou (2013). "Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes--systematic review." J Periodontol **84**(4 Suppl): S181-194.

Ioannidis, J. P. (2003). "Genetic associations: false or true?" Trends Mol Med **9**(4): 135-138.

Irving, J. T., S. S. Socransky y cols. (1978). "Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with gram-negative organisms." J Periodontal Res **13**(4): 326-332.

Ishihara, Y., T. Nishihara y cols. (1997). "Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites." J Periodontal Res **32**(6): 524-529.

Ismail, A. I., E. C. Morrison y cols. (1990). "Natural history of periodontal disease in adults: findings from the Tecumseh Periodontal Disease Study, 1959-87." J Dent Res **69**(2): 430-435.

Janket, S. J., A. Wightman y cols. (2005). "Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies." J Dent Res **84**(12): 1154-1159.

Jankovic, S., Z. Aleksic y cols. (2013). "Impact of interleukin 1 gene polymorphism and smoking on long-term stability following gingival recession treatment." Int J Periodontics Restorative Dent **33**(1): e16-23.

Jansson, L. and S. Lavstedt (2002). "Influence of smoking on marginal bone loss and tooth loss--a prospective study over 20 years." J Clin Periodontol **29**(8): 750-756.

Jansson, L., S. Lavstedt y cols. (2002). "Prediction of marginal bone loss and tooth loss--a prospective study over 20 years." J Clin Periodontol **29**(8): 672-678.

Jeffcoat, M. K. and M. S. Reddy (1991). "Progression of probing attachment loss in adult periodontitis." J Periodontol **62**(3): 185-189.

Jensen, B. L. and B. Solow (1989). "Alveolar bone loss and crowding in adult periodontal patients." Community Dent Oral Epidemiol **17**(1): 47-51.

Johannsen, A., C. Susin y cols. (2014). "Smoking and inflammation: evidence for a synergistic role in chronic disease." Periodontol 2000 **64**(1): 111-126.

Johansson, A. (2011). "Aggregatibacter actinomycetemcomitans leukotoxin: a powerful tool with capacity to cause imbalance in the host inflammatory response." Toxins (Basel) **3**(3): 242-259.

Joss, A., R. Adler y cols. (1994). "Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice." J Clin Periodontol **21**(6): 402-408.

Kaldahl, W. B., K. L. Kalkwarf y cols. (1996). "Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities." J Periodontol **67**(2): 93-102.

Kamma, J. J., A. Contreras y cols. (2001). "Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis." J Clin Periodontol **28**(9): 879-885.

Kamma, J. J., A. Diamanti-Kipiotti y cols. (2000). "Profile of subgingival microbiota in children with mixed dentition." Oral Microbiol Immunol **15**(2): 103-111.

Kanangat, S., G. U. Meduri y cols. (1999). "Effects of cytokines and endotoxin on the intracellular growth of bacteria." Infect Immun **67**(6): 2834-2840.

Karimbux, N. Y., V. M. Saraiya y cols. (2012). "Interleukin-1 gene polymorphisms and chronic periodontitis in adult whites: a systematic review and meta-analysis." J Periodontol **83**(11): 1407-1419.

Karoussis, I. K., S. Kotsovilis y cols. (2007). "A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients." Clin Oral Implants Res **18**(6): 669-679.

Kawada, M., A. Yoshida y cols. (2004). "Prevalence of Porphyromonas gingivalis in relation to periodontal status assessed by real-time PCR." Oral Microbiol Immunol **19**(5): 289-292.

Kesavalu, L., S. Sathishkumar y cols. (2007). "Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease." Infect Immun **75**(4): 1704-1712.

Kim, S. and A. Misra (2007). "SNP genotyping: technologies and biomedical applications." Annu Rev Biomed Eng **9**: 289-320.

Kinane, D. F., D. R. Demuth y cols. (2007). "Human variability in innate immunity." Periodontol 2000 **45**: 14-34.

Kinane, D. F. and T. C. Hart (2003). "Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease." Crit Rev Oral Biol Med **14**(6): 430-449.

- Kinane, D. F., J. Mooney y cols. (1999). "Humoral immune response to Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in periodontal disease." Periodontol 2000 **20**: 289-340.
- King, E. O. and H. W. Tatum (1962). "Actinobacillus actinomycetemcomitans and Hemophilus aphrophilus." J Infect Dis **111**: 85-94.
- Kinney, J. S., T. Morelli y cols. (2011). "Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression." J Dent Res **90**(6): 752-758.
- Kinney, J. S., T. Morelli y cols. (2014). "Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression." J Clin Periodontol **41**(2): 113-120.
- Klokkevold, P. R. and T. J. Han (2007). "How do smoking, diabetes, and periodontitis affect outcomes of implant treatment?" Int J Oral Maxillofac Implants **22 Suppl**: 173-202.
- Knowles, J. W., F. G. Burgett y cols. (1979). "Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years." J Periodontol **50**(5): 225-233.
- Kobayashi, T., S. Ito y cols. (2007). "The interleukin-1 and Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with rheumatoid arthritis and periodontitis." J Periodontol **78**(12): 2311-2318.
- Kobayashi, T., A. Murasawa y cols. (2009). "Cytokine gene polymorphisms associated with rheumatoid arthritis and periodontitis in Japanese adults." J Periodontol **80**(5): 792-799.
- Kolenbrander, P. E., R. N. Andersen y cols. (1999). "Spatial organization of oral bacteria in biofilms." Methods Enzymol **310**: 322-332.
- Kolenbrander, P. E., R. J. Palmer, Jr. y cols. (2006). "Bacterial interactions and successions during plaque development." Periodontol 2000 **42**: 47-79.
- Konig, J., H. C. Plagmann y cols. (2002). "Tooth loss and pocket probing depths in compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis." J Clin Periodontol **29**(12): 1092-1100.
- Konig, J., A. Ruhling y cols. (2005). "Influence of interleukin (IL)-1 composite genotype on clinical variables in non-smoking, well-maintained compliant patients with chronic periodontitis." Swed Dent J **29**(1): 11-16.
- Kononen, E. (1993). "Pigmented Prevotella species in the periodontally healthy oral cavity." FEMS Immunol Med Microbiol **6**(2-3): 201-205.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Korn, T., E. Bettelli y cols. (2009). "IL-17 and Th17 Cells." Annu Rev Immunol **27**: 485-517.

Kornman, K., G. Duff y cols. (2002). "Re: A critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. Greenstein G, Hart TC (2002;73:231-247)." J Periodontol **73**(12): 1553-1556; author reply 1556-1558.

Kornman, K. S. (2008). "Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look." J Periodontol **79**(8 Suppl): 1560-1568.

Kornman, K. S., A. Crane y cols. (1997). "The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease." J Clin Periodontol **24**(1): 72-77.

Kornman, K. S. and F. S. di Giovine (1998). "Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis." Ann Periodontol **3**(1): 327-338.

Kornman, K. S., R. C. Page y cols. (1997). "The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players." Periodontol 2000 **14**: 33-53.

Kowalski, J., R. Gorska y cols. (2006). "Clinical state of the patients with periodontitis, IL-1 polymorphism and pathogens in periodontal pocket--is there a link? (An introductory report)." Adv Med Sci **51 Suppl 1**: 9-12.

Kremer, B. H., B. G. Loos y cols. (2000). "Peptostreptococcus micros smooth and rough genotypes in periodontitis and gingivitis." J Periodontol **71**(2): 209-218.

Laine, M. L., W. Crielaard y cols. (2012). "Genetic susceptibility to periodontitis." Periodontol 2000 **58**(1): 37-68.

Laine, M. L., M. A. Farre y cols. (2001). "Polymorphisms of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis." J Dent Res **80**(8): 1695-1699.

Laine, M. L., V. Moustakis y cols. (2013). "Modeling susceptibility to periodontitis." J Dent Res **92**(1): 45-50.

Lalla, E. and P. N. Papapanou (2011). "Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases." Nat Rev Endocrinol **7**(12): 738-748.

Lamster, I. B., L. G. Holmes y cols. (1995). "The relationship of beta-glucuronidase activity in crevicular fluid to probing attachment loss in patients with adult periodontitis. Findings from a multicenter study." J Clin Periodontol **22**(1): 36-44.

- Lamster, I. B., Q. T. Smith y cols. (1994). "Development of a risk profile for periodontal disease: microbial and host response factors." J Periodontol **65**(5 Suppl): 511-520.
- Lang, N. P., R. Adler y cols. (1990). "Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability." J Clin Periodontol **17**(10): 714-721.
- Lang, N. P., A. Joss y cols. (1986). "Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease?" J Clin Periodontol **13**(6): 590-596.
- Lang, N. P., J. E. Suvan y cols. (2014). "Risk Factor Assessment Tools for the Prevention of Periodontitis Progression A Systematic Review." J Clin Periodontol.
- Lang, N. P. and M. S. Tonetti (2003). "Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT)." Oral Health Prev Dent **1**(1): 7-16.
- Lang, N. P., M. S. Tonetti y cols. (2000). "Effect of interleukin-1 gene polymorphisms on gingival inflammation assessed by bleeding on probing in a periodontal maintenance population." J Periodontol Res **35**(2): 102-107.
- Lau, L., M. Sanz y cols. (2004). "Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples." J Clin Periodontol **31**(12): 1061-1069.
- Linden, G. J., A. Lyons y cols. (2013). "Periodontal systemic associations: review of the evidence." J Periodontol **84**(4 Suppl): S8-S19.
- Lindhe, J., A. D. Haffajee y cols. (1983). "Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy." J Clin Periodontol **10**(4): 433-442.
- Lindhe, J., S. Hamp y cols. (1973). "Experimental periodontitis in the beagle dog." J Periodontol Res **8**(1): 1-10.
- Lindhe, J. and S. Nyman (1984). "Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease." J Clin Periodontol **11**(8): 504-514.
- Lindhe, J., H. Okamoto y cols. (1989). "Periodontal loser sites in untreated adult subjects." J Clin Periodontol **16**(10): 671-678.
- Lindskog, S., J. Blomlof y cols. (2010). "Validation of an algorithm for chronic periodontitis risk assessment and prognostication: analysis of an inflammatory reactivity test and selected risk predictors." J Periodontol **81**(6): 837-847.
- Listgarten, M. A. (1965). "Electron Microscopic Observations on the Bacterial Flora of Acute Necrotizing Ulcerative Gingivitis." J Periodontol **36**: 328-339.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Listgarten, M. A., C. H. Lai y cols. (1993). "Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis." J Periodontol **64**(3): 155-161.

Listgarten, M. A., J. Slots y cols. (1991). "Incidence of periodontitis recurrence in treated patients with and without cultivable *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, and *Porphyromonas gingivalis*: a prospective study." J Periodontol **62**(6): 377-386.

Locker, D., G. D. Slade y cols. (1998). "Epidemiology of periodontal disease among older adults: a review." Periodontol 2000 **16**: 16-33.

Loe, H. (1993). "Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus." Diabetes Care **16**(1): 329-334.

Loe, H., A. Anerud y cols. (1992). "The natural history of periodontal disease in man: prevalence, severity, and extent of gingival recession." J Periodontol **63**(6): 489-495.

Loe, H., A. Anerud y cols. (1986). "Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age." J Clin Periodontol **13**(5): 431-445.

Loe, H., A. Anerud y cols. (1978). "The natural history of periodontal disease in man. The rate of periodontal destruction before 40 years of age." J Periodontol **49**(12): 607-620.

Loe, H., E. Theilade y cols. (1965). "Experimental Gingivitis in Man." J Periodontol **36**: 177-187.

Loesche, W. J. (1976). "Chemotherapy of dental plaque infections." Oral Sci Rev **9**: 65-107.

Loesche, W. J., D. E. Lopatin y cols. (1992). "Comparison of the benzoyl-DL-arginine-naphthylamide (BANA) test, DNA probes, and immunological reagents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Bacteroides forsythus*." J Clin Microbiol **30**(2): 427-433.

Loesche, W. J., S. A. Syed y cols. (1982). "The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis." J Periodontol **53**(4): 223-230.

Loevy, H. T. (1976). "Genetic aspects of periodontal disease." Quintessence Int Dent Dig **7**(5): 53-57.

Loomer, P. M. (2004). "Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases." Periodontol 2000 **34**: 49-56.

- Loos, B. G., R. P. John y cols. (2005). "Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action." J Clin Periodontol **32 Suppl 6**: 159-179.
- Lopez, N. J. (2000). "Occurrence of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, and Prevotella intermedia in progressive adult periodontitis." J Periodontol **71**(6): 948-954.
- Lopez, N. J., L. Jara y cols. (2005). "Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease." J Periodontol **76**(2): 234-243.
- Lu, H., J. V. Califano y cols. (1993). "Immunoglobulin class and subclass distribution of antibodies reactive with the immunodominant antigen of Actinobacillus actinomycetemcomitans serotype b." Infect Immun **61**(6): 2400-2407.
- MacFarlane, T. W., W. M. Jenkins y cols. (1988). "Longitudinal study of untreated periodontitis (II). Microbiological findings." J Clin Periodontol **15**(5): 331-337.
- Machtei, E. E., R. Dunford y cols. (1997). "Longitudinal study of prognostic factors in established periodontitis patients." J Clin Periodontol **24**(2): 102-109.
- Machtei, E. E., E. Hausmann y cols. (1999). "Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss." J Clin Periodontol **26**(6): 374-380.
- Machtei, E. E., J. Norderyd y cols. (1993). "The rate of periodontal attachment loss in subjects with established periodontitis." J Periodontol **64**(8): 713-718.
- Marazita, M. L., J. A. Burmeister y cols. (1994). "Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis." J Periodontol **65**(6): 623-630.
- Mariotti, A. and P. J. Monroe (1998). "Pharmacologic management of periodontal diseases using systemically administered agents." Dent Clin North Am **42**(2): 245-262.
- Marsh, P. D. (1994). "Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease." Adv Dent Res **8**(2): 263-271.
- Marsh, P. D. (2004). "Dental plaque as a microbial biofilm." Caries Res **38**(3): 204-211.
- Marsh, P. D. (2005). "Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style." J Clin Periodontol **32 Suppl 6**: 7-15.
- Marsh, P. D., A. Moter y cols. (2011). "Dental plaque biofilms: communities, conflict and control." Periodontol 2000 **55**(1): 16-35.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Martinez-Maestre, M. A., C. Gonzalez-Cejudo y cols. (2010). "Periodontitis and osteoporosis: a systematic review." Climacteric **13**(6): 523-529.

Matesanz-Perez, P., M. Garcia-Gargallo y cols. (2013). "A systematic review on the effects of local antimicrobials as adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis." J Clin Periodontol **40**(3): 227-241.

Matuliene, G., B. E. Pjetursson y cols. (2008). "Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance." J Clin Periodontol **35**(8): 685-695.

McDevitt, M. J., H. Y. Wang y cols. (2000). "Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice." J Periodontol **71**(2): 156-163.

McFall, W. T., Jr. (1982). "Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease. A long-term study." J Periodontol **53**(9): 539-549.

McGrath, C. and R. Bedi (1999). "The value and use of 'quality of life' measures in the primary dental care setting." Prim Dent Care **6**(2): 53-57.

McGuire, M. K. and M. E. Nunn (1996). "Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival." J Periodontol **67**(7): 666-674.

McGuire, M. K. and M. E. Nunn (1999). "Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival." J Periodontol **70**(1): 49-56.

Mealey, B. L. (2000). "Diabetes and periodontal disease: two sides of a coin." Compend Contin Educ Dent **21**(11): 943-946, 948, 950, passim; quiz 956.

Meisel, P., C. Schwahn y cols. (2004). "Dose-effect relation of smoking and the interleukin-1 gene polymorphism in periodontal disease." J Periodontol **75**(2): 236-242.

Meisel, P., A. Siegemund y cols. (2002). "Smoking and polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster (IL-1alpha, IL-1beta, and IL-1RN) in patients with periodontal disease." J Periodontol **73**(1): 27-32.

Meng, H., X. Ren y cols. (2011). "Genetic study of families affected with aggressive periodontitis." Periodontol 2000 **56**(1): 87-101.

Meyer, D. H., P. K. Sreenivasan y cols. (1991). "Evidence for invasion of a human oral cell line by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*." Infect Immun **59**(8): 2719-2726.

Michalowicz, B. S., D. Aepli y cols. (1991). "Periodontal findings in adult twins." J Periodontol **62**(5): 293-299.

Michalowicz, B. S., S. R. Diehl y cols. (2000). "Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis." J Periodontol **71**(11): 1699-1707.

Mombelli, A., H. McNabb y cols. (1991). "Black-pigmenting gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*." J Periodontal Res **26**(4): 308-313.

Moore, W. E. and L. V. Moore (1994). "The bacteria of periodontal diseases." Periodontol 2000 **5**: 66-77.

Muhlemann, H. R. and S. Son (1971). "Gingival sulcus bleeding--a leading symptom in initial gingivitis." Helv Odontol Acta **15**(2): 107-113.

Muller, H. P., A. Heinecke y cols. (1997). "Microbial ecology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* and *Capnocytophaga* spp. in adult periodontitis." J Periodontal Res **32**(6): 530-542.

Murray, P. A., M. J. Levine y cols. (1986). "Preparation of a sialic acid-binding protein from *Streptococcus mitis* KS32AR." Infect Immun **53**(2): 359-365.

Nakagawa, I., H. Inaba y cols. (2006). "Invasion of epithelial cells and proteolysis of cellular focal adhesion components by distinct types of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae." Infect Immun **74**(7): 3773-3782.

Nares, S. (2003). "The genetic relationship to periodontal disease." Periodontol 2000 **32**: 36-49.

Nastri, L. and F. Caruso (2003). "[Association between interleukin-1 composite genotype and severe periodontitis: case-control study]." Minerva Stomatol **52**(6): 253-259.

Nathan, C. (2006). "Neutrophils and immunity: challenges and opportunities." Nat Rev Immunol **6**(3): 173-182.

Needleman, I., C. McGrath y cols. (2004). "Impact of oral health on the life quality of periodontal patients." J Clin Periodontol **31**(6): 454-457.

Neely, A. L., T. R. Holford y cols. (2001). "The natural history of periodontal disease in man. Risk factors for progression of attachment loss in individuals receiving no oral health care." J Periodontol **72**(8): 1006-1015.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Nelson, R. G., M. Shlossman y cols. (1990). "Periodontal disease and NIDDM in Pima Indians." Diabetes Care **13**(8): 836-840.

Newman, M. G., S. S. Socransky y cols. (1976). "Studies of the microbiology of periodontosis." J Periodontol **47**(7): 373-379.

Ng, S. K. and W. K. Leung (2006). "Oral health-related quality of life and periodontal status." Community Dent Oral Epidemiol **34**(2): 114-122.

Nibali, L., G. S. Griffiths y cols. (2008). "Association between interleukin-6 promoter haplotypes and aggressive periodontitis." J Clin Periodontol **35**(3): 193-198.

Nieri, M., L. Muzzi y cols. (2002). "The prognostic value of several periodontal factors measured as radiographic bone level variation: a 10-year retrospective multilevel analysis of treated and maintained periodontal patients." J Periodontol **73**(12): 1485-1493.

Nikolopoulos, G. K., N. L. Dimou y cols. (2008). "Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls." J Clin Periodontol **35**(9): 754-767.

Nishida, N., M. Tanaka y cols. (2005). "Determination of smoking and obesity as periodontitis risks using the classification and regression tree method." J Periodontol **76**(6): 923-928.

Nociti, F. H., Jr., M. Z. Casati y cols. (2015). "Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis." Periodontol 2000 **67**(1): 187-210.

Nociti, F. H., Jr., R. Cesco De Toledo y cols. (2001). "Clinical and microbiological evaluation of ligature-induced peri-implantitis and periodontitis in dogs." Clin Oral Implants Res **12**(4): 295-300.

Norskov-Lauritsen, N. and M. Kilian (2006). "Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates." Int J Syst Evol Microbiol **56**(Pt 9): 2135-2146.

Nunn, M. E. and S. K. Harrel (2001). "The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. I. Relationship of initial occlusal discrepancies to initial clinical parameters." J Periodontol **72**(4): 485-494.

Nussbaum, G. and L. Shapira (2011). "How has neutrophil research improved our understanding of periodontal pathogenesis?" J Clin Periodontol **38** **Suppl 11**: 49-59.

- O'Brien-Simpson, N. M., C. L. Black y cols. (2000). "Serum immunoglobulin G (IgG) and IgG subclass responses to the RgpA-Kgp proteinase-adhesin complex of Porphyromonas gingivalis in adult periodontitis." Infect Immun **68**(5): 2704-2712.
- O'Leary, T. J., R. B. Drake y cols. (1972). "The plaque control record." J Periodontol **43**(1): 38.
- Offenbacher, S. (1996). "Periodontal diseases: pathogenesis." Ann Periodontol **1**(1): 821-878.
- Ogawa, H., A. Yoshihara y cols. (2002). "Risk factors for periodontal disease progression among elderly people." J Clin Periodontol **29**(7): 592-597.
- Oliver, R. C., L. J. Brown y cols. (1998). "Periodontal diseases in the United States population." J Periodontol **69**(2): 269-278.
- Olsen, I., H. N. Shah y cols. (1999). "Taxonomy and biochemical characteristics of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis." Periodontol 2000 **20**: 14-52.
- Onoue, S., T. Imai y cols. (2003). "Serum antibodies of periodontitis patients compared to the lipopolysaccharides of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum." Microbiol Immunol **47**(1): 51-55.
- Oringer, R. J., J. P. Fiorellini y cols. (1998). "The effect of different diagnostic thresholds on incidence of disease progression." J Periodontol **69**(8): 872-878.
- Page, R. C. and P. I. Eke (2007). "Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis." J Periodontol **78**(7 Suppl): 1387-1399.
- Page, R. C. and K. S. Kornman (1997). "The pathogenesis of human periodontitis: an introduction." Periodontol 2000 **14**: 9-11.
- Page, R. C., E. A. Krall y cols. (2002). "Validity and accuracy of a risk calculator in predicting periodontal disease." J Am Dent Assoc **133**(5): 569-576.
- Palcanis, K. G., I. K. Larjava y cols. (1992). "Elastase as an indicator of periodontal disease progression." J Periodontol **63**(4): 237-242.
- Papapanou, P. N. (1996). "Periodontal diseases: epidemiology." Ann Periodontol **1**(1): 1-36.
- Papapanou, P. N., J. Lindhe y cols. (1991). "Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support." J Clin Periodontol **18**(8): 611-615.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Papapanou, P. N., A. M. Neiderud y cols. (2000). ""Checkerboard" assessments of periodontal microbiota and serum antibody responses: a case-control study." J Periodontol **71**(6): 885-897.

Papapanou, P. N., A. M. Neiderud y cols. (2001). "Interleukin-1 gene polymorphism and periodontal status. A case-control study." J Clin Periodontol **28**(5): 389-396.

Papapanou, P. N. and M. S. Tonetti (2000). "Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions." Periodontol 2000 **22**: 8-21.

Papapanou, P. N. and J. L. Wennstrom (1990). "A 10-year retrospective study of periodontal disease progression. Clinical characteristics of subjects with pronounced and minimal disease development." J Clin Periodontol **17**(2): 78-84.

Papapanou, P. N. and J. L. Wennstrom (1991). "The angular bony defect as indicator of further alveolar bone loss." J Clin Periodontol **18**(5): 317-322.

Papapanou, P. N., J. L. Wennstrom y cols. (1988). "Periodontal status in relation to age and tooth type. A cross-sectional radiographic study." J Clin Periodontol **15**(7): 469-478.

Papapanou, P. N., J. L. Wennstrom y cols. (1990). "Periodontal treatment needs assessed by the use of clinical and radiographic criteria." Community Dent Oral Epidemiol **18**(3): 113-119.

Park, K. S., J. H. Nam y cols. (2006). "The short vitamin D receptor is associated with increased risk for generalized aggressive periodontitis." J Clin Periodontol **33**(8): 524-528.

Parkhill, J. M., B. J. Hennig y cols. (2000). "Association of interleukin-1 gene polymorphisms with early-onset periodontitis." J Clin Periodontol **27**(9): 682-689.

Patel, R. A., R. F. Wilson y cols. (2012). "The effect of smoking on periodontal bone regeneration: a systematic review and meta-analysis." J Periodontol **83**(2): 143-155.

Persson, G. R., R. Attstrom y cols. (2003). "Perceived risk of deteriorating periodontal conditions." J Clin Periodontol **30**(11): 982-989.

Persson, G. R., L. A. Mancl y cols. (2003). "Assessing periodontal disease risk: a comparison of clinicians' assessment versus a computerized tool." J Am Dent Assoc **134**(5): 575-582.

Persson, G. R., G. Matuliene y cols. (2003). "Influence of interleukin-1 gene polymorphism on the outcome of supportive periodontal therapy explored by a multi-factorial periodontal risk assessment model (PRA)." Oral Health Prev Dent **1**(1): 17-27.

Peruzzo, D. C., B. B. Benatti y cols. (2007). "A systematic review of stress and psychological factors as possible risk factors for periodontal disease." J Periodontol **78**(8): 1491-1504.

Petit, M. D., T. J. van Steenberg y cols. (1994). "Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis patients." J Clin Periodontol **21**(2): 76-85.

Pihlstrom, B. L., R. B. McHugh y cols. (1983). "Comparison of surgical and nonsurgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6 1/2 years." J Clin Periodontol **10**(5): 524-541.

Porat, R., B. D. Clark y cols. (1991). "Enhancement of growth of virulent strains of Escherichia coli by interleukin-1." Science **254**(5030): 430-432.

Preshaw, P. M. and J. J. Taylor (2011). "How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis?" J Clin Periodontol **38 Suppl 11**: 60-84.

Ramberg, P., Y. Furuichi y cols. (1996). "The effects of antimicrobial mouthrinses on de novo plaque formation at sites with healthy and inflamed gingivae." J Clin Periodontol **23**(1): 7-11.

Rams, T. E., D. Feik y cols. (1993). "Campylobacter rectus in human periodontitis." Oral Microbiol Immunol **8**(4): 230-235.

Rams, T. E., M. A. Listgarten y cols. (1996). "Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care." J Clin Periodontol **23**(4): 346-354.

Ramseier, C. A., J. S. Kinney y cols. (2009). "Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease." J Periodontol **80**(3): 436-446.

Rapp, G. E., N. Pineda-Trujillo y cols. (2011). "Genetic power of a Brazilian three-generation family with generalized aggressive periodontitis. II." Braz Dent J **22**(1): 68-73.

Renvert, S. and G. R. Persson (2002). "A systematic review on the use of residual probing depth, bleeding on probing and furcation status following initial periodontal therapy to predict further attachment and tooth loss." J Clin Periodontol **29 Suppl 3**: 82-89; discussion 90-81.

Renvert, S. and G. R. Persson (2004). "Supportive periodontal therapy." Periodontol 2000 **36**: 179-195.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Reynolds, M. A. (2014). "Modifiable risk factors in periodontitis: at the intersection of aging and disease." Periodontol 2000 **64**(1): 7-19.

Rogers, M. A., L. Figliomeni y cols. (2002). "Do interleukin-1 polymorphisms predict the development of periodontitis or the success of dental implants?" J Periodontal Res **37**(1): 37-41.

Rooney, J., W. G. Wade y cols. (2002). "Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study." J Clin Periodontol **29**(4): 342-350.

Rosling, B., G. Serino y cols. (2001). "Longitudinal periodontal tissue alterations during supportive therapy. Findings from subjects with normal and high susceptibility to periodontal disease." J Clin Periodontol **28**(3): 241-249.

Rudney, J. D., R. Chen y cols. (2001). "Intracellular Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in buccal epithelial cells collected from human subjects." Infect Immun **69**(4): 2700-2707.

Russell, A. L. (1956). "A system of classification and scoring for prevalence surveys of periodontal disease." J Dent Res **35**(3): 350-359.

Rylev, M. and M. Kilian (2008). "Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide." J Clin Periodontol **35**(8 Suppl): 346-361.

Saglie, F. R., A. Marfany y cols. (1988). "Intragingival occurrence of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Bacteroides gingivalis in active destructive periodontal lesions." J Periodontol **59**(4): 259-265.

Sakamoto, M., M. Suzuki y cols. (2002). "Reclassification of Bacteroides forsythus (Tanner et al. 1986) as Tannerella forsythensis corrig., gen. nov., comb. nov." Int J Syst Evol Microbiol **52**(Pt 3): 841-849.

Sakellari, D., V. Katsares y cols. (2006). "No correlation of five gene polymorphisms with periodontal conditions in a Greek population." J Clin Periodontol **33**(11): 765-770.

Sakellari, D., S. Koukoudetsos y cols. (2003). "Prevalence of IL-1A and IL-1B polymorphisms in a Greek population." J Clin Periodontol **30**(1): 35-41.

Salvi, G. E., B. Yalda y cols. (1997). "Inflammatory mediator response as a potential risk marker for periodontal diseases in insulin-dependent diabetes mellitus patients." J Periodontol **68**(2): 127-135.

Sandberg, A. L., L. L. Mudrick y cols. (1986). "Type 2 fimbrial lectin-mediated phagocytosis of oral *Actinomyces* spp. by polymorphonuclear leukocytes." *Infect Immun* **54**(2): 472-476.

Sanz, M., L. Lau y cols. (2004). "Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review." *J Clin Periodontol* **31**(12): 1034-1047.

Sanz, M., A. J. van Winkelhoff y cols. (2000). "Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographical origin. A comparison between Spain and The Netherlands." *Eur J Oral Sci* **108**(5): 383-392.

Savitt, E. D., M. N. Strzempko y cols. (1988). "Comparison of cultural methods and DNA probe analyses for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides intermedius* in subgingival plaque samples." *J Periodontol* **59**(7): 431-438.

Schaefer, A. S., G. M. Richter y cols. (2010). "A genome-wide association study identifies *GLT6D1* as a susceptibility locus for periodontitis." *Hum Mol Genet* **19**(3): 553-562.

Schatzle, M., N. P. Land y cols. (2001). "The influence of margins of restorations of the periodontal tissues over 26 years." *J Clin Periodontol* **28**(1): 57-64.

Scheie, A. A. (1994). "Mechanisms of dental plaque formation." *Adv Dent Res* **8**(2): 246-253.

Scherp, H. W. (1964). "Current Concepts in Periodontal Disease Research: Epidemiological Contributions." *J Am Dent Assoc* **68**: 667-675.

Schork, N. J., D. Fallin y cols. (2000). "Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology." *Clin Genet* **58**(4): 250-264.

Seymour, G. J. (1991). "Importance of the host response in the periodontium." *J Clin Periodontol* **18**(6): 421-426.

Seymour, G. J., E. Gemmell y cols. (1993). "Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms." *J Periodontal Res* **28**(6 Pt 2): 478-486.

Seymour, G. J., E. Gemmell y cols. (1988). "Immunohistological analysis of experimental gingivitis in humans." *Clin Exp Immunol* **71**(1): 132-137.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Seymour, G. J. and J. S. Greenspan (1979). "The phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease." J Periodontal Res **14**(1): 39-46.

Shaffer, J. R., D. E. Polk y cols. (2014). "Genome-wide association study of periodontal health measured by probing depth in adults ages 18-49 years." G3 (Bethesda) **4**(2): 307-314.

Shapira, L., A. Wilensky y cols. (2005). "Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection." J Clin Periodontol **32 Suppl 6**: 72-86.

Sharma, A. (2010). "Virulence mechanisms of *Tannerella forsythia*." Periodontol 2000 **54**(1): 106-116.

Shearer, D. M., W. M. Thomson y cols. (2011). "Inter-generational continuity in periodontal health: findings from the Dunedin family history study." J Clin Periodontol **38**(4): 301-309.

Sheikhi, M., A. Gustafsson y cols. (2000). "Cytokine, elastase and oxygen radical release by *Fusobacterium nucleatum*-activated leukocytes: a possible pathogenic factor in periodontitis." J Clin Periodontol **27**(10): 758-762.

Shin, J., S. A. Kho y cols. (2013). "Antibody and T cell responses to *Fusobacterium nucleatum* and *Treponema denticola* in health and chronic periodontitis." PLoS One **8**(1): e53703.

Siegrist, B. E., M. C. Brex y cols. (1991). "In vivo early human dental plaque formation on different supporting substances. A scanning electron microscopic and bacteriological study." Clin Oral Implants Res **2**(1): 38-46.

Silva, N., N. Dutzan y cols. (2008). "Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells." J Clin Periodontol **35**(3): 206-214.

Simpson, D. L., P. Berthold y cols. (1988). "Killing of human myelomonocytic leukemia and lymphocytic cell lines by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin." Infect Immun **56**(5): 1162-1166.

Simpson, T. C., I. Needleman y cols. (2010). "Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes." Cochrane Database Syst Rev(5): CD004714.

Singh, T. and A. B. Newman (2011). "Inflammatory markers in population studies of aging." Ageing Res Rev **10**(3): 319-329.

Slots, J. (2013). "Periodontology: past, present, perspectives." Periodontol 2000 **62**(1): 7-19.

Slots, J., H. S. Reynolds y cols. (1980). "Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation." Infect Immun **29**(3): 1013-1020.

Smith, A. J., J. Palmen y cols. (2010). "Application of statistical and functional methodologies for the investigation of genetic determinants of coronary heart disease biomarkers: lipoprotein lipase genotype and plasma triglycerides as an exemplar." Hum Mol Genet **19**(20): 3936-3947.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (1994). "Evidence of bacterial etiology: a historical perspective." Periodontol 2000 **5**: 7-25.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (1997). "The nature of periodontal diseases." Ann Periodontol **2**(1): 3-10.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (2002). "Dental biofilms: difficult therapeutic targets." Periodontol 2000 **28**: 12-55.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (2005). "Periodontal microbial ecology." Periodontol 2000 **38**: 135-187.

Socransky, S. S., A. D. Haffajee y cols. (1998). "Microbial complexes in subgingival plaque." J Clin Periodontol **25**(2): 134-144.

Socransky, S. S., A. D. Haffajee y cols. (1984). "New concepts of destructive periodontal disease." J Clin Periodontol **11**(1): 21-32.

Socransky, S. S., A. D. Haffajee y cols. (2000). "Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients." J Clin Periodontol **27**(11): 810-818.

Socransky, S. S., C. Smith y cols. (1994). "'Checkerboard' DNA-DNA hybridization." Biotechniques **17**(4): 788-792.

Soder, B., S. Airila Mansson y cols. (2006). "Levels of matrix metalloproteinases-8 and -9 with simultaneous presence of periodontal pathogens in gingival crevicular fluid as well as matrix metalloproteinase-9 and cholesterol in blood." J Periodontol Res **41**(5): 411-417.

Soga, Y., F. Nishimura y cols. (2003). "Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF-alpha) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese." J Clin Periodontol **30**(6): 524-531.

Stabholz, A., W. A. Soskolne y cols. (2010). "Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis." Periodontol 2000 **53**: 138-153.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Stevens, R. H., S. E. Lillard y cols. (1987). "Purification and biochemical properties of a bacteriocin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*." Infect Immun **55**(3): 692-697.

Stewart, P. S. and J. W. Costerton (2001). "Antibiotic resistance of bacteria in biofilms." Lancet **358**(9276): 135-138.

Suvan, J., F. D'Aiuto y cols. (2011). "Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review." Obes Rev **12**(5): e381-404.

Suzuki, A., G. Ji y cols. (2004). "Single nucleotide polymorphisms associated with aggressive periodontitis and severe chronic periodontitis in Japanese." Biochem Biophys Res Commun **317**(3): 887-892.

Swamy, M., C. Jamora y cols. (2010). "Epithelial decision makers: in search of the 'epimmunome'." Nat Immunol **11**(8): 656-665.

Syed, S. A. and W. J. Loesche (1972). "Survival of human dental plaque flora in various transport media." Appl Microbiol **24**(4): 638-644.

Tai, H., M. Endo y cols. (2002). "Association of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with early onset periodontitis in Japanese." J Clin Periodontol **29**(10): 882-888.

Takeda, K., T. Kaisho y cols. (2003). "Toll-like receptors." Annu Rev Immunol **21**: 335-376.

Takeuchi, O. and S. Akira (2001). "Toll-like receptors; their physiological role and signal transduction system." Int Immunopharmacol **1**(4): 625-635.

Tanner, A. C. and J. Izard (2006). "Tannerella forsythia, a periodontal pathogen entering the genomic era." Periodontol 2000 **42**: 88-113.

Taylor, G. W., B. A. Burt y cols. (1998). "Glycemic control and alveolar bone loss progression in type 2 diabetes." Ann Periodontol **3**(1): 30-39.

Teles, R., F. Teles y cols. (2013). "Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology." Periodontol 2000 **62**(1): 95-162.

Tervonen, T., T. Raunio y cols. (2007). "Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease." J Clin Periodontol **34**(5): 377-383.

Teumer, A., B. Holtfreter y cols. (2013). "Genome-wide association study of chronic periodontitis in a general German population." J Clin Periodontol **40**(11): 977-985.

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

Theilade, E. and J. Theilade (1985). "Formation and ecology of plaque at different locations in the mouth." Scand J Dent Res **93**(2): 90-95.

Thomson, W. M., J. M. Broadbent y cols. (2007). "Cigarette smoking and periodontal disease among 32-year-olds: a prospective study of a representative birth cohort." J Clin Periodontol **34**(10): 828-834.

Timmerman, M. F., G. A. Van der Weijden y cols. (2000). "Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Longitudinal clinical data and prospective clinical and microbiological risk assessment." J Clin Periodontol **27**(12): 932-942.

Timmerman, M. F., G. A. Van der Weijden y cols. (2001). "Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Subgingival microbiota in relation to experienced progression of periodontitis." J Clin Periodontol **28**(7): 617-627.

Timmerman, M. F., G. A. Van der Weijden y cols. (1998). "Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Clinical and microbiological baseline data." J Clin Periodontol **25**(3): 215-224.

Tindall, B. J. and J. P. Euzéby (2006). "Proposal of Parvimonas gen. nov. and Quatrionococcus gen. nov. as replacements for the illegitimate, prokaryotic, generic names Micromonas Murdoch and Shah 2000 and Quadricoccus Maszenan et al. 2002, respectively." Int J Syst Evol Microbiol **56**(Pt 11): 2711-2713.

Tonetti, M. S., N. Claffey y cols. (2005). "Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology." J Clin Periodontol **32 Suppl 6**: 210-213.

Tonetti, M. S., P. Steffen y cols. (2000). "Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care." J Clin Periodontol **27**(11): 824-831.

Tran, S. D., J. D. Rudney y cols. (2001). "Persistent presence of Bacteroides forsythus as a risk factor for attachment loss in a population with low prevalence and severity of adult periodontitis." J Periodontol **72**(1): 1-10.

Travis, J., R. Pike y cols. (1994). "The role of proteolytic enzymes in the development of pulmonary emphysema and periodontal disease." Am J Respir Crit Care Med **150**(6 Pt 2): S143-146.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Trott, J. R. and H. G. Cross (1966). "An analysis of the principle reasons for tooth extractions in 1813 patients in Manitoba." Dent Pract Dent Rec **17**(1): 20-27.

Tsarev, V. N. and E. N. Nikolaeva (2007). "[The allelic polymorphism of IL-1alpha and IL-beta genes in patients with chronic inflammatory periodontal diseases]." Vestn Ross Akad Med Nauk(3): 43-47.

Turnbaugh, P. J., R. E. Ley y cols. (2007). "The human microbiome project." Nature **449**(7164): 804-810.

Uchida, Y., H. Shiba y cols. (2001). "Expression of IL-1 beta and IL-8 by human gingival epithelial cells in response to Actinobacillus actinomycetemcomitans." Cytokine **14**(3): 152-161.

Unell, L., B. Soderfeldt y cols. (2000). "Explanatory models for clinical and subjective indicators of periodontal disease in an adult population." J Clin Periodontol **27**(1): 22-29.

Van der Velden, U. (2000). "Diagnosis of periodontitis." J Clin Periodontol **27**(12): 960-961.

van der Velden, U. (2005). "Purpose and problems of periodontal disease classification." Periodontol 2000 **39**: 13-21.

van der Velden, U., F. Abbas y cols. (1993). "The effect of sibling relationship on the periodontal condition." J Clin Periodontol **20**(9): 683-690.

Van der Velden, U., F. Abbas y cols. (2006). "Java project on periodontal diseases. The natural development of periodontitis: risk factors, risk predictors and risk determinants." J Clin Periodontol **33**(8): 540-548.

Van der Velden, U., F. Abbas y cols. (1989). "Prevalence of periodontal breakdown in adolescents and presence of Actinobacillus actinomycetemcomitans in subjects with attachment loss." J Periodontol **60**(11): 604-610.

Van der Velden, U., A. Varoufaki y cols. (2003). "Effect of smoking and periodontal treatment on the subgingival microflora." J Clin Periodontol **30**(7): 603-610.

Van Dyke, T. E. (2007). "Cellular and molecular susceptibility determinants for periodontitis." Periodontol 2000 **45**: 10-13.

Van Dyke, T. E. (2007). "Control of inflammation and periodontitis." Periodontol 2000 **45**: 158-166.

van Steenberghe, D., B. Rosling y cols. (1999). "A 15-month evaluation of the effects of repeated subgingival minocycline in chronic adult periodontitis." J Periodontol **70**(6): 657-667.

van Winkelhoff, A. J., C. J. Tjihof y cols. (1992). "Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis." J Periodontol **63**(1): 52-57.

Vitkov, L., W. D. Krautgartner y cols. (2005). "Bacterial internalization in periodontitis." Oral Microbiol Immunol **20**(5): 317-321.

Wade, W. G. (2011). "Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis of periodontal disease?" J Clin Periodontol **38 Suppl 11**: 7-16.

Wade, W. G. (2013). "The oral microbiome in health and disease." Pharmacol Res **69**(1): 137-143.

Wagner, J., W. E. Kaminski y cols. (2007). "Prevalence of OPG and IL-1 gene polymorphisms in chronic periodontitis." J Clin Periodontol **34**(10): 823-827.

Wang, B., E. Kraig y cols. (2000). "Use of defined mutants to assess the role of the Campylobacter rectus S-layer in bacterium-epithelial cell interactions." Infect Immun **68**(3): 1465-1473.

Wang, H. L., F. G. Burgett y cols. (1994). "The influence of molar furcation involvement and mobility on future clinical periodontal attachment loss." J Periodontol **65**(1): 25-29.

Weiss, O. I., J. Caton y cols. (2004). "Effect of the interleukin-1 genotype on outcomes of regenerative periodontal therapy with bone replacement grafts." J Periodontol **75**(10): 1335-1342.

Wennstrom, J. L., G. Dahlen y cols. (1987). "Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius: predictors of attachment loss?" Oral Microbiol Immunol **2**(4): 158-162.

Wheeler, T. T., W. P. McArthur y cols. (1994). "Modeling the relationship between clinical, microbiologic, and immunologic parameters and alveolar bone levels in an elderly population." J Periodontol **65**(1): 68-78.

Williams, R. C. (1990). "Periodontal disease." N Engl J Med **322**(6): 373-382.

Wilton, J. M., T. J. Hurst y cols. (1992). "Elevated levels of the IgG2 subclass in serum from patients with a history of destructive periodontal disease. A case-control study." J Clin Periodontol **19**(5): 318-321.

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE FACTORES GENÉTICOS Y MICROBIOLÓGICOS
EN LA PROGRESIÓN DE LA PERIODONTITIS**

Yang, H. W., Y. F. Huang y cols. (2004). "Occurrence of Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in periodontally diseased and healthy subjects." J Periodontol **75**(8): 1077-1083.

Zambon, J. J. (1983). "Recent research on the role of the dental plaque microorganism Actinobacillus actinomycetemcomitans in the etiology of localized juvenile periodontitis." Bull Eighth Dist Dent Soc **17**(3): 16-17.

Zambon, J. J. (1996). "Periodontal diseases: microbial factors." Ann Periodontol **1**(1): 879-925.

Zambon, J. J., L. A. Christersson y cols. (1983). "Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families." J Periodontol **54**(12): 707-711.

Zhang, J., X. Sun y cols. (2011). "Gene polymorphisms and periodontitis." Periodontol **2000** **56**(1): 102-124.