



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

BIOMARCADORES ESPECÍFICOS DE LA  
ENFERMEDAD PERIODONTAL ENCONTRADOS EN  
SALIVA.

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

LAURA AMARA ABBUD OLIVO

TUTORA: C.D. MARÍA CONCEPCIÓN ALVAREZ GARCÍA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A Dios: por darme la esperanza, la fuerza, la fé y el sentido común para seguir adelante cuando ya no había luz en mi camino.*

*A mis Padres: por siempre darme su apoyo incondicional cuando más lo necesité.*

*A mi segunda casa: mi alma matriz en el sentido profesional, la tres veces honorífica Universidad Nacional Autónoma de México por haberme dado la oportunidad de estar en sus aulas desde la preparatoria.*

*A la Facultad de Odontología: por haberme dado las armas necesarias para luchar ante la vida.*

*A la C.D. María Concepción Álvarez García en especial por su paciencia, su tiempo y por darme una guía profesional de alta calidad para la realización de este proyecto.*

*A la C.D. Amalia Cruz Chávez por sus consejos y sabiduría.*

*A mis Profesores de toda la carrera porque sin ellos no hubiera podido aprender a conquistar y vencer los retos de la profesión.*

# ÌNDICE



1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. PROPÓSITO.....	7
3. OBJETIVO.....	7
4. GLÁNDULAS SALIVALES.....	8
4.1 Glándulas salivales mayores.....	9
4.2 Glándulas salivales menores.....	9
4.3 Saliva.....	10
4.3.1 Componentes.....	11
4.3.2 Funciones básicas de la saliva.....	12
5. BIOMARCADORES.....	16
5.1 Biomarcadores salivales.....	16
5.2 Definición de Proteína.....	18
5.2.1 Características.....	18
5.2.2 Funciones.....	19
5.2.3 Glicoproteína.....	20
5.2.4 Citocinas.....	20

5.3 Definición de ADN.....	23
5.3.1 Susceptibilidad genética.....	25
5.3.2 Factor de riesgo.....	25
6. BIOMARCADORES ESPECÌFICOS DE ENFERMEMEDAD PERIODONTAL ENCONTRADOS EN SALIVA.....	30
6.1 Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ).....	30
6.2 (MMP-8) Metaloproteinasa de matriz.....	32
6.3 OPG osteoprotegerina.....	34
7. CONCLUSIONES.....	36
8. FUENTES DE INFORMACIÓN.....	37

# 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal es una enfermedad multifactorial, que afecta los tejidos de soporte del diente, la presencia de bacterias provoca la inflamación y el desarrollo de la enfermedad sin embargo la respuesta del huésped a la infección es diferente en cada individuo y por ello se necesitan desarrollar nuevos tests de diagnóstico que puedan detectar la presencia de la enfermedad activa, predecir la progresión de la enfermedad en el futuro y evaluar la respuesta al tratamiento periodontal, optimizando el manejo clínico de los pacientes con esta enfermedad.

El diagnóstico de las fases activas de la enfermedad periodontal y la identificación de los pacientes en riesgo de padecer una enfermedad activa representa un reto para el clínico. Actualmente existen avances en el uso de biomarcadores basados en el diagnóstico de la enfermedad periodontal activa, encontrados en la biopelícula, fluido crevicular y saliva, a través de ellos se puede cuantificar el riesgo genético que determine la susceptibilidad a la enfermedad periodontal.

Los biomarcadores pueden ser llamados marcadores genéticos o marcadores biológicos; un biomarcador es cualquier gen o secuencia de nucleótidos ubicados en un sitio o región específica de un cromosoma, puede ser una medida objetiva y evaluadora tanto de indicadores de procesos biológicos normales o patológicos que reflejan la actividad de un proceso de la enfermedad; los marcadores se usan para el mapeo genético como el primer paso para encontrar la posición e identidad de un gen, al encontrar ésta identidad, podemos saber la susceptibilidad del individuo, su genotipo y su fenotipo, acontecimiento de importancia en el estudio del genoma humano y actualmente para la tecnología genética proteómica en la saliva ya que pueden ser la base para determinar diferentes enfermedades a través de un mapeo genético llamado proteoma salival, él cuál consiste en identificar proteínas salivales que

contienen biomarcadores específicos para determinar ciertas enfermedades, como diferentes tipos de cáncer, caries dental, detección del VIH y muy recientemente biomarcadores específicos de la enfermedad periodontal, como son la interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), osteoprotegerina (OPG) y metaloproteinasa de matriz (MMP)

Esto sugiere que el clínico puede optimizar su detección precoz en sus fases activas, la identificación de pacientes que tienen mayor riesgo a la actividad de la enfermedad.

Un test de diagnóstico en saliva, puede proporcionarnos una evaluación fidedigna de la enfermedad periodontal e identificar a los pacientes que están en riesgo de una enfermedad activa.

Sin embargo, no significa que se deban omitir todos los pasos a seguir para el diagnóstico tradicional, sino que sirva como un método de apoyo clínico para identificar la enfermedad activa.

## 2. PROPÓSITO

- El propósito de este trabajo es conocer la importancia del potencial que tienen los biomarcadores de la saliva como medio de diagnóstico específico para la enfermedad periodontal y poder proporcionar una herramienta eficaz al periodoncista para el diagnóstico precoz de ésta enfermedad en su fase activa a través de un test de diagnóstico salival.

## 3. OBJETIVO

- Informar al clínico sobre los biomarcadores específicos de la enfermedad periodontal encontrados en la saliva, su acción y su importancia para el diagnóstico precoz.



## 4. GLÁNDULAS SALIVALES

Las glándulas salivales son órganos destinados a la producción y secreción de la saliva, la cuál secretan al exterior del organismo. La saliva, humedece y protege la mucosa bucal, ejerce acciones anticariogénicas e inmunológicas, además de participar en la digestión de los alimentos y en la fonación.<sup>1-3</sup>

Las glándulas se clasifican, de acuerdo a su tamaño e importancia funcional, en glándulas salivales *mayores* y *menores*,<sup>1</sup> (Figura 1).<sup>4</sup>

El control fisiológico fundamental de las secreciones salivales se realiza a través del sistema nervioso simpático y parasimpático provocando la excitación de la glándula. Los efectos parasimpáticos son más duraderos e intensos que los simpáticos ya que la interrupción de los nervios simpáticos no produce alteraciones importantes en el funcionamiento de las glándulas salivales, sin embargo, si falta la inervación del parasimpático las glándulas se atrofian.

Las glándulas salivales en actividad secretora tienen un índice metabólico y un flujo sanguíneo elevado. Producen un enorme flujo de saliva; la velocidad máxima en el hombre está en torno a 1 ml/min/g, es decir que a esta velocidad las glándulas pueden producir su propio peso en saliva por minuto. La estimulación de las glándulas salivales por los nervios parasimpáticos aumenta el flujo sanguíneo debido a la dilatación de su vasculatura glandular y la estimulación simpática contrae los vasos sanguíneos, con la consiguiente reducción del flujo salival.<sup>3</sup>

La estimulación parasimpática eleva la síntesis y secreción de amilasa y mucina salival, el metabolismo glandular así como su crecimiento.<sup>3</sup>

## 4.1 Glándulas salivales mayores

Son las más voluminosas divididas en tres pares de glándulas localizadas fuera de la cavidad oral y desembocan en ella por medio de conductos principales. Se denominan respectivamente: parótidas, submaxilares y sublinguales, son glándulas *tuboalveolares*, ramificadas, cuya cápsula de tejido conectivo ofrece tabiques que las subdividen en *lóbulos* y *lobulillos*.<sup>1</sup>

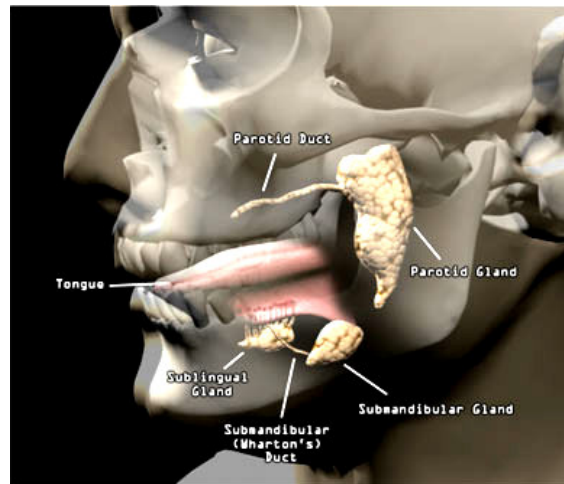


Figura 1. Se muestra la relación entre las tres glándulas mayores.<sup>4</sup>

## 4.2 Glándulas salivales menores

Las glándulas salivales menores, secundarias o accesorias se encuentran distribuidas en la mucosa y submucosa de los órganos del sistema bucal.<sup>4</sup>

Se designan de acuerdo a su ubicación como: labiales, genianas, palatinas y linguales. Son glándulas pequeñas y muy numerosas, se estima que el ser humano posee entre 450 y 800, todas localizadas muy próximas a la superficie interna de la boca a la que están conectadas por cortos conductos.<sup>4</sup>

### 4.3 Saliva

La saliva también llamado fluido bucal, es una secreción derivada de las glándulas salivales mayores y menores, es un líquido incoloro, insípido, inodoro, algo espumoso y acuoso,<sup>1-2</sup> en la cavidad oral se mezcla con otras sustancias que no son derivadas de las glándulas como las flemas expectoradas de los bronquios que se quedan en la faringe, líquido gingival crevicular, así como también todas las bacterias y hongos que se encuentran en la boca y sus subproductos derivados, células descamadas, electrolitos, gases, material orgánico, agua, proteínas, etc.<sup>5-3</sup> Su composición varía según el estímulo que inicia la secreción.<sup>6</sup> El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas.<sup>3</sup>

En el hombre, el volumen de saliva secretada en 24 horas varía entre 1000 y 1500 mililitros. Puede ser muy líquida o de consistencia viscosa.<sup>3</sup>

La cantidad de saliva secretada muestra un ritmo circadiano ya que varía en diferentes momentos del día, disminuyendo marcadamente en las horas de sueño. Durante la vigilia, en condiciones de reposo se produce un flujo salival escaso, suficiente para asegurar la protección de la mucosa bucal, pero la secreción de saliva aumenta rápidamente durante las comidas ya que la masticación (y el gustar de los alimentos) es el principal estímulo para la salivación.<sup>3</sup>

Se estima que las glándulas parótidas y submaxilares en condición de estimulación, producen en conjunto entre el 80 y el 90% del volumen de la saliva diaria total y las sublinguales un 5%. Las glándulas menores, responsables básicamente de la saliva en reposo, proveen entre el 5% y el 10% del volumen diario total.<sup>1</sup>

### 4.3.1 Componentes

Los componentes salivales se exponen en la siguiente tabla <sup>5</sup>.

<b>COMPONENTES SALIVALES</b>	
<b>Proteínas</b>	Albúmina, Amilasa, $\beta$ -Glucuronidasa, Carbohidrasas Cistatinas, Factor de crecimiento epidérmico, Esterasas, Fibronectina, Justina, Histatinas, IgA, G y M, Calicreina, Lactoferrina, Lipasa, Ácido láctico deshidrogenado, Lisozima, Mucinas (Glicoproteínas), Factor de crecimiento del nervio, Parótida agreginas, Peptidasas, Fosfatasas, Proteínas ricas en prolina, Ribonucleasas, Peroxidasas salivales, Componentes secretorios, Secreciones de la IgA, Proteínas séricas, Proteínas ricas en tirosina, Proteínas ligadas a la vitamina, Factor de crecimiento vaso- endotelial
<b>Pequeñas Moléculas Inorgánicas</b>	Aminoácidos, Creatinina, Glucosa, Lípidos, Nitrógeno, Ácido sialico, Urea, Ácido úrico
<b>Electrolitos</b>	Amonio, Bicarbonato, Calcio, Cloro, Fluor, Yodo, Magnesio, Buffers no específicos, Fosfatasas, Potasio, Sodio, Sulfatos, Tiocianato

Figura 2. Se muestran los componentes de la saliva. <sup>5</sup>

La saliva es una solución de proteínas, glucoproteínas, hidratos de carbono, electrolitos, células descamadas epiteliales y leucocitos.<sup>2</sup>

La cuantificación de la saliva producida se denomina sialometría. Se realiza determinando el flujo salival, es decir, la cantidad de saliva secretada por unidad de tiempo. Los valores normales de flujo salival en reposo (saliva no estimulada) son de 0.3 a 0.5 ml/min. Para producir y recolectar saliva estimulada, se aplican gotas de una solución de ácido cítrico o similar en el dorso de la lengua (estimulación gustativa de los corpúsculos) o se hace masticar un trozo de parafina u otro material inerte

(estimulación mecánica). Los valores normales de saliva estimulada son de 1 a 3 ml/min.<sup>1</sup>

Cuando el flujo salival en reposo es inferior a 0.1 - 0.2 ml/min, o el estimulado menor que 0.5 - 0.7 ml/min, se considera que existe una disminución patológica de secreción salival (sialopenia o hiposialia).<sup>3</sup>

Al variar el flujo salival también se producen cambios en su composición presentándose mayor cantidad de Na<sup>+</sup> (sodio) y Cl<sup>-</sup> (cloro), bicarbonatos y proteínas así como menores cantidades de urea, fosfatos y Mg (magnesio). Si la ingesta de carbohidratos es muy prolongada llegará un momento en que tanto éste como los demás componentes orgánicos se encontraran disminuidos por el progresivo agotamiento de los contenidos celulares.<sup>1</sup>

#### **4.3.2 Funciones básicas de la saliva**

Las funciones principales de la saliva se relacionan por una parte, con las actividades iniciales de la digestión ya que la saliva es necesaria para el procesamiento del alimento en la boca, su paso hacia la faringe y esófago. Por otra parte la saliva está comprometida en la protección de la cavidad bucal, debido a sus interacciones con la mucosa bucal, la superficie de los dientes y la flora bacteriana.<sup>3</sup>

Se considera que éstas actividades corresponden a una “división de tareas” entre las glándulas salivales. En efecto, las grandes cantidades de saliva que participan en el procesamiento de los alimentos provienen de las glándulas salivales mayores y son secretadas como respuesta a los estímulos sensoriales relacionados básicamente con la alimentación. Por el contrario las funciones protectoras están desempeñadas principalmente por el pequeño flujo permanente que corresponde a la secreción salival basal, aportada en gran medida por las glándulas salivales menores, tanto en horas de vigilia como durante el sueño.<sup>3,6</sup>

Las funciones básicas de la saliva son:

- Preparación del bolo alimenticio: el alto contenido acuoso de las secreciones parotídeas humedece los alimentos, a la vez que las mucinas sintetizadas por las glándulas submaxilares, sublinguales y menores o accesorias, los recubren, facilitando la masticación, la formación del bolo alimenticio y su deglución.<sup>1</sup>
- Funciones digestivas: la enzima más abundante en la saliva mixta es la amilasa salival producida por las glándulas parótidas y submandibulares. Ésta enzima es importante ya que desdobla el almidón y lo transforma en hidratos de carbono solubles. Su tiempo de acción es relativamente breve, dado que los alimentos son rápidamente deglutidos y en el estómago el pH ácido detiene la acción de la amilasa. Su principal acción en la boca es la degradación de los restos alimenticios ricos en almidón que puedan quedar alrededor de los dientes contribuyendo a la limpieza; sin embargo, si no hay una buena higiene bucal, los subproductos de la degradación que son glucosa y maltosa se acumulan en los sitios retentivos favoreciendo la acción bacteriana.<sup>1</sup>
- Propiedades lubricantes y de mantenimiento de la integridad de la mucosa bucal: las mucinas salivales son glicoproteínas con numerosas cadenas laterales de polisacáridos complejos y por lo tanto se encuentran muy hidratados, poseen baja solubilidad, alta viscosidad, elasticidad y adhesividad. Esto permite que se adhiera a la mucosa proveyendo una barrera efectiva contra la desecación y las agresiones producidas por agentes irritantes, como alimentos duros o calientes.<sup>1</sup>

- Forma una película salival que facilita los movimientos linguales, la fonación y limita la permeabilidad de la mucosa bucal por que disminuye la penetración de una variedad de sustancias o toxinas, así como agentes considerados carcinogénicos como el humo del tabaco; también ejerce una función de equilibrio cuando se ingieren alimentos muy fríos o muy calientes y rápidamente aumenta el flujo salival para moderar estas temperaturas.<sup>1</sup>
- La saliva tiene la capacidad de disminuir el tiempo de hemorragia de los tejidos bucales por la presencia de lisozima y Ca (calcio) que activan la coagulación. Por otro lado facilita a la rápida cicatrización debido a los factores de crecimiento nervioso y epidérmico que contiene y por esta causa las cirugías orales cicatrizan en aproximadamente en 15 días.<sup>1</sup>

El pH óptimo de la amilasa salival es de 7, pero es activa a un pH entre 4 y 11. Su acción prosigue sobre la masa del alimento en el estómago y sólo finaliza cuando su contenido se mezcla con suficiente cantidad de ácido gástrico como para hacer descender el pH por debajo de 4. Más de la mitad del almidón de un alimento bien masticado puede ser reducido a pequeños oligosacáridos por la acción de la amilasa salival. Sin embargo gracias a la efectividad de la amilasa pancreática para digerir el almidón en el intestino delgado, esta sustancia se absorbe bien en ausencia de la amilasa salival.<sup>1</sup>

La saliva en sí posee un pH entre 6.8 y 7.2, que es el óptimo para que deje actuar a la amilasa salival.<sup>6</sup>

El pH de la saliva con las glándulas en reposo es ligeramente ácido. Durante la secreción activa, la saliva se vuelve básica, con un pH cercano a 8.<sup>1</sup>

En el siguiente esquema se muestra como actúan las proteínas de la saliva:

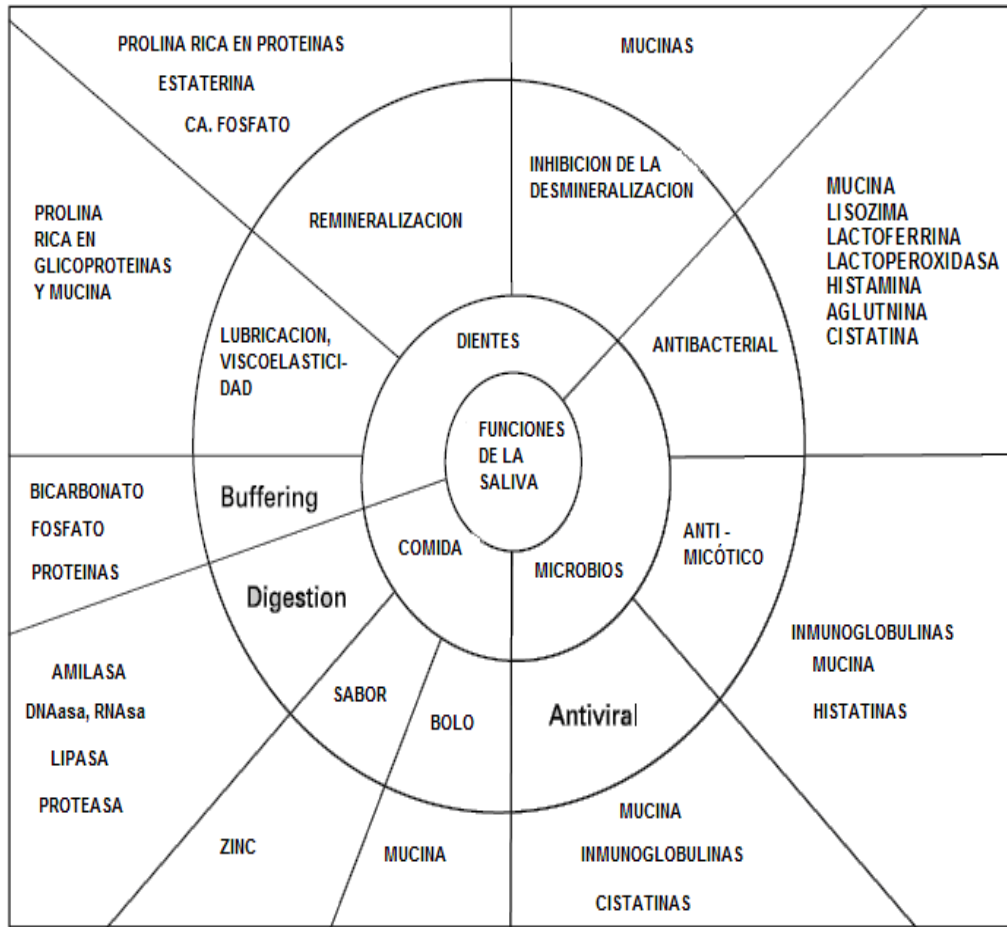


Figura 3. Principales funciones de la saliva en relación a sus constituyentes. <sup>7</sup>



## 5. BIOMARCADORES

El término "*marcador genético*" se refiere a cualquier gen o secuencia de nucleótidos que pueda ser localizado en una zona o región específica de un cromosoma, también es llamado biomarcador o marcador biológico y se usa para el mapeo genético como el primer paso para encontrar la posición e identidad de un gen, al encontrar ésta identidad, podemos saber la susceptibilidad del individuo, su genotipo y su fenotipo.<sup>8</sup>

También es definido como una molécula biológica que se encuentra en la sangre, otros líquidos o tejidos corporales y que es signo de indicadores de procesos biológicos tanto normales como patológicos reflejando la actividad de un proceso de la enfermedad y puede usarse para determinar la respuesta del cuerpo a un tratamiento de una enfermedad .<sup>9</sup>

Los marcadores genéticos se utilizan como el primer paso para tratar de identificar un gen que es la ubicación más aproximada de él.<sup>10</sup>

### 5.1 Biomarcadores salivales

Desde hace 40 años el fluido salival es considerado como un elemento auxiliar importante en el diagnóstico y el tratamiento preventivo de las enfermedades de la cavidad oral, enfermedades sistémicas, tumorales, endocrinas, etc., ya que se han detectado en su composición, mediante los tests genéticos, *moléculas orgánicas de naturaleza proteica* principalmente antígenos específicos, fracciones proteicas, proteínas conjugadas, receptores celulares, glucoproteínas, citocinas (interleucinas y derivadas), quimiocinas (subfamilia de las citocinas implicadas en el sistema inmune proinflamatorio), etc., llamados biomarcadores salivales.<sup>11</sup>

La investigación ha evidenciado elementos metabólicos en el huésped que están implicados en los procesos asociados con la actividad de la enfermedad periodontal en la saliva. <sup>11</sup>

La abundancia de información contenida en la saliva sería una alternativa al análisis de sangre para los tests genéticos del ADN, que en el futuro podrían identificar a individuos que tienen mayores riesgos de infecciones y enfermedades autoinmunes, como la enfermedad periodontal, cáncer, etc. <sup>11</sup>

Se han encontrado cerca de 1600 proteínas de la saliva que son biomarcadores genéticos para diferentes tipos de enfermedad y de los cuáles sólo hablaremos de los que causan enfermedad periodontal.

Una de las universidades pioneras en descubrir estas proteínas fué la UCLA (University of California, Los Angeles) llamando al proyecto “proteoma salival”.

La posibilidad de trasladar los conocimientos de las secuencias genómicas a la información clínica es una realidad gracias a la tecnología analítica que nos permite conocer los procesos de expresión génica. <sup>12</sup>

Para ello se dispone de los denominados ADN chips (ADN arrays) con los cuales se puede llevar a cabo tres tipos de análisis moleculares:

a) La expresión génica de células o tejidos determinados, que al hacerlo en condiciones seleccionadas nos permitirá conocer la respuesta transcripcional celular a estímulos fisiológicos específicos o patogénicos.

<sup>12</sup>

b) La investigación de la existencia de un polimorfismo genético de un simple nucleótido.

c) Proporcionar la secuencia del ADN para el estudio de mutaciones predeterminadas en un gen, base del conocimiento de anomalías genéticas.<sup>12</sup>

PROTEOMA: Se llama así a la totalidad de las proteínas codificadas por el genoma humano expresadas en una célula; proteómica es la ciencia que estudia al proteoma.<sup>13</sup>

PROTEOMA SALIVAL: Son las proteínas codificadas por el genoma humano encontradas en la saliva.<sup>13</sup>

## 5.2 Definición de Proteína

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos. El nombre proteína proviene de la palabra griega *πρώτα* ("protá"), que significa "lo primero" o del Dios *Proteo*, por la cantidad de formas que pueden tomar.

Realizan una enorme cantidad de funciones diferentes, entre las que destacan la enzimática, hormonal, transportadora (hemoglobina), defensiva (anticuerpos), estructural (colágeno), etc. *Las proteínas de todo ser vivo están determinadas genéticamente, es decir, la información genética (genes) determinan qué proteínas tendrá un individuo.*<sup>14</sup>

### 5.2.1 Características

Las proteínas son macromoléculas que están constituidas por gran número de unidades estructurales simples repetitivas (monómeros). Las unidades fundamentales constituyentes de la macromolécula son los aminoácidos, de los cuales existen veinte especies diferentes y que se unen entre sí mediante enlaces peptídicos. Cientos y miles de estos aminoácidos pueden participar en la formación de la gran molécula polimérica de una proteína.<sup>14</sup>

Todas las proteínas contienen C, H, O<sub>2</sub>, N (carbono , hidrógeno, oxígeno y nitrógeno) y casi todas poseen también S (azufre).

Las proteínas son largas cadenas de aminoácidos unidas por enlaces peptídicos entre el grupo carboxyl (-COOH) y los grupos amino (NH<sub>2</sub>) de residuos de aminoácido adyacentes. La secuencia de aminoácidos en una proteína es definida por un gen y codificada en el código genético<sup>12</sup> por lo que se pueden considerar biomarcadores.<sup>14</sup>

Las proteínas también pueden trabajar en conjunto para alcanzar una función particular, y a menudo se asocian para formar complejos estables.<sup>14</sup>

### **5.2.2 Funciones**

Las proteínas ocupan un lugar de máxima importancia entre las moléculas constituyentes de los seres vivos (biomoléculas). Prácticamente todos los procesos biológicos dependen de la presencia y/o actividad de este tipo de sustancias. Bastan algunos ejemplos para dar idea de la variedad y trascendencia de funciones asignadas a ellas. Son proteínas casi todas las enzimas, catalizadores de reacciones químicas en organismos vivientes, muchas hormonas, reguladores de actividades celulares, la hemoglobina y otras moléculas con funciones de transporte en la sangre, los anticuerpos, encargados de acciones de defensa natural contra infecciones o agentes extraños, los receptores de las células, a los cuales se fijan moléculas capaces de desencadenar una respuesta determinada, la actina y la miosina, responsables finales del acortamiento del músculo durante la contracción, el colágeno integrante de fibras altamente resistentes en tejidos de sostén como el ligamento periodontal, etc.<sup>14</sup>

### **5.2.3 Glicoproteína**

Las glicoproteínas o glucoproteínas son moléculas compuestas por una proteína unida a uno o varios hidratos de carbono simples o compuestos. Tienen entre otras funciones el reconocimiento celular cuando están presentes en la superficie de la membrana plasmática. También se encuentran en la saliva en forma de mucina o amilasa.<sup>14</sup>

### **5.2.4 Citocinas**

Las citocinas son proteínas solubles de peso molecular reducido, están genéticamente relacionadas entre sí, son secretadas por una misma célula y regulan la intensidad y duración de la respuesta inmunitaria e inflamatoria a través de su efecto en la misma o en alguna otra célula distante (célula blanco).

Existen gran variedad de células que las secretan y no son exclusivas del sistema inmunitario, originalmente las llamaron linfocinas y monocinas debido a que eran derivadas los linfocitos y monocitos, así también las llamaron interleucinas (IL) o interferones (IFN) debido a los leucocitos, pueden ser elaboradas por gran diversidad de tipos celulares por lo cuál no se pueden clasificar de acuerdo a la célula y por lo tanto fueron englobadas en una sola clasificación llamándolas “citocinas”.<sup>15</sup>

Las citocinas se dividen en familias equivalentes de acuerdo a su estructura, específicamente: hematopoyetinas, interferones, quimiocinas y factores de necrosis tumoral (TNF).<sup>15</sup>

Las citocinas se producen durante las fases de activación y efectora de la inmunidad innata así como de la adquirida; una vez formadas, se secretan rápidamente para llevar acabo su función, iniciar la respuesta inflamatoria, definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmunitaria específica.<sup>15</sup>

Ésta secreción es un suceso breve y autolimitado ya que no se almacenan como moléculas preformadas, su síntesis se inicia con la transcripción de genes nuevos.<sup>15</sup>

Las citocinas inician sus efectos mediante el enlace a receptores específicos presentes en la superficie de las células blanco, las cuáles pueden ser:

- a) Autocrino: secreción que ejerce la misma célula que la liberó.
- b) Paracrino: secreción de una célula proxima.
- c) Endocrino: secreción de células distantes

Los receptores muestran a menudo una gran afinidad por su ligando (una molécula capaz de ser reconocida por otra provocando una respuesta biológica), actúan como anticuerpos.<sup>15</sup>

Los receptores son muy diversos pero casi todos pertenecen a una de las cinco familias:

- Receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas
- Familia de receptores de citocinas clase I (eritropoyetina)
- Familia de receptor de citocina clase II (interferon)
- Familia del receptor TNF (Factor de Necrosis Tumoral)
- Familia del receptor de quimiocinas.

La superfamilia de las inmunoglobulinas incluye el receptor de la IL-1, que actúa a nivel de saliva a través de la Ig G, M y A.<sup>17</sup>

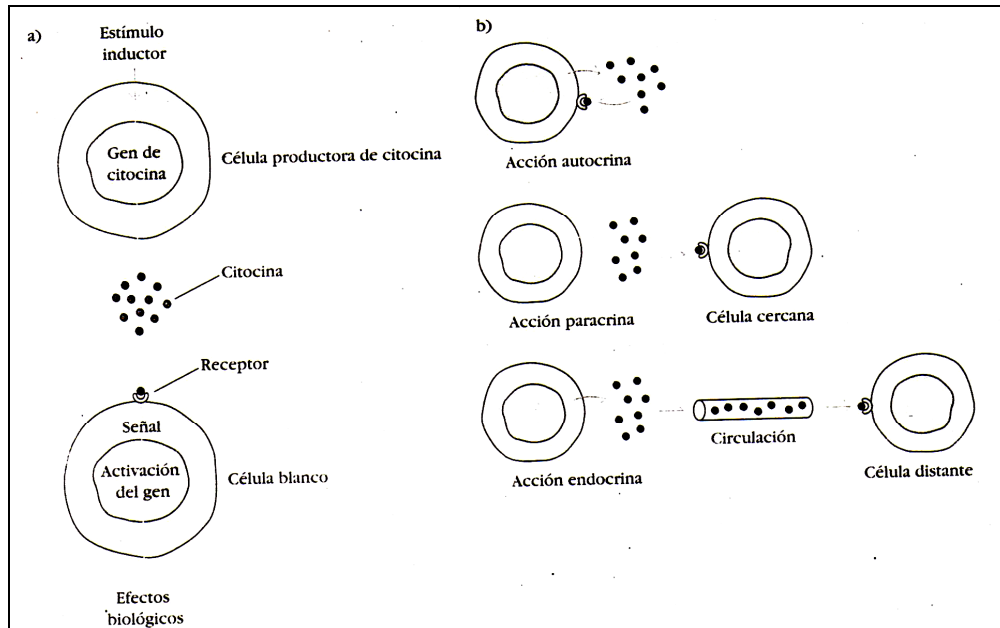


Figura7. A) Generalidades de la inducción y función de citocinas. B) Casi todas las citocinas muestran una acción, autocrina, paracrina o ambas; exhiben en menor proporción acción endocrina.<sup>17</sup>

Las inmunoglobulinas son anticuerpos formados por glucoproteínas que se encuentran en el suero y líquidos corporales como la saliva, pertenecen a las globulinas gamma; son formadas por un linfocito B maduro y existen diferentes clases.<sup>17</sup>

La función esencial de las inmunoglobulinas es la de unirse al antígeno. De esta manera las inmunoglobulinas actúan como receptoras de señales antigénicas o bien pueden colaborar en la destrucción antigénica. La primera función se presenta cuando las inmunoglobulinas se encuentran insertas en la membrana de los linfocitos B (inmunoglobulinas de membrana), y para la segunda requieren la colaboración del complemento, macrófagos, neutrófilos, que tienen la propiedad de unir las inmunoglobulinas.<sup>17</sup>

### 5.3 Definición de ADN

Es el material genético de casi todos los organismos vivos que controla la herencia y se localiza en el núcleo de las células. Es un ácido nucleico o aminoácido compuesto de dos tiras llamadas nucleótidos. Con un armazón hecho de azúcares y grupos de fosfato unidos alternativamente entre sí mediante enlaces de tipo éster. Conectado a cada azúcar se encuentran cada uno de los cuatro tipos de moléculas llamadas bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina, timina). Las dos tiras del armazón se disponen en espiral formando una doble hélice y unidas entre sí por enlaces de hidrógeno entre las bases de nucleótidos. La información genética está contenida en secuencia a lo largo de la molécula; la cual puede hacer copias exactas de sí misma por un proceso denominado replicación, pasando de este modo la información genética a las células hijas, cuando las células se dividen.<sup>18</sup>

La disposición secuencial de estas cuatro bases a lo largo de la cadena es la que codifica la información. Esta información es leída usando el código genético que especifica la secuencia de los aminoácidos de las proteínas. El código es interpretado copiando los tramos de ADN en un ácido nucleico relacionado y el ácido ribonucleico (ARN) en un proceso llamado transcripción.<sup>19</sup>

Dentro de las células, el ADN está organizado en estructuras llamadas cromosomas. Estos cromosomas se duplican antes de que las células se dividan, en un proceso llamado replicación de ADN. Los organismos eucarióticos (animales, plantas y hongos) almacenan la inmensa mayoría de su ADN dentro del núcleo celular y una mínima parte en los organelos celulares como mitocondrias y cloroplastos en caso de tenerlos; mientras que en los procarióticos (las bacterias y archaeas) se encuentra en el citoplasma de la célula.<sup>20</sup>



Aunque cada unidad individual (base nitrogenada) que se repite es muy pequeña, los polímeros de ADN pueden ser moléculas enormes que contienen millones de nucleótidos. Por ejemplo, el cromosoma humano más largo es el número 1, tiene aproximadamente 220 millones de pares de bases nitrogenadas.<sup>21</sup>

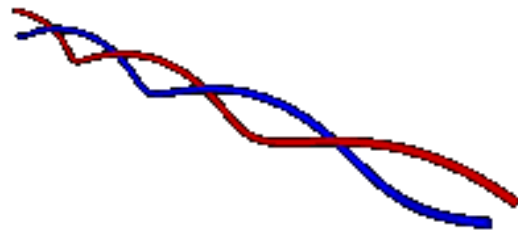


Figura 4. La línea azul es una hélice, y la roja es otra, formando juntas una doble hélice.<sup>22</sup>

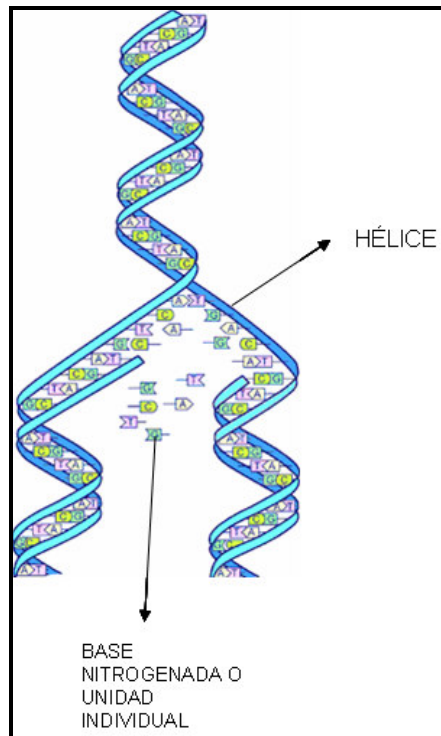


Figura 5. Imagen de una cadena de ADN mostrando la doble hélice replicándose.<sup>22</sup>

### 5.3.1 Susceptibilidad genética

En 1930 se concluyó que la susceptibilidad e inmunidad a la caries y la enfermedad periodontal eran probablemente heredables.<sup>25</sup> Actualmente, se piensa que la actividad de la enfermedad periodontal depende de la presencia de un número crítico de patógenos en un huésped susceptible<sup>22</sup> ya que el número y/o tipos de bacterias requeridos para superar el umbral individual de la enfermedad definen la susceptibilidad individual.

Esta susceptibilidad puede estar influenciada por un gran número de determinantes genéticos y no genéticos.<sup>26</sup>

Los genes que intervienen en las enfermedades multifactoriales complejas se denominan a menudo genes de susceptibilidad (o alelos de susceptibilidad). En estas enfermedades como la periodontal, los individuos que heredan el alelo de susceptibilidad no manifiestan la enfermedad a menos que se expongan a los factores ambientales nocivos que desarrollan la enfermedad, en este caso, por ejemplo, fumar, mala higiene dental, etc.<sup>8</sup>

### 5.3.2 Factor de riesgo

El término "*factor de riesgo*" para la periodontitis hace referencia a un factor (biológico, medioambiental o conductual) confirmado por una secuencia temporal. Normalmente, la presencia de un factor de riesgo incrementa de forma directa la probabilidad de que la enfermedad ocurra o suceda y la ausencia del factor de riesgo reduce esta posibilidad.<sup>25</sup>

El riesgo de una enfermedad es una proporción que indica la probabilidad de que ocurra un determinado suceso en un periodo de tiempo o edad determinados.<sup>26</sup>

El término riesgo lleva implícito la presencia de uno o más factores que incrementan dicha probabilidad.<sup>26</sup>

Las enfermedades cuya etiología incluye tanto factores genéticos como ambientales se denominan enfermedades multifactoriales (como es el caso de la enfermedad periodontal).<sup>26</sup>

Las variaciones genéticas y diferentes exposiciones ambientales son la llave de los determinantes de las diferencias fenotípicas entre individuos. Las localizaciones específicas de los genes en los cromosomas se denominan **loci** (locus en singular), y las variaciones en la secuencia de nucleótidos de un locus se denominan **alelos**. Para un locus dado, un individuo se considera "homocigoto" si los alelos son idénticos en los cromosomas homólogos y "heterocigoto" si los alelos son diferentes.<sup>25</sup>

Algunos alelos están asociados a cambios profundos en el fenotipo mientras otros no tienen relevancia.<sup>26</sup>

Un polimorfismo genético es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población.<sup>8</sup>

Algunos polimorfismos que ocurren no parecen cambiar el producto proteínico de los genes, sin embargo otros polimorfismos tienen un efecto relevante en la proteína codificada por el gen. Como contribuyen estos cambios al fenotipo de una enfermedad depende de las consecuencias específicas de la variación genética o del tipo de enfermedad. Ciertas exposiciones ambientales pueden ser determinantes importantes de cómo un alelo específico contribuye al riesgo de la enfermedad.<sup>27</sup> Desde el punto de vista epidemiológico genético es posible usar cualquier marcador que sea lo suficientemente polimórfico o variable en la población para rastrear o localizar el alelo de la enfermedad.<sup>8</sup>

La etiología multifactorial de la enfermedad periodontal establece que ésta es producida por una interacción de un agente microbiano único o múltiple considerado como el factor etiológico primario necesario pero no suficiente, un huésped más o menos susceptible y varios factores ambientales que influyen sobre ambos.<sup>27</sup>

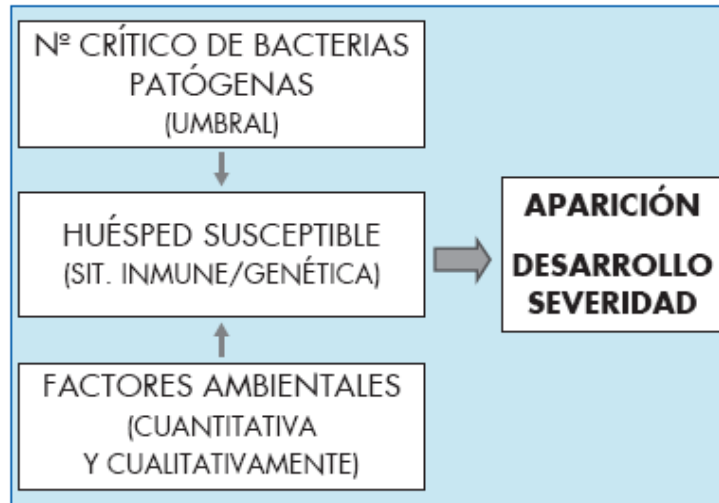


Figura 6. Se muestra la interacción entre susceptibilidad, factores ambientales y microorganismos.<sup>28</sup>

La periodontitis crónica es la variante más frecuente de periodontitis, existiendo una serie de factores que van a desencadenar la aparición de la enfermedad; la presencia de bacterias es fundamental para que se desarrolle la enfermedad. Sin la presencia de éstas no hay patología, sin embargo, se hacen necesarios la existencia de otros factores que favorezcan el inicio y progresión como la respuesta inmunológica del paciente, el tabaco o algunas enfermedades sistémicas. Hay pacientes que a pesar de tener un control de placa aceptable y no fumar presentan una periodontitis crónica más grave que pacientes con un control de placa peor y que fuman. Esta circunstancia plantea el papel subyacente que tiene la susceptibilidad genética en esta forma de periodontitis.<sup>29</sup>

Uno de los primeros trabajos que demostraron la asociación de un determinado gen con la severidad de la periodontitis crónica fue el realizado por Kornman et al.<sup>29</sup> El trabajo se realizó con pacientes caucásicos fumadores y no fumadores, dónde se observó una asociación específica entre la severidad de la periodontitis y la presencia de un genotipo específico de la interleucina-1 (IL-1). Funcionalmente, este genotipo específico comprende una variante en el gen de la IL-1B asociado con una elevada producción de IL-1. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios con poblaciones geográficamente similares <sup>29</sup> Estudios posteriores han investigado la prevalencia de la enfermedad en un grupo de pacientes categorizados en 9 regiones geográficas. Observaron que el 78% de los pacientes entre 40 y 60 años del grupo de periodontitis crónica severa eran IL-1 positivos (contenían el biomarcador) frente al 26% del grupo periodontitis crónica moderada y 16% del grupo sin periodontitis en la muestra. Además se constató una asociación significativa entre el consumo de tabaco y el genotipo de la IL-1 con la severidad de la periodontitis en función de la población de estudio desde un punto de vista étnico. Al analizar los resultados sólo en los pacientes de origen norte-europeo (82% de la muestra), se encontró un riesgo de sufrir periodontitis crónica moderada-severa de 5.27% si el paciente era IL-1+ (positivo), si además estos pacientes eran fumadores, el riesgo se incrementaba en 1.09%. Estos resultados revelan la importancia del análisis de los datos en función de un mismo origen geográfico/étnico. También muestran la fuerte asociación entre la susceptibilidad genética y un factor ambiental como el tabaco en la severidad de la periodontitis crónica.<sup>30</sup>

En la periodontitis agresiva el interés se basa en la hipótesis de que a diferencia de la periodontitis crónica, las formas más agresivas de periodontitis en pacientes jóvenes se deben en menor grado a la acción, con el transcurso del tiempo, de factores ambientales como la placa bacteriana o el tabaco. Además los pacientes con periodontitis agresiva

representan probablemente una población más semejante que los pacientes con periodontitis crónica.<sup>26</sup>

Dentro de esta categoría, la respuesta inmune ante la agresión bacteriana, fundamentalmente el componente fagocítico, cobra un papel especialmente importante. En la periodontitis agresiva generalizada se han constatado entre otras deficiencias leucocitarias, una disminución en la capacidad de adhesión de los leucocitos<sup>31</sup> que cursan con un reclutamiento anormal de neutrófilos y una respuesta inmune inadecuada.<sup>26</sup>

En el caso de los pacientes con periodontitis resistentes a un tratamiento periodontal adecuado, la susceptibilidad genética parece tener un papel importante.<sup>26</sup>

Este grupo de pacientes con este patrón clínico de periodontitis, es el resultado de diferentes influencias que incluyen factores genéticos y exógenos alterando la respuesta del huésped ante la agresión bacteriana. Algunos de estos factores son: el tabaco, diabetes, stress o aspectos microbiológicos.<sup>26</sup>

## **6. BIOMARCADORES ESPECÍFICOS DE ENFERMEDAD PERIODONTAL ENCONTRADOS EN SALIVA**

La periododitis se define como “una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos o grupos de microorganismos específicos que producen la respuesta inmunitaria del huésped causando la destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar, con formación de bolsas periodontales, recesión gingival o ambas”.<sup>8</sup>

Se han detectado una serie de mediadores de la inflamación y moléculas que destruyen éstos tejidos en pacientes que presentan la enfermedad periodontal en las siguientes muestras: tejido gingival, LCG (líquido crevicular gingival) y saliva. Por lo tanto, la saliva contiene biomarcadores específicos de los aspectos fisiológicos únicos de la enfermedad periodontal, hay estudios que comprueban la hipótesis de que los niveles de marcadores específicos de tres aspectos de la periodontitis (la inflamación, la degradación del colágeno y recambio óseo)<sup>32</sup> se correlacionan con las características clínicas de la enfermedad, entre ellos se encuentran ciertas interleucinas, hasta el momento la más estudiada encontrada en saliva ha sido la interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), ya que forma parte de la respuesta inmune inflamatoria en primera línea de defensa contra las bacterias y sus receptores están mediados por la inmunoglobulina Ig G que forma parte de la saliva.<sup>16</sup> La metaloroteinasa de matriz 8 (MMP-8) es la encargada de la degradación de la matriz de colágena en el periodonto y también se encontró en varios estudios como biomarcador salival y por último se encontró a la osteoprotegerina (OPG) causando resorción ósea que indica una mayor severidad en el proceso de la enfermedad periodontal.

## 6.1 Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ )

La interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), es una citocina proinflamatoria que estimula la inducción de moléculas de adhesión y otros mediadores que facilitan y amplifican la respuesta inflamatoria que se produce en la enfermedad periodontal.<sup>16</sup>

Se denominan interleucinas o interleuquinas a un conjunto de proteínas que son sintetizadas y expresadas por los leucocitos (de ahí *-leukin*), específicamente los linfocitos TCD4 y por los histiocitos, que tienen como función la intercomunicación (de servir como *mensajeros*) entre las distintas subpoblaciones leucocitarias participando en la respuesta del sistema inmunitario.<sup>16</sup>

Proviene de las citocinas, que son el principal medio de comunicación intracelular ante una invasión microbiana. Se conocen en la actualidad no menos de 33 interleucinas, las cuales difieren entre sí tanto desde el punto de vista químico como del biológico. Mientras algunas de ellas [IL-4, IL-10, IL-11] presentan esencialmente efectos favorables, otras [IL-1, IL-6, IL-8], paralelamente a su función defensiva, pueden también ser dañinas para el organismo.<sup>16,17</sup>

La IL-1 es producida por macrófagos, y células epiteliales, induce reacción de fase aguda, la activación y reconocimiento por parte de linfocitos T y macrófagos del lugar donde se desarrolla la respuesta inmune. La IL-1 existe en dos formas: alfa, beta y un antagonista llamado IL-1 ra que bloquea la actividad de la primera uniéndose a los receptores de la IL-1.<sup>17</sup>

En los seres humanos la IL-1, IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  y la IL-1 ra se encuentran agrupados en el brazo largo del cromosoma 2 en secciones aproximadas. Se han definido varios polimorfismos en esta región y una de ellas se debe a la sustitución de un par de bases de nucleótidos en una región



codificadora, se relaciona con un aumento cuádruple en la producción de la IL-1  $\beta$ . Debido a la magnitud de la respuesta, se puede correlacionar con los niveles de destrucción del tejido e influir en la susceptibilidad a la periodontitis. La probabilidad de que un alelo marcador no enlazado al desequilibrio se transmita, es del 50%, por lo tanto se considera de “alto riesgo” y se encuentra mayormente en afroamericanos que en caucásicos.<sup>8</sup> Este biomarcador estimula la resorción ósea, inhibe la síntesis de colágena y regula positivamente la actividad de la metaloproteinasa de la matriz y síntesis de prostaglandinas, produciendo inflamación en el sitio donde se encuentra.<sup>16, 17</sup>

## **6.2 (MMP-8) Metaloproteinasa de matriz**

Las metaloproteinasas de matriz son también llamadas matrixinas, constituyen una familia dependiente de Zinc y calcio endopeptidasas que funcionan en la degradación de la matriz extracelular del tejido conectivo. Desarrollan un papel importante en los procesos fisiológicos normales tanto patológicos, por ejemplo: el desarrollo embrionario, morfogénesis, reproducción y remodelación de tejido, artritis, cáncer y enfermedad cardíaca.<sup>33</sup>

Mientras la cantidad de las metaloproteinasas nuevamente sintetizadas son reguladas a niveles de transcripción, sus actividades proteolíticas son controladas a través de la activación de proenzimas y la inhibición de enzimas activas por inhibidores endógenos, alfa-2macroglobulinas e inhibidores de la metaloproteinasa de tejido (TIMPs).<sup>33</sup>

La metaloproteinasa de matriz MMP-8 se encuentra intracelularmente como una proenzima en los granulocitos específicos de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs) que juegan un papel importante en la fagocitosis y también poseen una gran capacidad de infiltración hacia el tejido conectivo.<sup>33</sup>

Algunos agentes como la IL-1 y la IL-8, factor de necrosis tumoral (TNF), entre otros estimulan la liberación de la MMP-8 de los neutrofilos, una enzima llave iniciadora de la degradación de la matriz extracelular (ECM) especialmente en los procesos patológicos como la inflamación, la MMP-8 contiene una cisteína con una terminal N que la conserva en un estado latente, la activación de esta proenzima ocurre en el espacio extracelular después de la secreción, resultado de la eliminación de ésta terminal, en su estado activo es capaz de degradar los tipos I, II y III de colágeno, así como también proteínas naturales como la fibronectina y angiotensina.<sup>33,40</sup>

La MMP-8 metaloproteínasa de matriz, es una enzima clave en la degradación de la matriz colágena extracelular, derivada principalmente de los leucocitos polimorfonucleares en las fases agudas de la enfermedad periodontal.<sup>34</sup>

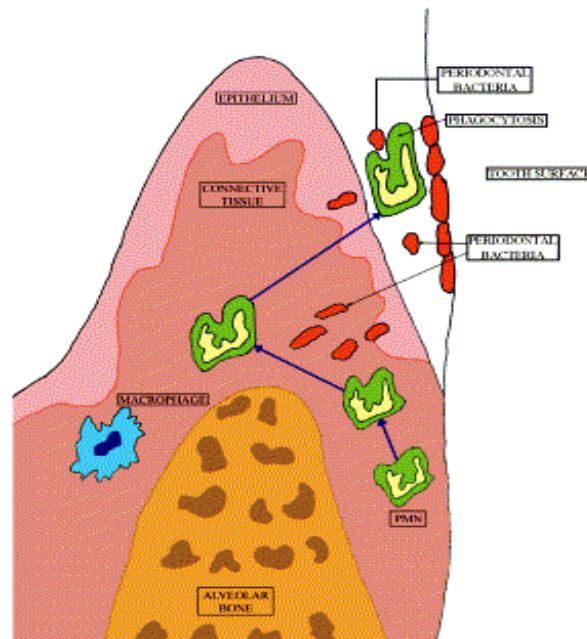


Figura7. Representa como actúa la respuesta del huésped, los macrófagos y PMNs contra las bacterias periodontales.<sup>35</sup>

### 6.3 OPG osteoprotegerina

La inflamación crónica es la causa más frecuente de la destrucción ósea en la enfermedad periodontal, desde la encía marginal hasta los tejidos periodontales de soporte. La invasión inflamatoria de la superficie ósea y la pérdida inicial que sigue marcan la transición de la gingivitis a la periodontitis.<sup>8</sup>

El RANK (Receptor Activador de Factor Nuclear Kappa B, Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B) es una proteína considerada como un receptor de osteoclastogenesis (destrucción inicial de hueso) en la superficie hematopoyética y en el metabolismo del calcio incrementando la producción de osteoclastos. El RANKL es el ligando del RANK y es producido por los osteoblastos y células del estroma del hueso, así como por linfocitos T activados, induce la osteoresorción por inducción del gen 10 captarina K.<sup>36, 38</sup>

Los osteoblastos producen otra proteína que se une al RANKL e interfiere con su unión en el RANK. Esta proteína inhibe la diferenciación de los progenitores en osteoblastos causando hipocalcemia; esta proteína es la osteoprotegerina (OPG) también llamada OCIF (Inhibidora del factor de osteoclastogenesis, OsteoClastogenesis Inhibiting Factor).<sup>36, 37</sup>

La OPG (osteoprotegerina) es una glicoproteína que actúa como receptor señuelo segregado por osteoblastos. De forma competitiva inhibe la diferenciación y la actividad de los osteoblastos. Impide que el factor de diferenciación de osteoclastos o del activador del ligando NF-κB (RANKL) se unan a los precursores de los osteoclastos y promueve la formación de osteoclastos con capacidad de reabsorción ósea.<sup>32, 37</sup>

La destrucción periodontal es episódica e intermitente, con lapsos de inactividad o reposo. Los periodos destructivos provocan la pérdida de sustancia colágena y hueso alveolar con profundización de la bolsa

periodontal. Los brotes de actividad destructiva coinciden con la conversión de una lesión, predominante de linfocitos T en otra lesión con preponderancia de células plasmáticas y linfocitos B por inflamación.<sup>38</sup>

Actualmente en el 2006, Craig S. y colaboradores realizaron un estudio para encontrar estos tres biomarcadores en la saliva mediante ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA) el cuál se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto (colorante) puede medir espectrofotométricamente las concentraciones elevadas de la IL-1 $\beta$  para la fase inflamatoria, MMP-8 para la fase de degradación de colágeno y OPG para la fase de resorción ósea y poder determinar el potencial de los biomarcadores de la enfermedad periodontal.<sup>32</sup>

Encontraron que los niveles elevados de MMP-8 y de IL-1  $\beta$  en saliva aumenta de forma significativa el riesgo de enfermedad periodontal.

La elevación combinada de los niveles de MMP-8 y de IL-1  $\beta$  aumenta el 45% de probabilidad de desarrollar enfermedad periodontal y la elevación de los tres biomarcadores se correlacionó con parámetros clínicos individuales indicativos de la enfermedad periodontal.<sup>32</sup>

## 7. CONCLUSIONES

La saliva es un medio útil y menos invasivo para detectar la probabilidad de un individuo a padecer enfermedad periodontal, por ser un líquido segregado en la boca contiene una mezcla de células que se encuentran en ella, además de su composición proteica que ayuda a ser una línea de defensa contra microorganismos, la placa dental induce la agregación de microorganismos gram positivos y gram negativos a través del tiempo, dependiendo de la susceptibilidad de la persona (genética e inmunitariamente) y de factores de riesgo asociados a que provoquen la agregación, como son fumar, mala higiene dental, dieta, enfermedades autoinmunes o sistémicas, todo esto provoca una reacción de inflamación como respuesta de defensa del huésped, activando ciertas citocinas que se encuentran en la saliva como son la MMP-8, la IL-1  $\beta$ , la OPG, RANK y RANKL, entre otros componentes que aún siguen en estudio y que al mismo tiempo los podemos encontrar genéticamente en ciertos cromosomas del genoma humano (biomarcadores), que pueden actuar tanto en procesos fisiológicos normales como patológicos dependiendo de su concentración, en este caso actúan causando enfermedad periodontal debido a que estas citocinas desencadenan la cascada de la inflamación, degradación de colágena que se encuentra en el ligamento periodontal, provocando bolsas y resorción de ósea porque inhiben la neoformación.

La importancia del hallazgo de estos biomarcadores podría ser el primer paso para detectar los motivos iniciales que causan la enfermedad periodontal, así como también servir como herramienta clínica para su detección en saliva.

## 8. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Gómez M.E., Campos A. Histología y embriología bucodental. 2ª ed. Madrid, España:Editorial Panamericana, 2003. Pp 151-187
2. Geneser F. Histología sobre bases biomoleculares.ª ed. Buenos Aires Argentina:Editorial Panamericana,2002.Pp 177-199 y 472-475
3. Berné R.M., Levy M. N. Fisiología. 3a ed. Madrid, España: Editorial Mosby Internacional Ltd. Elsevier Science,2003
4. Fuentes R. Lara S. Corpus, Anatomía humana general. Vol II. ja ed. México: Editorial Trillas, 1997.
5. Kaufman E., Lamster IB: Analysis of saliva for periodontal diagnosis. Areview. J Clin Periodontol 2000; 27: 453-465
6. D. Arthur W. Ham. Tratado de Histología. 6a ed. España: Editorial Interamerican, 1975. Pp. 603-604.
7. A van Nieuw Amerongen, J.G.M Bolsher E.C.I Veerman: Salivary Proteins: Protective and Diagnostic value in Cariology? Caries Res 2004; 38: 247-253.
8. Carranza, Fermín A., Takei Henry H y Newman Micahel G. PERIODONTOLOGÍA Clínica 9ª ed. México: Editorial Mc Graw Hill Interamericana; 2004. Pp 178-193, 356-375, 375-405.

9. Diccionario de Cáncer del Instituto Nacional del Cáncer:  
[http://www.cancer.gov/Templates/db\\_alpha.aspx?CdrID=45618&lang=spanish](http://www.cancer.gov/Templates/db_alpha.aspx?CdrID=45618&lang=spanish)
10. Diccionario del genoma humano:  
<http://www.genome.gov/glossary.cfm?ID=43&action=lea>
11. Manuel E. Tabeada Vega y Vilma Chuqui huaccha Granda: Rollo f the saliva like biological marker in bucal pathology. Revista odontológica San Marquina. Soporte online: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/www.latindex.unam.m>
12. Ortega, M. La incidencia previsible de la medicina genómica en la mejora de la calidad de vida. Real Academia Nacional de Farmacia.
13. Ortega, M. Farmacogenética, Farmacogenómica y Proteómica en la medicina personalizada. Real Academia Nacional de Farmacia 2003
14. Berg Jeremy M., Tymoczko John L., Stryer Lubert. Carbohidrates can e attached to proteins to form glicoproteins. Biochemistry 5<sup>th</sup> ed. 11.3 W. H. Freeman
15. Zambrano villa S. y Cols. "Inmunología básica y clínica". 1<sup>a</sup> ed. Mc Graw Hill. India 2007

16. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA: IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005, 23: 479-490.
17. Kindt Thomas J. Goldsby Richard A. Osborne Barbara A. "Inmunología de Kuby" 6a ed. Mc Graw Hill, México 2007. Pp 303- 400
18. Dahm R. "Friedrich Miescher and the discovery of DNA". *Dev Biol* 278 (2): 274-88
19. Wilkins M.H.f, A.R. Stokes & Wilson, H.R. "Molecular Structures of Deoxyribose Nucleic Acid" *Nature*, 171:738-740. 1953
20. Butler, John M. *Forensic DNA Typing* Elsevier 2001 Pp. 14-15
21. Mandelkern M. Elias J, Eden D, Crothers D The dimensions of DNA in solution
22. Figuras 4 y 5: [http://es.wikipedia.org/wiki/Doble\\_h%C3%A9lice](http://es.wikipedia.org/wiki/Doble_h%C3%A9lice)
23. Denny RE. Heredity and its influence on teeth. *Dental Cosmos*. 1930; 72:596-605
24. Offenbacher S. Periodontal disease: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1: 821-78



25. Norderyd O, Hugoson A, Grusovin G. Risk of severe periodontal disease in a Swedish adult population. A longitudinal study. *J Clin Periodontol.* 1999 Sep; 26 (9): 608-15
26. Rodrigo Gómez D, Oteo Calatayud A., Alonso Rosado A., Bascones Martinez. El papel de la genética en la aparición y desarrollo de la periododntitis I: evidencias científicas de la asociación entre periododontitis y genética. *AV. Periodon Implantol.* 2007; 19, 2: 71-83
27. Rioboo Crespo M, Bascones A. Factores de Riesgo de la enfermedad periodontal: factores genéticos. *Av. Periodon Implantol.* 2005; 17, 2: 69-77
28. Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, duff GW. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan; 24 (1):72-7
29. Salvi GE, Brown CE, Fujihashi K, Kiyono H, smith FW, Beck JD, Offenbacher S. Inflammatory mediators of terminal dentition in adult and early onset periodontitis. *J Periodon Res.* 1998 May; 33 (4) : 212-25
30. McDevitt MJ, Wang HY, Knobelmann C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, duff GW, Kornman Ks. Interleukin- 1 association with periododontitis in clinical practice. *Jperiodontol.* 2000 Feb; 71 (2): 156-63

31. Altman LC, Page RC, Vandesteen GE, Dixon LI, Bradford C. Abnormalities of leukocyte chemotaxis in patients with various forms of periodontitis. *J Periodontal Res.* 1985 Nov;20(6):553-63
32. Craig S. Miller, Charles P. King, Jr., Michael Langub, Richard J. Kryscio and Mark V. Thomas. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: A cross sectional study. *J Am Dent Assoc* 2006;137:322-329.
33. Parks, W.C. and R.P. Mecham in *Matrix Metalloproteinases MMP-8 (total) Immunoassay for the quantitative determination of human active and pro-Matrix metalloproteinase 8 (total MMP-8) concentrations in cell cultures supernates, saliva, serum, and plasma.* Academic Press, San Diego (1998)
34. Balwant Rai, Simmi Kharb, Rajnish Rain, and Surech C., Biomarkers of periodontitis in oral fluids. *J. of Oral Science* 50 (1):53-56, 2008
35. Nurdan Ozmeric *Advances in periodontal disease markers Clinica Chimica Acta* Volume 343, Issues 1-2, May 2004, pp 1-16
36. D. Stejskal, J. Bartek, R. Pastorkova, V. Ruzicka, I. Oral, D. Horalík *OSTEOPROTEGERIN, RANK, RANKL* *biomed.* 145(2), 61-64 2001
37. Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non smoker chronic periodontitis patients

38. Qiming Jin, Joni A Cirelli, Chan Ho Park, James V. sugai, Mario Taba. Rankl Inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. J periodontal 78 (7) 1300-1307.
39. N. Bostanci, T. Ingenli, G.Emingil, B. Afacan, et al. Differential expresión of receptor activator of nuclear factor- kb ligand and osteoprotegerin mRNA in periodontal diseases. J. periodontal Res 42 (4): 287-293 2007
40. Takehiko Kubota, M. Itagaki, Ch. Hoshino, M. Nagata, et al. Altered Gene Expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis affected gingival tissue. J. of Perio. /9 (1) jan 2008 166-173