



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina

Maestría en Ciencias de la Salud

**Evaluación de las concentraciones salivales de
IL-6 en pacientes con enfermedad periodontal
con y sin diabetes mellitus tipo 2**

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:

E.OP. Diana Guadalupe Guadarrama López

Comité de Tutores

Dra. Patricia Cerecero Aguirre
Tutor Académico

Dr. Gilberto Vázquez de Anda
Tutor Interno

Dr. Bernardo Hernández Prado
Tutor Externo

Toluca, Estado de México

2016

INDICE

| | No. Página |
|---|------------|
| Resumen | 5 |
| Summary | 7 |
| 1. Antecedentes | 9 |
| 1.1 Enfermedad periodontal | 9 |
| 1.1.1 Factores de riesgo | 10 |
| 1.1.2 Fisiopatología | 11 |
| 1.1.3 Características clínicas | 12 |
| 1.1.4 Diagnóstico | 12 |
| 1.1.4.1 Índice Periodóntico Comunitario (IPC) | 13 |
| 1.2 Flujo salival | 13 |
| 1.2.1 Marcadores específicos | 14 |
| 1.3 Diabetes mellitus tipo 2 | 15 |
| 1.3.1 Fisiopatología | 15 |
| 1.3.2 Diagnóstico | 16 |
| 1.3.3 Citocinas | 17 |
| 1.3.4 Interleucina 6 (IL-6) | 18 |
| 1.4 Enfermedad periodontal y Diabetes Mellitus Tipo 2 | 20 |
| 2. Planteamiento del Problema | 24 |
| 3. Hipótesis | 26 |
| 4. Objetivos | 27 |
| 5. Justificación | 28 |
| 6. Material y Métodos | 29 |
| 6.1. Diseño de estudio | 29 |
| 6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación | 29 |
| 6.3. Procedimientos | 30 |
| 6.3.1 Selección de sujetos | 30 |
| 6.3.2 Historia clínica | 31 |
| 6.3.3 Evaluación periodontal | 31 |
| 6.3.4 Toma de muestra salival | 32 |
| 6.3.5 Toma de muestra sanguínea | 32 |
| 6.3.6 Evaluación bioquímica | 33 |
| 6.3.7 Determinación de IL-6 en saliva | 33 |
| 6.3.9 Evaluación antropométrica | 33 |
| 6.4. Variables de estudio | 34 |
| 6.5. Implicaciones bioéticas | 37 |
| 6.6. Infraestructura y disponibilidad | 37 |
| 6.7. Recolección de datos | 37 |
| 6.8. Análisis estadístico | 38 |
| 7. Resultados | 39 |
| 7.1. Título corto del artículo enviado | 39 |
| 7.1.1 Página frontal del manuscrito | 40 |
| 7.1.2 Carta de envío o aceptación | 41 |

| | | |
|--------|--|----|
| 7.1.3 | Resumen | 43 |
| 7.1.4 | Abstract | 45 |
| 7.1.5 | Antecedentes | 47 |
| 7.1.6 | Método | 48 |
| 7.1.7 | Análisis estadístico | 51 |
| 7.1.8 | Resultados | 52 |
| 7.1.9 | Discusión | 53 |
| 7.1.10 | Conclusiones | 56 |
| 7.1.11 | Agradecimientos | 57 |
| 7.1.12 | Referencias Bibliográficas | 58 |
| 7.1.13 | Tablas | 64 |
| 7.2. | Resultados Adicionales | 69 |
| 8. | Conclusiones Generales | 72 |
| 8.1 | Conclusiones | 72 |
| 8.2 | Limitaciones | 72 |
| 8.3 | Recomendaciones | 72 |
| 9. | Referencias bibliográficas | 73 |
| 10. | Anexos | 78 |
| 10.1. | Anexo1. Carta de consentimiento bajo información | 78 |
| 10.2 | Anexo 2. Historia clínica e índice de enfermedad periodontal | 81 |

Resumen

Antecedentes. La enfermedad periodontal (EP) es una enfermedad inflamatoria que afecta los tejidos de soporte de los dientes, induciendo a la producción de citocinas proinflamatorias como interleucina-6. La EP es considerada como una de las afectaciones a nivel bucal de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), la cual constituye un grave problema de salud en México. El objetivo del estudio fue determinar las concentraciones salivales de IL-6 en adultos con enfermedad periodontal con y sin DM2.

Metodología. Se realizó un estudio transversal descriptivo, que incluyó 90 pacientes, asignados en tres grupos: 30 con DM2 y con EP (DM2+EP); 30 sin DM2 con EP (EP) y 30 sin DM2 ni EP (no DM2-EP). Se realizó historia clínica, mediciones de peso y talla, examen periodontal, evaluaciones bioquímicas (glucosa, triglicéridos, colesterol total y HDL-c) y determinación de las concentraciones salivales de IL-6. Se realizó estadística descriptiva, prueba χ^2 y ANOVA de una vía o Kruskal-Wallis. Se compararon los valores de IL-6 según las variables sociodemográficas y clínicas con prueba Mann-Whitney U-Wilcoxon. Se ajustó un modelo de regresión lineal para comparar las concentraciones de IL-6 en el grupo DM2+EP frente a los grupos EP y no DM2-EP.

Resultados. Las concentraciones más elevadas de IL-6 salival se observaron en el grupo DM2+EP (1.7 ± 4.5 pg/dL) comparadas con los grupos EP (0.6 ± 2.1 pg/dL) y no DM2-EP (1.4 ± 1.7 pg/dL). Las concentraciones de IL-6 fueron mayores en los individuos con obesidad y con DM2+EP (1.2 ± 3.3 pg/dL, rango=0-11.4) que aquéllos no DM2-EP con obesidad (3.3 ± 0.9 pg/dL, rango=0-4.2; $p=0.027$). Mediante análisis de regresión lineal ajustado por sexo, IMC y HDL-colesterol, los valores de IL-6 fueron mayores en los sujetos DM2+EP de 39-60 años de edad que en los individuos EP del mismo rango de edad ($\beta=3.03$, IC95%: 0.172, 5.899); al incluir otras covariables, esta relación no fue significativa. Considerando los datos obtenidos en el IPC, los individuos del grupo DM2+EP presentan mayor afectación a nivel periodontal que los otros grupos de estudio. En relación al control glicémico, se observó una incidencia de mal control glicémico en los individuos del grupo con DM2+EP.

Conclusiones. Las concentraciones de IL-6 en saliva se encontraron más elevadas en el grupo DM2+ EP, con obesidad, lo cual pone de manifiesto la relación que existe entre el estado inflamatorio crónico de los pacientes con DM2, EP y obesidad. El mal control glicémico del paciente con DM2 desencadena complicaciones orales.

Palabras clave: Diabetes mellitus tipo 2, interleucina-6, enfermedades periodontales, saliva, índice de masa corporal, índice periodontal comunitario.

Summary

Background. Periodontal disease (PD) is an inflammatory disease that affects the supporting tissues of the teeth, inducing the production of proinflammatory cytokines such as interleukin-6. PD is considered to be one of the affections at the oral level of Type 2 Diabetes Mellitus (DM2), which is a serious health problem in Mexico. The main aim of the study was to determine the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease with and without DM2.

Methodology. A descriptive cross-sectional study was carried out, including 90 patients, assigned in three groups: 30 with DM2 and with PD (DM2 + PD); 30, no DM2 with PD (PD) and 30 without DM2 and PD (non DM2-PD). Clinical history, weight and height measurements, periodontal examination, biochemical assessments (glucose, triglycerides, total cholesterol and HDL-c). Determination of salivary IL-6 concentrations. Descriptive statistics, chi2 test and one-way ANOVA or Kruskal-Wallis were performed. The IL-6 values were compared according to sociodemographic and clinical variables with the Mann-Whitney U-Wilcoxon test. A linear regression model was fitted to compare IL-6 concentrations in the DM2 + PD group versus the PD and not DM2-PD groups.

Results. Highest concentrations of salivary IL-6 were observed in the DM2 + PD group (1.7 ± 4.5 pg / dL) than in the PD (0.6 ± 2.1 pg / dL) and non-DM2-PD (1.4 ± 1.7 pg / dL)). Were higher in obese individuals with DM2 + PD (1.2 ± 3.3 pg / dL, range = 0-11.4) than those with non-obese DM2-PD (3.3 ± 0.9 pg / dL, range = 0-4.2, $p = 0.027$). By linear regression analysis adjusted for sex, BMI and HDL-cholesterol, IL-6 values were higher in subjects DM2 + PD 39-60 years of age than in PD individuals of the same age range ($\beta = 3.03$, 95% IC: 0.172, 5,899); When including other covariates, this relationship was not significant. Considering the data obtained in the CPI, the individuals of the DM2 + PD group present greater periodontal involvement than the other study groups. Regarding glycemic control, there was an incidence of poor glycemic control in the individuals in the DM2 + PD group.

Conclusions. Salivary IL-6 concentrations were higher in the DM2 + PD group, with obesity, which shows the relationship between the chronic inflammatory status of patients with DM2, PD and obesity. Poor glycemic control of DM2 patients trigger oral complications.

Key words: Type 2 diabetes mellitus, interleukin-6, periodontal diseases, saliva, body mass index, community periodontal index.

1. Antecedentes

1.1 Enfermedad periodontal.

El periodonto es un órgano que rodea a los dientes temporales o permanentes y se clasifica en periodonto de inserción que corresponde a la encía o tejido gingival y en periodonto de protección conformado por el ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar. Su función es dar protección y soporte a la estructura dentaria.

La falta de higiene bucal causa la acumulación de placa dentobacteriana en los dientes y da como resultado el inicio de la enfermedad periodontal, conocida como gingivitis (1-4). La enfermedad periodontal es una infección del tejido periodontal ocasionada por la flora bacteriana en la cual influye el estado inmunológico e inflamatorio del paciente. Se caracteriza por la pérdida de tejido conectivo y de hueso alveolar del órgano dentario afectado, sangrado gingival, acúmulo de cálculo dental y finalmente pérdida de los órganos dentarios (1, 5-14).

Los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES por sus siglas en inglés) realizada en los Estados Unidos de Norteamérica en el período de 2009-2010 mostró que la prevalencia total de periodontitis en adultos de 30 años y más es de 47.2% (2). Se ha descrito también una elevada prevalencia de enfermedad periodontal en población México-Americana comparada con la no hispana (15).

Según datos presentados por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles (SIVEPAB) de México, en 2010 se evaluó el Índice Periodóntico Comunitario (IPC) de 55,091 pacientes que acudieron por primera vez a los servicios de salud, aunque para la evaluación periodontal no se contaba con la sonda periodontal recomendada por la OMS, siendo este un instrumento indispensable para identificar la afectación del tejido gingival; se realizaron definiciones operacionales para obtener mayor información sobre el estado periodontal de la población. La prevalencia de gingivitis se determinó al examen clínico, si presentaban inflamación en las encías, edema, sangrado y cambios en el contorno gingival;

la prevalencia de periodontitis, fue determinada si presentaban inflamación en las encías, edema, sangrado, cambios en el contorno gingival, movilidad dentaria, pérdida del tejido de inserción o de hueso, la existencia de bolsas periodontales mayores o iguales a 4 mm de profundidad. El 63.6% de los pacientes tuvieron algún signo de enfermedad periodontal, un poco más de la quinta parte (22.5%) tenía gingivitis (detectada a través del sangrado al sondeo), en el 7.4% se observaron signos de enfermedad periodontal leve (bolsas periodontales superficiales) y 1.7% tuvieron signos de enfermedad periodontal avanzada (bolsas periodontales profundas) (16).

1.1.2 Factores de riesgo.

Los conceptos sobre la etiología de la enfermedad periodontal han evolucionado. Anteriormente las bacterias eran consideradas como el único factor determinante de esta, sin embargo en la actualidad se considera que ciertos criterios influyen en el desarrollo de la enfermedad. Hay diversos factores del huésped que son determinantes para la evolución de la periodontitis, además de un gran número de factores de riesgo que influyen en mayor o menor medida en la aparición y evolución de la periodontitis (10). En este contexto es posible diferenciar hasta cierto punto entre factores de riesgo generales (sistémicos) y locales (1):

a. Sistémicos

- Diabetes mellitus
- Complicaciones hormonales
- Alergias
- Desnutrición
- Síndromes de origen genético
- Infección por VIH
- Enfermedades hematológicas
- Enfermedades crónicas (cardiopatía, enfermedad pulmonar)
- Tabaquismo
- Estrés
- Medicamentos

b. Locales

- Placa dentobacteriana
- Sarro
- Malposición dentaria
- Obturaciones mal adaptadas
- Deficiencia y composición de la saliva
- Respiración bucal

1.1.3 Fisiopatología

El desarrollo de las bacterias es el principal agente que da inicio a la enfermedad periodontal (4). Se ha caracterizado por condiciones de inflamación e infección en los cuales intervienen bacterias anaerobias gram negativo, afectando el soporte dentario (17). El papel que tienen éstas y su interacción con la microflora bucal son determinantes para la degradación del tejido gingival, incluyendo la influencia que ejercen en la liberación de mediadores biológicos como proteínas, citocinas y prostaglandinas cuyo objetivo es la defensa del tejido gingival. Se estima que 600 bacterias diferentes son capaces de colonizar la boca humana, cualquier individuo suele albergar de 150 a 200 de estas especies (4, 6).

Los factores de virulencia inherentes a estas especies patógenas permiten que las bacterias colonicen en la superficie de los dientes y el surco gingival, el daño que causan al tejido periodontal por la producción de sustancias potentes desencadena la respuesta inflamatoria del huésped (9-11).

Otra clase de moléculas que afecta al tejido periodontal son las enzimas producidas por los microorganismos tales como la enzima de degradación de colágena, enzima elastasa, proteasas, aminopeptidasa y dipeptidilpeptidasa. Los componentes celulares localizados en este área son lipopolisacáridos, monocitos, leucocitos polimorfonucleares, otros componentes celulares relacionados son la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF) (4, 5, 7, 11,18).

La primera reacción del tejido gingival ante la presencia de placa dentobacteriana es ocasionada por las bacterias que producen metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico, ácido propiónico, el péptido de formilado prototipo N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP) y lipopolisacáridos (LPS)), que hacen que el epitelio de unión secrete mediadores de inflamación (interleucina 8 (IL-8), TNF- α , prostaglandina dinoprostona (PGE₂), matriz de metaloproteinasas (MPM)). Las terminaciones nerviosas producen neuropéptidos e histamina, que regulan la reacción vascular local y las células cebadas perivasculares producen histamina la cual llega al endotelio a liberar IL-8 (7, 11). La activación de macrófagos y del sistema de proteínas séricas, producen mediadores de inflamación como IL-1 β , IL-1ra, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α , PGE₂ (5, 6, 9, 19).

La regulación de la actividad de las células inflamatorias se presenta a través de los linfocitos que predominan en el infiltrado inflamatorio, las células T activas que coordinan la respuesta inmunitaria de las citocinas (IL-6) ocasionan el desprendimiento del epitelio único y la formación de la bolsa periodontal. El aumento de la actividad de los macrófagos aunado a la reacción del huésped en el tejido conjuntivo infiltrado ocasiona la pérdida de la inserción del epitelio (11, 20).

1.1.4 Características Clínicas.

Desde el punto de vista clínico los hallazgos más relevantes son: inflamación gingival, sangrado espontáneo o al cepillado, movilidad dentaria, halitosis y la pérdida de hueso alveolar detectada radiográficamente (9).

1.1.5 Diagnóstico

El diagnóstico de la enfermedad periodontal, es realizado por el odontólogo, en el momento de llevar a cabo la observación e inspección de la cavidad bucal al identificar inflamación gingival, sangrado de la encía y la presencia de cálculo dental siendo éstos indicadores del desarrollo de la enfermedad (7).

1.1.5.1 Índice Periodóntico Comunitario (IPC)

Este índice es adecuado para la evaluación de pacientes que participan en proyectos de investigación o en encuestas nacionales de salud bucal, debido a la sencillez, velocidad, reproducibilidad y uniformidad internacional.

El examen periodontal se lleva a cabo con el auxilio de una sonda periodontal, que puede ser rectangular (plana), oval o redonda en su sección transversal, pero lo suficientemente delgada como para permitir su fácil inserción en el surco o la bolsa. Ésta se encuentra calibrada de 1mm a 10mm con el fin de poder codificar la profundidad del tejido de inserción.

Se registra la medición más profunda encontrada utilizando las siguientes categorías:

- “0” sano
- “1” hemorragia
- “2” cálculo
- “3” bolsas periodontales superficiales de 4-5 mm
- “4” bolsas periodontales profundas de ≥ 6 mm

El diagnóstico de las fases activas de la enfermedad periodontal y la identificación de pacientes en riesgo de enfermedad activa, son retos para los investigadores clínicos y profesionales por igual. Los investigadores se enfrentan a la necesidad de pruebas de diagnóstico innovadoras que se centran en el reconocimiento temprano de la exposición microbiana (21).

1.2 Flujo salival

La saliva es un fluido acuoso que se encuentra en la cavidad oral, compuesto de una mezcla de secreciones de productos orgánicos e inorgánicos derivados de las glándulas salivales y otras sustancias provenientes de la orofaringe, vía área alta, reflujo gastrointestinal, flujo gingival, depósito de alimentos y componentes sanguíneos (22).

La saliva es uno de los más complejos, versátiles e importantes fluidos del cuerpo, en la cavidad oral participa en la masticación, deglución, sentido del gusto, lubricación de mucosa, protección de la mucosa, actividad antibacteriana, anti-fúngica, antiviral y actividad de remineralización y balance iónico (22).

Se encuentra compuesta en un 99% por agua. Los componentes sólidos, orgánicos e inorgánicos, se encuentran disueltos en el componente acuoso y varían ampliamente de un individuo a otro e incluso varían en el mismo individuo durante el día. La parte inorgánica está compuesta de iones fuertes y débiles, como Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , HCO_3^- , Mg^{2+} y NH_3 . La parte orgánica contiene productos de secreción del cuerpo (urea, ácido úrico y creatinina), productos de putrefacción (putrescina, cadaverina, colesterol y ácidos grasos) y más de 400 tipos de proteínas; las proteínas más relevantes tienen un origen glandular (amilasa, histatinas, cistatinas, lactoferrinas, lisozimas, mucinas), proteínas ricas en prolina (PRP) o derivados de plasma (albúmina, IgA, transferrina) (3, 8,22).

El análisis de la saliva es cada vez más utilizado para monitorear la salud general y la aparición de enfermedades específicas. El uso de la saliva se ha incrementado con el fin de dar un diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal. La presencia de biomarcadores, en individuos sanos y en personas que cursan con una enfermedad sistémica son moléculas indicadoras. Los biomarcadores son considerados como la alternativa prometedora para la epidemiología ambiental clásica (3, 8, 11).

1.2.1 Marcadores Específicos

El término “biomarcador” se refiere a la sustancia biológica que puede ser medida o evaluada con el fin de servir como indicador de salud, procesos patológicos, exposición ambiental o farmacológico (23). La saliva como se ha mencionado, contiene biomarcadores de la enfermedad periodontal locales y sistémicos, su identificación no es tan invasiva comparada con la identificación en suero (24). Los biomarcadores proteínicos salivales específicos han evidenciado tres características patológicas claves en el proceso de la enfermedad periodontal tales como: inflamación, degradación del colágeno y recambio óseo (7).

Las enzimas en saliva son originadas por las glándulas salivales, por microorganismos y células epiteliales; las enzimas del tipo proteínasa juegan un papel importante en la destrucción y degradación del tejido periodontal (8).

Durante el desarrollo de la enfermedad periodontal, se puede llegar a identificar tres fases: inflamación, degradación de tejido conectivo y reabsorción ósea. En cada fase de la enfermedad, se localizan biomarcadores específicos. En la etapa de inflamación de la enfermedad periodontal se pueden identificar citocinas como: prostaglandina E2, interleucina (IL)-1, interleucina-6, Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α), macrófagos, fibroblastos, neutrófilos. A medida que la enfermedad progresa, enzimas como la matriz de metaloproteínas 8, 9, 13 se liberan en el sitio afectado las cuales indican a una destrucción de colágeno del tejido conectivo y pérdida de hueso alveolar. Conforme va incrementando la severidad de la enfermedad periodontal la IL-1, TNF- α va aumentando en la saliva (23).

1.3 Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)

La Organización Mundial de la Salud, reporta que hay más de 346 millones de personas con diabetes mellitus en el mundo, de estas, el 90% son de tipo 2 (27). De acuerdo con los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, en México existen 6.4 millones de personas con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (28).

Los antecedentes familiares positivos confieren un riesgo 2 a 4 veces mayor de presentar DM2 (29). Si bien los factores genéticos son importantes, debe tenerse en cuenta que la diabetes es una enfermedad muy heterogénea y multifactorial (27).

1.3.1 Fisiopatología

La diabetes tipo 2 se caracteriza por la coexistencia de dos alteraciones (28):

- Insuficiencia en la secreción de insulina por las células β del páncreas.
- Resistencia a la insulina.

La insulina es la hormona clave para la regulación de la glucemia y en general, la normoglucemia se mantiene por el equilibrio entre la acción y la secreción de la insulina (menor acción, mayor secreción y viceversa) y las células beta pancreáticas normales pueden adaptarse a los cambios en la acción de la insulina (30,31).

La incapacidad de las células β para seguir hipersecretando insulina; siendo esta responsable de la transición de resistencia a la insulina (disminución en la capacidad de la insulina para ejercer su acción biológica) e hiperinsulinismo compensador con normoglucemia, la resistencia a la insulina con hiperinsulinismo no compensador e intolerancia a la glucosa, para terminar en resistencia a la insulina con hiperinsulinismo e hiperglicemia (32).

Existen causas de los trastornos en la secreción de la insulina como (33-37):

- Alteraciones en el volumen de las células β .
- Glucotoxicidad.
- Lipotoxicidad.
- Defectos en la función o en la síntesis de incretinas.

1.3.2 Diagnóstico

Para el diagnóstico de la diabetes se utilizan los criterios actuales de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), los cuales son (38-40):

- Hemoglobina glucosilada $\geq 6.5\%$.
- Glucosa plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L).
- Glucosa plasmática a las 2 horas posterior a ingerir una solución glucosada ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) durante una prueba de tolerancia a la glucosa.

Los pacientes con síntomas clásicos de hiperglicemia o crisis hiperglicémica, presentan concentraciones de glucosa plasmática aleatoria iguales o mayores a 200 mg/dL (11.1 mmol/L) (38).

Hasta la fecha, los investigadores consideran que la etiología de la diabetes mellitus tipo 2 es desconocida. Existen diversas hipótesis que tratan de explicar el origen de esta enfermedad tales como que es un desorden del hipotálamo anterior y del páncreas endocrino causado por isquemia progresiva o por una innervación anormal de los islotes del páncreas. Una respuesta inflamatoria de fase aguda inducida por citocinas está estrechamente vinculada con la generación de resistencia a la insulina y de DM2, así mismo estudios recientes han relacionado a la DM2 y la resistencia a la insulina con la presencia de biomarcadores del sistema inmunitario y de inflamación incluyendo TNF- α , IL-1, IL-6, leptina, adiponectina, resistina y visfatina (17,31, 41).

Desde hace más de 15 años se ha generado evidencia que sustenta la hipótesis de que la inflamación crónica de bajo grado es un factor de riesgo para el desarrollo de DM2, sin embargo aún no se han clarificado totalmente los mecanismos involucrados; las teorías existentes incluyen la liberación de citocinas proinflamatorias (27).

Por otra parte las proteínas de fase aguda y ciertas citocinas como IL-6 y TNF- α se interrelacionan con una gran cantidad de vías metabólicas como la regulación de insulina (31,42).

1.3.3 Citocinas

Las citocinas son un amplio grupo de moléculas de bajo peso molecular capaces de regular la respuesta inmunitaria, aunque también pueden poseer otras muchas funciones como en embriogénesis, diferenciación y migración celular entre otras. Son péptidos producidos en el tejido inflamatorio, el tejido conectivo y las células del sistema inmunitario; todas ellas tienen efectos autócrinos, parácrinos y endócrinos.

Las interleucinas (ILs) son secretadas por los leucocitos y estimulan la respuesta celular. Se han identificado más de 50 citocinas y la superfamilia de las citocinas incluye 7 familias: ILs, quimiocinas, factores estimulantes de colonias, factores de crecimiento, interferones, factores de crecimiento transformante y factores de necrosis tumoral (43,44).

En relación con la respuesta inflamatoria algunas citocinas favorecen el desarrollo de la misma (citocinas proinflamatorias) mientras que otras ejercen un efecto supresor de la inflamación (citocinas antiinflamatorias) (5, 44). El mecanismo indirecto de los mediadores de inflamación como la citocinas inflamatorias, se encargan de la respuesta bacteriana en las células de tejido gingival (12).

Las citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria son las IL 1,6, 11, 18, TNF- α . Sin embargo en el periodonto las señales de TNF- α y de las IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-11, IL-15, IL-17 también estimulan la pérdida ósea (12).

Una de las citocinas que se ha asociado tanto a resistencia a la insulina como a la diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad periodontal es la IL-6 que se describe brevemente a continuación.

1.3.4 Interleucina 6 (IL-6)

La IL-6 es una citocina proinflamatoria y multifuncional. Es sintetizada en respuesta a estímulos tales como la infección o trauma, por una gran variedad de células como los macrófagos, neutrofilos, queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales (2,13, 19, 27,45-47).

Se ha identificado en las células B y T, células hematopoyéticas, hepáticas y células nerviosas. La IL-6 realiza la estimulación e inhibición del crecimiento celular, inducción y diferenciación de las células (46, 48).

La múltiple actividad biológica de la IL-6 incluye (45, 48):

- Inducción y diferenciación celular
- Inducción de células B diferenciación o secreción de inmunoglobulinas
- Inducción de la síntesis de proteínas
- Inducción de células de diferenciación T citotóxicas

- Inducción, producción de IL-2 y receptores de IL-2
- Inducción y diferenciación de macrófagos
- Inducción y diferenciación de células nerviosas
- Estimulación de crecimiento celular
- Inducción de crecimiento de hibridoma, plasmacitoma y mieloma
- Inducción de células T
- Incremento de virus de Epstein Barr (EBV)
- Inhibición del crecimiento celular
- Inhibición de crecimiento de células de leucemia mieloide
- Inhibición del crecimiento de células de carcinoma

Se ha identificado la relación de la IL-6 con diferentes enfermedades tales como: enfermedades autoinmunes, mixoma cardíaco, artritis reumatoide, y con enfermedades malignas como el mieloma múltiple (48). Las enfermedades orales como el cáncer oral, liquen plano y enfermedad periodontal influyen en la sobreproducción de IL-6 (45).

La IL-6 en la respuesta periodontal da lugar a una inflamación local y sistémica. El exceso de IL-6 puede contribuir al desarrollo de una inflamación crónica, lo cual resulta en la pérdida del ligamento periodontal y el hueso alveolar. Esto ocurre a través del efecto que tiene la IL-6 sobre el tejido conectivo y óseo, mediado por las metaloproteínas (MP), osteoclastos, la activación de células T y la amplificación de la reacción inflamatoria (13,23,45, 46,49).

El estudio realizado por Monea y colaboradores en el cual evaluaron en saliva y suero las concentraciones de TNF- α e IL-6 en adultos con DM2 y sanos con enfermedad periodontal, reporta que las concentraciones de TNF- α e IL-6 en saliva se encontraban incrementadas en los pacientes con DM2 con enfermedad periodontal (20).

1.4 Enfermedad periodontal y Diabetes Mellitus Tipo 2

Las características bucales frecuentes del paciente con diabetes mellitus tipo 2 son sensación de ardor, infecciones fúngicas (cándida), caries y xerostomía; este tipo de cambios son identificados por el odontólogo en el momento en el que el paciente acude a la consulta (50-53).

Dentro de las complicaciones a nivel bucal del paciente diabético se encuentra la enfermedad periodontal, en la cual influye la prolongada exposición a hiperglucemia (5, 53,54), la cual es un factor responsable de la complicación del paciente diabético no controlado, llegando a presentarse esta en una etapa severa que puede resultar en la pérdida de los órganos dentarios, en un estado aparentemente funcional que va a impedir una buena masticación, lo que conlleva a una dieta inadecuada. Los pacientes con diabetes no toleran las prótesis dentarias debido a la pérdida ósea alveolar y a las lesiones mucosas que presentan (5, 54).

Cuando los pacientes no se encuentran controlados en sus concentraciones de glicemia, son tres veces más propensos a tener periodontitis con mayor gravedad en comparación con los individuos no diabéticos (2,14, 40, 55-57). La enfermedad periodontal podría presentarse en estadios severos, ocasionando un incremento en la pérdida de la inserción periodontal, así como del hueso alveolar y como consecuencia, la profundidad de la bolsa periodontal esta aumentada (5, 54, 58).

Algunos autores señalan que la encía de los pacientes diabéticos no tratados suelen presentar un color rojo intenso; los tejidos gingivales tienen aspecto edematoso y a veces están hipertrofiados, incluso, es típica la supuración dolorosa de los bordes gingivales y de las papilas interdentarias (59).

La prevalencia y severidad de la enfermedad periodontal se ha mostrado significativamente mayor en pacientes diabéticos que en no diabéticos (60). La Academia Estadounidense de Periodontología, en el año 2006, señaló que la incidencia de periodontitis aumenta entre las

personas diabéticas, siendo más frecuente y severa en los diabéticos con más complicaciones sistémicas (61,62).

La enfermedad periodontal ha sido reportada como la sexta complicación de la diabetes, esto es debido a los mecanismos que explican la asociación biológica entre estas enfermedades que incluyen: las alteraciones microvasculares, la flora subgingival, los cambios en los componentes del fluido del surco gingival, cambios en el metabolismo del colágeno, la respuesta del huésped alterada y la predisposición genética (51,57).

Es probable que las alteraciones en moléculas inmunológicamente activas, como resultado de la diabetes puedan afectar las redes de citocinas en el periodonto. Esta es la base científica para el aumento de la susceptibilidad a la enfermedad periodontal que se ve en personas con diabetes. Es decir, la diabetes modifica los procesos inflamatorios dando como resultado el aumento de la destrucción periodontal (4).

Otro mecanismo que puede vincular la diabetes y la enfermedad periodontal es la función reducida de los neutrófilos. Además, el retraso de la apoptosis (muerte celular programada) ha sido reportado en pacientes con diabetes. Los neutrófilos son un componente clave de los mecanismos de defensa contra bacterias de la placa dentobacteriana en la enfermedad periodontal. Si se retrasa la apoptosis, dará lugar a una mayor retención de los neutrófilos en el tejido periodontal (4).

Los mecanismos fisiológicos que pueden estar relacionados entre la enfermedad periodontal y la diabetes son los cambios vasculares, microflora bacteriana, una inadecuada respuesta del huésped y el metabolismo anormal del colágeno (59).

En un estudio realizado por Randhika y Ranganathan en 150 pacientes adultos de los cuales 100 tenían DM2 y 50 eran sanos, evaluaron el índice periodontal y las concentraciones de glucosa, se obtuvo una mayor prevalencia de enfermedad periodontal en los pacientes con DM2 en comparación con los no DM2 (51).

El análisis metabólico de saliva y plasma de pacientes con y sin diabetes y con y sin enfermedad periodontal realizado por Barnes y colaboradores, evaluó los marcadores relacionados con enfermedad periodontal en 161 pacientes, donde se encontró una relación de marcadores metabólicos en saliva en pacientes con diabetes y enfermedad periodontal (1).

Un estudio realizado por Gutiérrez-Hernández, el cual consistió en comparar el estado periodontal y nivel de higiene dental en pacientes con DM2 con y sin control glucémico, mostró que la prevalencia de sujetos diabéticos sin control glucémico fue del 59%, con un valor promedio de 135 mg/dl de glucosa en ayuno; en tanto que la prevalencia de enfermedad periodontal registrada fue de 96.8%, sólo el 3.2% se encontraron sanos, el 55.8% presentó periodontitis leve y moderado. El 8% de los pacientes con control glucémico presentaron un periodonto sano y el 36% gingivitis con diferencia significativa de 8 a 28% en relación con pacientes sin control. En contraste, en los pacientes sin control glucémico el 36.1% y 19.4% presentaron periodontitis moderada y severa, respectivamente, con diferencia de 8 a 15.4%. El estudio concluyó que existe una alta prevalencia de enfermedad periodontal en pacientes sin control glucémico (63).

La evidencia científica ha reflejado que existe una relación bidireccional entre la diabetes mellitus y la enfermedad periodontal, de tal modo que se considera que la diabetes mellitus está asociada con un incremento en la incidencia y severidad de la enfermedad periodontal, a su vez esta se encuentra asociada con el mal control glicémico. Se ha considerado que existe la suficiente evidencia para afirmar la existencia de una relación dosis-respuesta entre la enfermedad periodontal y la diabetes, de tal modo que un desequilibrio en el control glicémico supone un incremento en los efectos adversos de la enfermedad periodontal y viceversa (64).

Como tal, se han propuesto diversos mecanismos que tratan de explicar la asociación entre la diabetes y la enfermedad periodontal; éstos podrían dividirse en tres grupos: los que se centran en el efecto directo de ambas patologías, los que se centran en el efecto de la enfermedad periodontal sobre la diabetes y la propuesta de un factor patológico común entre ambas enfermedades. Se considera una relación directa causal debido a que la diabetes es un

factor de riesgo para la enfermedad periodontal, puesto que ésta modifica la producción de AGE's y la apoptosis celular, ambos aumentados en pacientes diabéticos, teniendo como consecuencia mayor susceptibilidad a infecciones, cambios vasculares y problemas de cicatrización (65).

2. Planteamiento del Problema

La enfermedad periodontal es una infección de naturaleza multifactorial, determinada por una respuesta inflamatoria de los tejidos gingivales, la pérdida de tejido conectivo y hueso alveolar, así como la formación de bolsas. Se caracteriza por una producción local de mediadores de inflamación, incluyendo citocinas (interleucinas), prostanoideos (prostaglandinas) y enzimas destructivas (metaloproteínas, colagenasa).

La DM2 es un desorden metabólico crónico que afecta a más de 100 millones de personas en el mundo. En México según la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) 2012 se reporta un incremento importante tanto en hombres como en mujeres en el grupo de 50 a 59 años de edad, respecto a la ENSANUT 2006; el incremento fue de 19.4 puntos porcentuales en las mujeres y de 19.1 en los hombres. En el grupo de 60 a 69 años se observó una prevalencia ligeramente mayor en mujeres que en hombres (26.3 y 24.1%, respectivamente) que se acentuó en el grupo de 70 a 79 años (27.4 y 21.5%, respectivamente).

La DM2 está asociada a mayores concentraciones sanguíneas de marcadores de respuesta de fase aguda, incluyendo el ácido siálico, glicoproteínas, amiloide sérico A, cortisol, proteína C reactiva y citocinas proinflamatorias.

La salud oral de los pacientes con DM2, presenta ciertas complicaciones como xerostomía, pérdida dentaria, gingivitis, periodontitis, abscesos dentales, así como lesiones en los tejidos blandos de la lengua y la mucosa. La enfermedad periodontal es más frecuente y grave en los pacientes con DM2; en las etapas tempranas no genera sintomatología alguna por lo cual es muy difícil diagnosticarla, pues la población mexicana en general no cuenta con una educación bucal adecuada y por lo tanto no acude regularmente al odontólogo. Así que cuando los pacientes asisten a consulta es principalmente por sangrado gingival y movilidad dental, momento en el cual la enfermedad periodontal ya se encuentra en un fase moderada o incluso avanzada, donde se puede presentar desde la destrucción del tejido conectivo y resorción del hueso alveolar hasta la pérdida del órgano dentario. Estas condiciones generan disminución en la calidad de vida de los pacientes, pues los procesos básicos como la

masticación y la deglución se ven afectados, por este motivo es importante detectar este padecimiento en forma temprana, aprovechando el desarrollo de técnicas innovadoras y no invasivas tal como la cuantificación en saliva de marcadores de inflamación como la IL-6.

Es importante establecer la utilidad de marcadores de enfermedad periodontal en pacientes con DM2 pues su determinación en saliva coadyuvaría al diagnóstico, incluso cuando los signos de periodontitis son incipientes, de tal forma que se pueda brindar una atención bucal oportuna y eficaz.

Pregunta investigación:

- ¿Cuál es la relación existente entre la enfermedad periodontal y la IL-6 en pacientes con y sin Diabetes Mellitus Tipo 2?

3. Hipótesis:

- H_1 En los pacientes con DM2 se observa una relación directa entre la enfermedad periodontal y las concentraciones de IL-6.

3.1 Hipótesis Nula

- H_0 En los pacientes con DM2 se observa una relación inversa entre la enfermedad periodontal y las concentraciones de IL-6.

4. Objetivos

4.1 General

- Determinar la relación que existe entre la enfermedad periodontal (EP) y marcadores de inflamación en saliva de pacientes con y sin DM2 (ISEM Toluca y público en general).

4.2 Específicos

- Cuantificar las concentraciones de IL-6 en los grupos de estudio.
- Comparar la concentración de IL-6 en pacientes con y sin DM2 con EP.
- Cuantificar el porcentaje de hemoglobina glucosilada en los pacientes con DM2.

5. Justificación

A nivel mundial la prevalencia de DM2 se ha incrementado en los últimos años, lo cual ha despertado gran interés en la atención a la salud de los pacientes diabéticos en forma integral.

En México de acuerdo con la ENSANUT 2012 se reporta un incremento en la incidencia de DM2, respecto a la ENSANUT 2006, sin embargo esta misma encuesta reporta que la población diabética del Estado de México superó la media nacional (23).

La DM2 se asocia con complicaciones a nivel bucal como la xerostomía, abscesos odontogénicos, lesiones en la mucosa oral, gingivitis y enfermedad periodontal, sin embargo esta última se desarrolla con mucho más frecuencia, pues el descontrol metabólico de los pacientes con DM2 aunado a la proliferación de microorganismos odontogénicos favorecen el desarrollo de esta entidad, la cual puede evolucionar de forma asintomática por largo tiempo; la mayoría de las veces la enfermedad periodontal es diagnosticada ya en etapas avanzadas que se asocian a movilidad y pérdida dentaria inminente, lo cual conlleva a la disminución de la calidad de vida de los pacientes, pues los procesos básicos como la masticación y la deglución se ven alterados.

Por otra parte no existen estadísticas actualizadas en relación a la prevalencia de la enfermedad periodontal en pacientes sanos y mucho menos en pacientes con DM2, sin embargo en 2010 los últimos reportes indican, que el 22% de la población padece enfermedad periodontal.

La realización de este proyecto permitirá determinar la relación que existe entre la enfermedad periodontal (EP), marcadores de inflamación en saliva de pacientes con y sin DM2 de la Jurisdicción Toluca de ISEM y público en general. Así mismo evaluar la utilidad de la cuantificación de biomarcadores en saliva como un método auxiliar en el diagnóstico de la enfermedad periodontal; al ser una técnica no invasiva optimizaría el diagnóstico y consecuentemente el tratamiento de la EP.

6. Material y Métodos

6.1 Diseño de Estudio

6.1.1 Tipo de estudio

Observacional, descriptivo y transversal.

6.1.2 Método de muestreo

Muestreo por conveniencia conformado por 90 sujetos de los cuales se conformaron 3 grupos de estudio de la siguiente manera.

1. 30 Pacientes con DM2 y enfermedad periodontal (DM2+EP)
2. 30 Pacientes sin DM2 y enfermedad periodontal (EP)
3. 30 Pacientes sin DM2 y sin enfermedad periodontal (no DM2-EP)

6.1.3 Tamaño de muestra.

Se calculó el poder del estudio con base en los valores promedio de IL-6 en pacientes con enfermedad periodontal (12.6 ± 12.7 pg/mL) y en pacientes sin esta enfermedad (6.7 ± 8.0 pg/mL) (reportados en el 2014 por Kosaka y colaboradores). De tal manera que para detectar la diferencia de 12.6 pg/mL frente a 6.7 pg/mL, con un poder del 80.0%, se requiere un tamaño de muestra de por lo menos 102 participantes (51 casos) (48).

6.2 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

6.2.1 Criterios inclusión:

- Enfermedad periodontal
- Edad de 20 a 60 años
- Con diagnóstico de DM2 de más de 6 meses

- Contar con un mínimo de 20 órganos dentarios
- Cualquier sexo
- No haber recibido tratamiento periodontal en los últimos 3 meses
- No estar bajo tratamiento farmacológico (antibiótico o antiinflamatorio) en los últimos 3 meses

6.2.2 Criterios exclusión:

- Edéntulos
- Xerostomía
- Eventos cardiovasculares previo a 5 años
- Estar embarazada o lactando
- Uso de aparatología de ortodoncia
- Apertura de boca limitada
- Complicaciones de DM2 (insuficiencia renal crónica, retinopatía, amputación)
- Síndrome metabólico

6.2.3 Criterios eliminación:

- Muestra contaminada
- No se presentó a la toma de muestra
- No siguió las indicaciones previas a la toma de muestra
- Evaluaciones incompletas

6.3 Procedimientos

6.3.1 Selección de sujetos

Se acudió a la Jurisdicción Sanitaria Toluca del Instituto de Salud del Estado de México y Municipios (ISEM) en donde se presentó el presente protocolo de investigación para su

revisión, aprobación y asignación de un centro de salud urbano. Al mismo tiempo se realizó la invitación al público en general con el objetivo de contar con su participación en dicho proyecto.

Una vez obtenidas las autorizaciones pertinentes, se asistió a los centros de salud y se estableció contacto con los directores de la unidad, se les explicó la naturaleza del estudio y se solicitó su apoyo para la realización del trabajo de campo con la población adscrita a dichas unidades, con diagnóstico de DM2.

Se dieron pláticas para informar al personal que labora en el centro de salud y a los pacientes sobre el programa y para que participaran en el proyecto. La participación fue voluntaria, los pacientes interesados en participar en este proyecto, firmaron su carta de consentimiento informado (Anexo1).

Los pacientes sin diagnóstico de DM2 que cumplían con los criterios para formar parte de este proyecto se citaron en las instalaciones del Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED) de la UAEMex, para la realización de los procedimientos.

6.3.2 Historia clínica

Se realizó una historia clínica breve a los participantes, con el fin de obtener datos personales, antecedentes patológicos y no patológicos (Anexo2).

6.3.3 Evaluación periodontal

El examen periodontal se llevó a cabo con el auxilio de una sonda periodontal Goldman Fox; la cual es ligera y calibrada en milímetros de 1mm a 10 mm. Al introducir la sonda se siguió la configuración anatómica de la superficie de la raíz dental. El estado periodontal se determinó, empleando el Índice Periodóntico Comunitario (IPC). La profundidad de las bolsas periodontales se evaluó por sextantes y se consideraron las siguientes categorías:

- “0” sano
- “1” hemorragia
- “2” cálculo
- “3” bolsas periodontales superficiales de 4-5 mm
- “4” bolsas periodontales profundas de ≥ 6 mm(49)

Todos estos datos fueron recabados en el odontograma (Anexo2).

6.3.4 Toma de muestra salival

Se solicitó a los participantes acudir sin aseo bucal previo a la toma de muestra, en ayuno de 12 horas y sin realizar ningún tipo de enjuague bucal. El paciente realizó un enjuague con agua bidestilada, 3 minutos previo a la toma de la muestra.

Se procedió a la recolección de la saliva sin estimular, recolectando 10 ml de saliva sin estimular en un tubo estéril (DS Vacutainer ®). La muestra se centrifugó por 10 minutos a 10,000 rpm (Centrifuga Eppendorf, AG- 5804R) a una temperatura de -4°C , se retiró el sobrenadante y resguardó en un micro tubo de polipropileno nuevo Eppendorf ® Todas las muestras fueron almacenadas a -70°C hasta su procesamiento (Ultra congelador - ThermoScientific, Forma 900 Series).

6.3.5 Toma de muestra sanguínea

Se solicitó a los participantes acudir en condiciones de ayuno, sin haber realizado actividad física intensa o haber ingerido alcohol por lo menos 12 horas antes de la cita. Se procedió a la recolección de una muestra de sangre venosa en un tubo con activador de coagulación basado en trombina, 13 x 100 mm, 5.0 ml y en otro de 4 ml con EDTA, guardando las medidas de bioseguridad recomendadas. Se dejó que la sangre coagulara al menos 30 minutos (pero no más de 60 minutos) antes de comenzar la centrifugación por 10 minutos a 1000 rpm, inmediatamente después se alícuota el plasma en viales de 1000 μl cada uno.

6.3.6 Evaluación bioquímica

En el plasma obtenido se midieron las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos, colesterol y HDL colesterol mediante el método colorimétrico ultrasensible en un aparato automatizado (Selectra II, Cat. GL1611, CH 198) y reactivos de la casa comercial RANDOX™ (CH3811A, CH3841A y TR1695). Se cuantificó hemoglobina glucosilada mediante inmunoanálisis turbidimétrico de inhibición en sangre total, utilizando el equipo RxSuzuka y reactivos de la casa comercial RANDOX™ (Cat. HA8043).

6.3.7 Determinación de IL-6 en saliva

Se realizó la determinación de IL-6 en saliva mediante técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés; BioVendor. RBMS213/2R) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

6.3.9 Evaluación antropométrica.

Para la realización de las mediciones antropométricas los participantes acudieron con ropa ligera. Personal capacitado de la UAEMex realizó las mediciones utilizando para la obtención de talla en estadímetro marca SECA™ (modelo 1013522), así mediante el método de bioimpedancia se utilizó una báscula electrónica (TANITA modelo BC-533; Tokio, Japón) para la obtención de peso e índice de masa corporal (IMC).

6.4 Variables de Estudio

6.4.1 Independientes:

- Enfermedad Periodontal
- Edad
- Género
- Control glicémico
- IMC

6.4.2 Dependientes:

- Interleucina 6 (IL-6)

| Variable | Definición conceptual | Definición operativa | Tipo de variable | Escala de medición | Análisis Estadísticos |
|-------------------------------|--|---|-----------------------|---|-------------------------|
| INDEPENDIENTES | | | | | |
| Enfermedad periodontal | Infección caracterizada por una respuesta inflamatoria de los tejidos gingivales contra la micro flora bacteriana, influyendo el estado inmunológico e inflamatorio, se caracteriza por la pérdida de tejido conectivo y hueso alveolar alrededor del diente | Midiendo la profundidad de la bolsa periodontal, con sonda periodontal de la OMS | Cuantitativa Ordinal | <ul style="list-style-type: none"> • “0” sano • “1” hemorragia • “2” cálculo • "3" bolsas periodontales superficiales de 4-5 mm • “4” bolsas periodontales profundas de ≥ 6 mm | ANOVA P<0.05 |
| Sexo | Categoría que sirve para indicar la diferencia de sexo entre las personas. | Características fenotípicas de hombre Características fenotípicas de mujer | Cualitativa Nominal | Masculino Femenino | Frecuencia y porcentaje |
| Edad | Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio | Fecha de nacimiento hasta la fecha de medición | Cuantitativa Continua | Años cumplidos | Regresión lineal |
| IMC | Criterio diagnóstico que se obtiene dividiendo el peso entre la estatura elevada al cuadrado. Es un indicador simple de la relación entre el peso y la estatura, que se utiliza frecuentemente para identificar sobrepeso y obesidad en la población | $IMC = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Estatura (m}^2\text{)}}$ Bajo peso: <18.5 Normo peso: 18.5-24.9 Sobre peso: 25- 29.9 Obesidad: 30- ≥ 40 | Cuantitativa Contínua | Continua Instrumento de medición: InBody 230 | Regresión lineal |

| | | | | | |
|--|---|---|--------------------------|----------------------------|------------------|
| Hemoglobina glucosilada (HbA1c) | Refleja la glucemia media del individuo en los tres a cuatro meses previos a la toma de la muestra | Mediante la técnica de inmunturbidimetría en el equipo RxSuzuka y con reactivos de RANDOX™ (Cat. HA8043). | Continua | % | Regresión lineal |
| DEPENDIENTES | | | | | |
| Interleucina- 6 (IL-6) | Glucoproteína segregada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Localizado en el cromosoma 7, su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF α . Es una citocina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria. | Expresión de IL-6, en saliva . Técnica de medición: ELISA. | Cuantitativa Continua | Unidad de medida: pg/mL | Regresión lineal |

6.5 Implicaciones bioéticas

Este protocolo de investigación se llevó a cabo respetando los lineamientos establecidos por la Declaración de Helsinki de 1975 y la enmienda del año 2013. De la misma manera, se respetó el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación en Seres Humanos.

El protocolo fue sometido a la revisión y aprobación del Comité de Ética del Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED) de la Universidad Autónoma del Estado de México. El cual fue aprobado por el comité el día 09 de Septiembre de 2015, con el número de registro CONBIOÉTICA 15CEI01720131119.

La participación fue voluntaria y estuvo siempre sujeta a la autorización del paciente mediante el consentimiento informado declarado de forma escrita.

Este estudio estuvo considerado como una investigación con riesgo mínimo, basados en la Ley General de Salud en materia de Investigación en Seres Humanos, en virtud de que se obtuvo muestra de sangre por punción venosa. La información obtenida de este estudio fue manejada en forma confidencial. Los exámenes de sangre, se proporcionaron sin costo alguno para el paciente y los resultados fueron entregados de manera personalizada.

6.6 Infraestructura y disponibilidad

El proyecto de investigación se realizó con el apoyo de la infraestructura del CICMED.

6.7 Recolección de datos

La información de la historia clínica, la evaluación odontológica, los resultados de los análisis bioquímicos y de los parámetros de inflamación fueron vaciados a una base de datos para ser analizada en el programa de análisis estadístico SPSS versión 19.0 y STATA 9.

6.8 Análisis estadístico

Se realizaron pruebas Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de la distribución de los datos; los valores de IL-6 no tuvieron una distribución normal. La estadística descriptiva consistió en obtener proporciones para las variables categóricas y media y desviación estándar para las variables continuas. Se compararon las características clínicas y sociodemográficas entre grupos con pruebas χ^2 o prueba exacta de Fisher para las variables categóricas y ANOVA de una vía o Kruskal-Wallis para las variables continuas.

Se compararon los valores de IL-6 de acuerdo con las variables sociodemográficas y clínicas de los participantes con la prueba Mann-Whitney U-Wilcoxon pruebas de suma de rangos para muestras independientes. Se ajustó un análisis de regresión lineal estratificado por edad para comparar las concentraciones de IL-6 en el grupo DM2+EP frente a los grupos EP y no DM2-EP, ajustando por el efecto del IMC, sexo, concentraciones de HDL, estatus de tabaquismo y consumo de bebidas con contenido alcohólico. Las diferencias con un p -valor <0.05 fueron considerados significativas. Los datos fueron analizados con el programa estadístico STATA 9.

7. Resultados

7.1. Nombre del Artículo Enviado

Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: cross-sectional descriptive study

7.1.1. Página frontal del manuscrito

Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: cross-sectional descriptive study

Diana G. Guadarrama López¹, Patricia Cerecero Aguirre², Bernardo Hernández Prado³, Miriam V. Flores Merino², Gilberto Vázquez de Anda², Jonathan Santillán Benítez⁴

¹ Master Degree in Health Science, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México. dian_119@hotmail.com

² Centro de Investigación en Ciencias Médicas, Universidad Autónoma del Estado de México. pcereceroa@uaemex.mx ; mv.flores.merino@gmail.com
gfvazquezd@uaemex.mx

³ Institute for Health Metrics and Evaluation, Washington University. bhp3@uw.edu

⁴ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.
jonnathangsb@yahoo.com.mx

Correspondence autor

Patricia Cerecero Aguirre, Centro de Investigación en Ciencias Médicas. Jesús Carranza 205, Col. Universidad. Toluca, México. CP 50130. e-mail pcereceroa@uaemex.mx

7.1.2 Carta de Envío o Aceptación

De: em.ohea.0.4f3d28.a59e4360@editorialmanager.com
<em.ohea.0.4f3d28.a59e4360@editorialmanager.com> en nombre de BMC Oral Health Editorial Office
<em@editorialmanager.com>
Enviado: martes, 15 de noviembre de 2016 02:30 p. m.
Para: Patricia Cerecero Aguirre
Asunto: Confirmation of your submission to BMC Oral Health - OHEA-D-16-00462

OHEA-D-16-00462
Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus
Diana Guadalupe Guadarrama, Pediatric dentistry; Patricia Cerecero, Ph.D.; Bernardo Hernández-Prado, Doctor of Science; Miriam Verónica Flores, Ph.D. BSc; Gilberto Vázquez, Ph.D.; Jonnathan Guadalupe Santillán, Ph.D.
BMC Oral Health

Dear Ph.D. Cerecero,

Thank you for submitting your manuscript 'Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus' to BMC Oral Health.

The submission id is: OHEA-D-16-00462
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:

<http://ohea.edmgr.com/>

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,

Editorial Office
BMC Oral Health
<http://www.biomedcentral.com/bmcoralhealth/>

OHEA-D-16-00462

Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus

Diana Guadalupe Guadarrama, Pediatric dentistry; Patricia Cerecero, Ph.D.; Bernardo Hernández-Prado, Doctor of Science; Miriam Verónica Flores, Ph.D. BSc; Gilberto Vázquez, Ph.D.; Jonnathan Guadalupe Santillán, Ph.D.

Dear author:

You are receiving this email because you have been listed as an author on a manuscript recently submitted to BMC Oral Health. The manuscript details are below.

Title: Evaluation of the salivary concentrations of IL-6 in adults with periodontal disease and type 2 diabetes mellitus

Authors: Diana Guadalupe Guadarrama, Pediatric dentistry; Patricia Cerecero, Ph.D.; Bernardo Hernández-Prado, Doctor of Science; Miriam Verónica Flores, Ph.D. BSc; Gilberto Vázquez, Ph.D.; Jonnathan Guadalupe Santillán, Ph.D.

Corresponding author: Ph.D. Patricia Cerecero

If you are not aware of the submission, or if you should not be listed as contributing author, please notify the Editorial Office. Contact details for the Editorial Office are available under "Contact Us" on the journal website.

Kind regards,

Editorial Office
BMC Oral Health

<http://www.biomedcentral.com/bmcoralhealth/>

7.1.3. Resumen

Antecedentes. La enfermedad periodontal (EP) es una condición inflamatoria que estimula la secreción de IL-6. Esta citocina ha sido relacionada con la destrucción del periodonto y un estado de inflamación de bajo grado sistémico que favorece el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), no obstante, los valores reportados en adultos con EP y DM2 son discordantes. El objetivo del estudio fue determinar las concentraciones salivales de IL-6 en adultos con EP con y sin DM2.

Métodos. Se realizó un estudio transversal descriptivo que incluyó 90 participantes asignados a tres grupos: 30 con DM2 y EP (DM2+EP), 30 sin DM2 con EP (EP) y 30 sin DM2 y sin EP (no DM2-EP). Se llevó a cabo una historia clínica, medición de peso y talla, examen periodontal, evaluaciones bioquímicas (glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL colesterol) y determinación de IL-6 salival. A través de pruebas χ^2 y ANOVA o Kruskal-Wallis se compararon las características clínicas y antropométricas entre grupos, y mediante pruebas Mann-Whitney-U-Wilcoxon se compararon los valores de IL-6 entre grupos según éstas características. Se ajustó un modelo de regresión lineal estratificado por edad para contrastar los valores de IL-6 del grupo DM2+EP frente a los grupos EP y no DM2-EP.

Resultados. Los participantes del grupo DM2+EP presentaron mayores concentraciones salivales de IL-6 (1.7 ± 4.5 pg/dL) que aquéllos de los grupos EP (0.6 ± 2.1 pg/dL) y no DM2-EP (1.4 ± 1.7 pg/dL). Asimismo, los individuos con obesidad y con DM2+EP presentaron valores más altos de IL-6 (1.2 ± 3.3 pg/dL, rango=0-11.4) que aquéllos no DM2-EP con obesidad (3.3 ± 0.9 pg/dL, rango=0-4.2; $p=0.027$). Mediante análisis de regresión lineal

ajustado por sexo, IMC y HDL-colesterol, los valores de IL-6 fueron mayores en los participantes DM2+EP de 39-60 años de edad que en los individuos EP del mismo rango de edad ($\beta=3.03$, IC95%: 0.172, 5.899); al incluir otras covariables, esta relación no fue significativa.

Conclusiones. Las concentraciones salivales de IL-6 son mayores en adultos de 39 a 60 años de edad que presentan DM2 y EP que aquéllos que presentan únicamente EP del mismo rango de edad. Estos resultados sugieren un vínculo entre la DM2 y EP con un estado inflamatorio crónico.

Palabras clave. Diabetes mellitus tipo 2, interleucina-6, enfermedades periodontales, saliva, índice de masa corporal.

7.1.4 Abstract

Background. Periodontal disease (PD) is an inflammatory condition which stimulates IL-6 secretion. This cytokine has been related with periodontal destruction additional to low-grade systemic inflammation, which develops most commonly in type 2 diabetes mellitus (DM2); otherwise, the results obtained from adults with PD and DM2 are controversial. The main aim of the present study was to determine saliva concentrations of IL-6 in adults with and without DM2.

Methods. A cross-sectional descriptive study was conducted including 90 participants assigned to three groups: 30 with DM2 and PD (DM2+PD), 30 without DM2 with PD (PD), and 30 with neither DM2, nor PD (no DM2-PD). A medical history was taken, weight and height, periodontal examination and biochemical evaluations (glucose, triacylglycerides, total cholesterol, and HDL-cholesterol) and saliva IL-6 were measured. By the χ^2 test and ANOVA or Kruskal-Wallis the clinical and anthropometric characteristics were compared and by the Mann-Whitney-U-Wilcoxon tests the IL-6 values were compared between groups. An age-stratified linear regression model was fitted to compared the values of IL-6 from the DM2+PD group against both groups, PD and DM2-PD.

Results. The participants from the DM2+PD group showed higher levels of saliva IL-6 concentrations (1.7 ± 4.5 pg/dL) than those in the PD (0.6 ± 2.1 pg/dL) and the DM2+PD (1.4 ± 1.7 pg/dL) groups. In addition, patients with obesity and DM2+PD showed higher values of IL-6 (1.2 ± 3.3 pg/dL, range=0-11.4) than those with no DM2-PD with obesity (3.3 ± 0.9 pg/dL, range=0-4.2; $p=0.027$). By a lineal regression analysis adjusted by sex, BMI

and HDL cholesterol, the values of IL-6 were higher in the 39-60 year-old DM2+PD participants than in the PD group ($\beta=3.03$, IC95%: 0.172, 5.899); when including other co-variables, this relationship was not significant.

Conclusions. IL-6 saliva concentrations were higher in 39-60 year-old adults with DM2 and PD than in those with only PD. These results suggest a relationship between DM2 and DP with a chronic inflammatory situation.

Key words. Diabetes mellitus type 2, interleukine-6, periodontal disease, saliva, body mass index.

7.1.5. Antecedentes

Background

Periodontal disease (PD) is an inflammatory condition which affects tissues which support the teeth (gums, periodontal ligament and alveolar bone). This pathology results from the interaction between the defense mechanisms of the organism, microbial agents, environmental, and genetic factors as well. Starting with the bacterial pathogen colonization in the oral cavity and the initial defense mechanisms from the innate immune system [1-9]. As a result, the receptors from epithelial cells in the oral mucosa in charge of recognizing some of the microbial components, induce the synthesis of tissue adhesion molecules and pro-inflammatory cytokine production, such as the interleukine-6 (IL-6), interleukine-1 (IL-1), and the tumorous necrosis factor alpha (TNF- α) [2,4,6,10,11]. Recent research showed that the increase in the synthesis and release of these inflammatory cytokines play a role in the destruction of the periodontal tissue at the local level [12], developing a low grade inflammatory state [8, 13-17] by the mediators synthetised at the periodontal level. Jagannathachary and Kamaraj [18] refer that pro-inflammatory cytokines, such as IL-6 can have a close relationship between periodontitis, obesity, and chronic diseases.

IL-6 is produced by macrophages, adipocytes and other sources, including skeletal muscle, fibroblasts and endothelial cells [8-16, 19-23], being a systemic regulator of body weight and lipid metabolism. A relationship of IL-6 with obesity and insulin resistance has been observed, however, it is not yet clear if IL-6 has a damaging or protective role [3, 24].

DM2 is a chronic metabolic disorder which affects more than 100 million people all around the world. In Mexico, the National Health and Nutrition Survey (ENSANUT) 2012 reports an increase in 50-59 year-old men and women in comparison to the ENSANUT 2006 [21, 25-26]. Oral health in DM2 patients causes complications such as xerostomia (dry mouth),

tooth-loss, gingivitis, periodontitis, and dental abscesses, as well as tongue and mucus lesions [27-29]. PD appears more frequently and is more dangerous in patients with DM2, although in its early stages it does not produce any symptoms, making it more difficult to be diagnosed and treat adequately [9, 19, 30-32].

Referring to IL-6 values in adults with PD and DM2, the results in international research are inconsistent, reporting values either higher [33,34], as well as lower [35] in adults with PD and DM2 in relation to adults without DM2. For example, Monea *et al.* [33] demonstrated higher concentrations of saliva IL-6 in adults with DM2 and PD in comparison with adults without DM2 with PD. It is important to highlight that the amount of research is very limited, and nowadays there still does not exist information from Mexico about the topic.

On the other hand, currently, the diagnosis and tracking of PD is done only by clinical exploration, resulting helpful to increase research of saliva PD biomarkers to help its early diagnosis and therapeutic follow-up tracking in patients with DM2. The aim of the research was to determine saliva IL-6 concentrations in adults with PD with and without DM2.

7.1.6 Método

Methods

Design and participants

It was a descriptive and cross-sectional research. We chose adults from Toluca city, State of Mexico, Mexico and the surrounding area, who came during 2015 to medical services given by the State of Mexico's Government at the Instituto de Salud del Estado de México (ISEM) and the Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED) from the Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM); which gives medical attention to students and UAEM's workers and open population.

We included 20-60 year-old adults, any gender, with or without PD, patients with at least 6 months of DM2 diagnosis and healthy subjects. Individuals with metabolic syndrome, toothless, with xerostomia, with orthodontic treatment, pregnant or breast-feeding women were excluded.

From a total of 125 adults who had the inclusion criteria and who accepted to take part in the project, 45 had DM2. 30 participants with DM2 who did not present this disease were randomly selected. Clinical and dental histories were evaluated and the participants were divided into three research groups: 30 with DM2 and PD (DM+PD), 30 with PD without DM2 (PD) and 30 without DM2 and without PD (without DM2-PD). The following variables were considered: deepness of the periodontal bag, IL-6 saliva concentrations, age, gender, tobacco and alcoholic beverage consumption, body mass index (BMI), blood pressure, glucose, triacylglycerides, total cholesterol and HDL cholesterol.

The procedures of the research were accepted by the Research and Ethics Committee of CICMED-UAEM (CONBIOÉtica 15CEI01720131119).

Data collection

The adults who accepted to take part in the research were clearly explained the aims both, orally and in writing. After signing the informed consent, questionnaire was self-administered with the required information. The questionnaire included information such as: age, gender, and tobacco and alcoholic beverage consumption. We considered an ex-smoker, anyone who referred having smoked 100 or more cigarettes and not currently smoking, and as a smoker, anyone smoking at least one cigarette per day. Alcoholic consumption was registered as positive when the participant referred drinking 3 or more alcoholic beverages per week.

Having answered the questionnaire, there were individual meetings with each participant in the CICMED-UAEM outpatient clinic in order to obtain anthropometric measurements, saliva samples, the periodontal evaluation, and blood samples. All the measurements were obtained by dentist surgeons and qualified nurses with standardized techniques [36].

The participants were asked not to wash their mouth previous to the sample and just mouthwash with bio-distilled water three minutes previous to it. 10 ml of saliva were collected without stimulating in a sterile tube (DS Vacutainer®). The sample was centrifuged for 10 minutes at 10,000 rpm (Eppendorf, AG- 5804R) at -4°C. The supernatant was retired and kept in a new micro-tube made of polypropylene (Eppendorf®). All the samples were kept at -70°C until processed (Ultra congelador - ThermoScientific, Forma 900 Series). IL-6 in saliva was determined by ELISA (BioVendor RBMS213/2R) according to the manufacturer's instructions.

During the periodontal evaluation, the patient was taken into the dental office, sitting with his/her head leaning back. The mouth was divided into sextants considering the WHO recommendations [37] for mouth evaluation in research projects, helped by a number 5 mirror, and a sterile periodontal probe Goldman Fox (Hu-Friedy®). The probe was entered following the anatomical configuration of the dental root surface, evaluating the vestibular points, mesial-vestibule, distal-vestibule, palatine or lingual, mesial-palato, distal-palato, considering the following dental organs: 16, 17, 11, 26, 27, 36, 37, 31, 46, and 47.

Weight and height were measured, wearing light clothes and no shoes, using an SECA™ stadiometer to obtain height (model 1013522), and an electronic scale (Tanita model BC-533; Tokyo, Japan) for weight; with the data results, participants were classified taking into account their BMI as normal weight ($BMI \leq 24.9 \text{ Kg/m}^2$), overweight ($BMI = 25-30 \text{ Kg/m}^2$) or obesity ($\geq 30 \text{ Kg/m}^2$) [38]. Blood pressure was measured with an automatic digital monitor

(model CH 656C); three measurements were taken every two minutes and the average was registered.

Blood samples were collected with a fast of at least 12 hours, with no hard physical activity, no alcohol consumption, and following standard procedures. Five ml of venous blood was collected into a tube with a coagulating activator based on thrombin, (13 x 100 mm), 4 ml in an EDTA containing tube, following the recommended bio-safety measures. The samples were centrifuged and processed immediately to obtain glucose, triacylglycerides, total cholesterol, and HDL cholesterol concentrations by the ultra-sensible colorimetric method in an automatized equipment (Selectra II, Cat. GL1611, CH 198), and reactants from RANDOX™ (CH3811A y TR1695).

7.1.7. Análisis estadístico

Statistical analysis

Kolmogorov-Smirnov tests were made to evaluate the normality of the data distribution; IL-6 concentrations did not have a normal distribution. The descriptive statistic consisted in obtaining proportions for the categorical variables, as well as mean and standard deviations for the continuous variables. The clinical and socio-demographic characteristics were compared between the groups with χ^2 tests or exact Fisher's test for categorical variables and one-way ANOVA or Kruskal-Wallis for the continuous ones.

IL-6 concentrations were compared according to sociodemographic and clinical variables with the Mann-Whitney U-Wilcoxon test, which sums the ranges for independent samples. A stratified linear regression analysis was adjusted for age to compare IL-6 concentrations in DM2+PD group against the PD and the non DM2-PD groups, adjusted by the effect of the

BMI, gender, HDL-cholesterol concentrations, smoking and alcoholic beverage consumption. The differences with a p value <0.05 were considered significant. Data was analyzed with the statistical package STATA 9 [39].

7.1.7 Resultados

Results

The sample was formed by 90 adults, 69.0% women and 31% men, with an average age of 39.6 ± 12.1 years. The average value of IL-6 concentrations was 1.2 ± 3.0 pg/mL and the deepness of the periodontal probe was 3.6 ± 1.4 mm. In average, the time of evolution of DM2 in the DM2+EP was 6.0 ± 4.4 years (data not shown). Most of the participants had overweight and obesity (68.8%) and low concentrations of HDL- cholesterol (76.4%) (Table 1).

The analysis of clinic and anthropometric characteristics (Table 2) in the research groups showed that most of the participants from the DM2+PD (90.0%) were older (39-60 years old). Also the DM2+PD group showed more presence of obesity, more depth of probe and higher levels of IL-6 than the other groups. On the other hand, the adults from the DP group showed lower concentrations of HDL cholesterol (93.3%). In the non DM2-PD group the proportion of adults who considered themselves as ex-smokers or current smokers and consuming alcoholic beverages were higher.

Table 3 shows the comparison of IL-6 concentrations between the DM2+PD and the PD groups, as well as in the DM2+PD and non-DM2-PD groups according to clinical and anthropometric characteristics of the participants. The IL-6 concentrations were significantly higher in the obese participants from the DM2+PD group (1.2 ± 3.3 pg/mL, range = 0-11.4) than in those with obesity in the non DM2-PD group (3.3 ± 0.9 pg/mL, range = 0-4.2).

Table 4 shows results of the comparison of IL-6 concentrations between the DM2+PD and the PD groups, and between the DM2+PD and the non-DM2+PD with crude and adjusted linear regression analysis, stratified by age. Comparing with the PD group as referent, the individuals from the 39-60 year-old DM2+PD group had higher values of IL-6 ($\beta = 2.62$, IC95%: 0.142-5.098), after adjusting by a gender, BMI and HDL-cholesterol, however, after adjusting for the effect of age, smoking and consumption of alcoholic beverages in addition to the mentioned variables above, statistical significance was not maintained.

7.1.8. Discusión

Discussion

The results show that the concentration of saliva IL-6 in adults with DM2 and PD are higher than in the individuals without these pathologies or in those having only PD. IL-6 was higher in the 39-60 year-old participants with DM2 and PD than in those with PD alone. No difference was found in the saliva IL-6 values of 22-39 year-old participants between groups. Nowadays there is little research with respect to saliva IL-6 concentrations in adults with DM and PD, the results cannot be compared with many studies. However, these results coincide with the ones reported by researchers like Monea *et al.* [33], who obtained higher values of IL-6 concentration in the saliva from adults with DM2 and PD, than those without these conditions. Similarly, Kosaka *et al.* [34] reported high concentrations of IL-6 related to the periodontal condition of the patients; showing that the IL-6 concentrations in saliva can be useful markers of PD. In addition, higher levels of serum IL-6 from adults with DM2 have been found in comparison with those without DM2 [40], as well as higher saliva values in adults with PD than in adults without it [41].

In contrast with these results, Mohamed *et al.* [35], did not find any evidence to support the relationship between the increase of IL-6 and PD in patients with DM2; IL-6 concentrations in the crevicular liquid of individuals with DM2 and without chronic periodontitis, were higher than in subjects with CP. It is possible that this difference can be caused by the DM2 time evolution of the patients ($\bar{x} = 9.6 \pm 1.7$ years old) than the ones in our research with DM2 and PD ($\bar{x} = 6.0 \pm 4.4$ years).

In relation to the pro-inflammatory cytokine function in the development of chronic diseases such as diabetes and PD, recent research has shown that inflammation is an important factor in the pathogenesis of DM2 [42] and that the inflammatory cytokines such as IL-6, IL1 and TNF- α promote insulin resistance [43]. The resulting hyperglycemia causes a systemic inflammatory condition, releasing more cytokines, which in addition to starting an inflammatory condition; it can also reduce the healing capacity of the tissue.

In this research, IL-6 concentrations were lower in the individuals with PD alone in comparison with the ones who also have DM2, confirming that in Mexican population, there is a strong evidence with respect to the bi-directional relationship between diabetes mellitus and periodontal inflammatory disease. In this respect, authors like Stanko and Izakovicova [44] refer that diabetes mellitus increases the risk and severity of periodontitis, whereas periodontal disease can increase insulin resistance affecting the glycemic control of patients. With regard to body weight, subjects with obesity, DM2 and PD, showed higher values of IL-6 (1.2 ± 3.3 pg/mL, range 0-11.4) than those with obesity alone (3.3 ± 0.9 pg/mL, range 0-4.2) (Table 3). This is possibly because in addition to not presenting these chronic diseases, most of them (86.7%) were younger than 39 years, so the systemic inflammatory condition and related pathologies are still in their incipient phase. This result suggests that obesity

promotes the systemic inflammatory condition, contributing to the development and progression of diseases such as diabetes mellitus and PD. Gocke *et al.* [45] found a relationship between periodontal disease and abdominal obesity, concluding that this can be caused by the pro-inflammatory pathways that both pathologies have in common. Also Khosravi *et al.* [46], report higher IL-6 concentrations in patients with obesity and DM2, additional to a higher risk of PD than in those without DM2. It is currently known that adipose tissue is an energy storage as well as an endocrine tissue, which produces a variety of adipokynes, including resistin, adiponectin, TNF- α , IL-6 and MCP-1[47]; an increase in the production of these adipokynes contributes to the physiopathology of insulin resistance and obesity.

On the other hand, an important aspect to be considered in subclinical inflammation and the pathogeny of chronic diseases is the age of the individuals. It has been observed that most diseases related with the age share inflammatory processes. In this research, by a regression model, we obtained that independently from gender, BMI and HDL-cholesterol, 39-60 year-old individuals with DM2 and PD had higher IL-6 concentrations than those with only PD. This result suggests that low-grade inflammation is an important risk factor in patients at higher age groups. According to recent research there is a relationship between low-grade inflammation and tissue ageing, as well as a great number of diseases related with age, such as cardiovascular diseases, DM2 and PD, among others [49]. As part of the deterioration of the immune system related with the age, there is a pro-inflammatory chronic condition named “inflammaging” [50], one of the most important characteristics in this stage is the high levels of pro-inflammatory cytokine IL-6 [51]. The increase in the vulnerability to systemic inflammation as a result of age is due, mainly to an increased production of IL-6 by adipose tissue, according to Gómez *et al.* [49]

This research presents some limitations. In first place, the cross-sectional design does not allow to infer causality. Secondly, the participants in the DM2+PD group were older than the ones in the PD alone and the non-DM2-PD groups; and in relation with the pro-inflammatory cytokine, it was expected that older individuals should have higher concentrations because of the periodontal condition, but no patients were found without any of the pathologies as in the patients with DM2 at the same age. Finally, currently there is no research evaluating saliva IL-6 concentrations in the Mexican population, which made it difficult to compare our results with those of other studies in México.

7.1.8 Conclusiones

Conclusions

IL-6 concentrations were higher in 39-60 years-old adults with DM2 and PD than in those presenting only PD at the same age group. These results suggest a relationship between DM2 and PD with chronic inflammatory conditions.

Nowadays there is no biological ideal marker that can be evaluated to detect periodontal disease, neither its progress, which could be helpful in the clinical practice; as periodontal disease can appear asymptotically until an advanced stage. Furthermore, the method to determine inflammation markers in saliva has some advantages over other techniques because they are noninvasive. Finally, there is a huge need of more research to evaluate the IL-6 concentration in the evolution of both, DM2 and PD diseases.

Abbreviations

PD: Periodontal disease; DM2: type 2 diabetes mellitus ; IL-6 interleukine-6; IL-1: interleukine-1; TNF- α : tumorous necrosis factor alpha; ENSANUT: National Health and

Nutrition Survey ; ISEM: Instituto de Salud del Estado de México ; CICMED: Centro de Investigación en Ciencias Médicas; UAEM: Universidad Autónoma del Estado de México ; BMI: body mass index; WHO: World Health Organization; ELISA: Enzyme – Linked ImmunoSorbent Assay.

Competing interests.

The authors confirm that this article presents no competing interest.

Author's 'contributions

PC, BH and DG carried out the conception and design of the study, the analysis and the interpretation of the data and drafted the discussion. MV, GV and JS drafted the article, and MF approved the final version to be published. All authors reviewed and approved the final version of the manuscript.

7.1.9 Agradecimientos

Acknowledgements

This work was funded by UAEM. This is part of DGGL master's dissertation, supported by the National Council of Science and Technology (CONACyT).

The authors wish to thank Q.F.B Alicia Lucero Peña Martínez, responsible of the Laboratorio de Análisis Bioquímico Clínico del CICMED-UAEM and to L.N. María Vianney Ortiz Pacheco responsible of the nutrition area in CICMED-UAEM.

Authors' details

¹ Master Degree in Health Science, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México.² Centro de Investigación en Ciencias Médicas, Universidad Autónoma del Estado

de México.³ Institute for Health Metrics and Evaluation, Washington University.⁴ Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.

7.1.10 Referencias Bibliográficas

References

1. Barnes VM, Kennedy AD, Panagakos F, Devizio W, Trivedi HM, et al. Global metabolic analysis of human saliva and plasma from healthy and diabetic subjects, with and without periodontal disease. *Plos ONE*. 2014; 9 (8): 1-8.
2. Kuo LC, Polson AM, Kang T. Associations between periodontal diseases and systemic diseases: a review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. *Public Health*. 2008; 122(4):417-33.
3. Nurdan O. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta*. 2004; 334:1-16.
4. Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2009; 51: 29-37.
5. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. A review. *J Clin Periodontol*. 2000; 27: 453.
6. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000*. 2009; 50: 52-64.
7. Palm F, Lahdentausta L, Sorsa T, Tervahartiala T, Gokel P, et al. Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study. *Innate Immun*. 2014; 20(5): 511-518.

8. Khosravi R, Ka K, Huang T, Khalili S, Nguyen BH. Tumor necrosis factor- α and interleukin-6: potential interorgan inflammatory mediators contributing to destructive periodontal disease in obesity or metabolic syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013;1-6
9. Saremi A, Nelson RG, Tulloch-Reid M, Hanson RL, Sievers ML, et al. Periodontal disease and mortality in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28: 27-32.
10. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 57-67.
11. Preshaw PM. Periodontal disease and diabetes. *J Dent.* 2009; 37: S575-S577.
12. Saxlin T, Suominen-Taipale L, Leiviskä J, Jula A, Knuutila M, Ylöstalo P. Role of serum cytokines tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the association between body weight and periodontal infection. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 100-105.
13. Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev.* 2011; 12: 381-404.
14. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016; 70: 26-37
15. Nibal L, Fedele S, D'Aiut F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.* 201; 18: 236-243.
16. Fonseca JE, Santos MJ, Canhão H, Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmune Rev.* 2009; 8: 538-542.
17. Ross JH, Hardy DC, Schuyler CA, Slate EH, Mize TW. Expression of periodontal interleukin-6 protein is increased across patients with neither periodontal disease nor diabetes, patients with periodontal disease alone and patients with both diseases. *J Periodontal Res.* 2010; 45: 688-694.

18. Jagannathachary S, Kamaraj D. Obesity and periodontal disease. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2010; 14:96-100. 8.
19. Chee B, Park B, Bartold M. Periodontitis and type II diabetes: a two-way relationship. *Int J Evid Based Health*. 2013; 11: 317-329.
20. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley R. Circulating Interleukin -6 in relation to adiposity, insulin action and insulin secretion. *Obes Res*. 2001; 9: 414-417.
21. Pickup JC, Crook MA. Is Type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. 1998; 41: 1241-1248.
22. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001; 286:327-34
23. Heinrich P, Behrmann I, Haan S, Hermanns H, Muller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signaling and its regulation. *Biochem J*. 2003; 374: 1-20.
24. Sindhu S, Thomas R, Shihab P, Sriraman D, Behbehani K, Ahmad R. Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. Stover CM, ed. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0133494
25. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999; 104: 787-794.
26. Publica INdS. Encuesta Nacional de Salud. [Online]; 2012. [Cited 2014 September 30]. Available from: ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf
27. Dodds MW, Yeh CK, Jhonson DA. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2000; 28: 373-381.

28. Radhika T, Ranganathan K. Periodontal health in type 2 diabetics. *J Dr NTR Univ Health Sci.* 2014; 3: 37-42.
29. Ramesh A, Thomas B, Anand A, Kumari S. Comparative evaluation of myeloperoxidase levels among systematically healthy individuals and patient with type 3 Diabetes Mellitus, with chronic periodontitis- A biochemical study. *JSPIK.*2010; 4: 15-17.
30. Demmer RT, Jacobs DR Jr, Singh R, Zuk A, Rosenbaum M. Periodontal Bacteria and Prediabetes Prevalence in ORIGINS: The Oral Infections, Glucose Intolerance, and Insulin Resistance Study. *J Dent Res.* 2015; 94: 201S-211S
31. Lazenby MG, Crook MA. The innate immune system and diabetes mellitus: the relevance of periodontitis? A hypothesis. *Clin Sci (Lond).* 2010; 119: 423-429.
32. Lee HK, Choi SH, Won KC, Merchant AT, Song KB, et al. The effect of intensive oral hygiene care on gingivitis and periodontal destruction in type 2 diabetic patients. *Yonsei Med J.* 2009; 50: 529-536.
33. Monea A, Gruber R, Elod N, Beresescu G, Moldovan C, Monea M. Saliva and serum levels of TNF- α and IL-6 in a sample of Romania adult subjects with type 2 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *ESJ.* 2014; 10: 350-359.
34. Kosaka T, Kokubo Y, Ono T, Sekine S, Kida M, et al. Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study. *Atherosclerosis.* 2014; 237: 123-128.
35. Mohamed HG, Idris SB, Ahmed MF, Åstrøm AN, Mustafa K, *et-al.* Influence of type 2 diabetes on local production of inflammatory molecules in adults with and without chronic periodontitis: a cross-sectional study. *BMC Oral Health.* 2015; 15: 86.
36. Lohman TG, Roche F, Martorell R: Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: Human Kinetics, Publishers; 1988.

37. World Health Organization. Oral Health Surveys, Basic methods, 2013. 5ed. France.
38. Organización Mundial de la Salud: Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. Ginebra (Suiza): Organización Mundial de la Salud, 2004.
39. StataCorp. Stata Statistical Software: Release 9 StataCorp LP. TX, USA: College Station; 2005.
40. Guadarrama-López AL, Valdés-Ramos R, Kaufer-Horwitz M, Harbige LS, Contreras I, Martínez-Carrillo BE. Relationship between Fatty Acid Habitual Intake and Early Inflammation Biomarkers in Individuals with and without Type 2 Diabetes in Mexico. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015; 15: 234-241.
41. Ebersole JL, Schuster JL, Stevens J, Dawson D, Kryscio RJ, et-al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *J Clin Immunol*. 2013; 33:271-279.
42. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11: 98-107.
43. Cai D, Yuan M, Frantz D, Melendez P, Hansen L, Lee J, Shoelson S. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med*. 2005; 11:183-190.
44. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. A review, *Biomed Pap Univ Palacky Olomouc Czech Repub, Olomouc, Czechoslovakia*. 2014; 158: 35-38.
45. Gocke C, Holtfreter B, Meisel P, Grotevendt A, Jablonowski L, et-al. Abdominal obesity modifies long-term associations between periodontitis and markers of systemic inflammation. *Atherosclerosis*. 2014; 235: 351-357.

46. Khosravi R, Ka K, Huang T, Khalili S, Nguyen BH, et al. Tumor necrosis factor- α and interleukin-6: potential interorgan inflammatory mediators contributing to destructive periodontal disease in obesity or metabolic syndrome. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013:728987. doi: 10.1155/2013/728987. Epub 2013 Aug 28.
47. Waki H and Tontonoz P (2007). Endocrine functions of adipose tissue. *Annu Rev Pathol.* 2007; 2: 31–56.
48. Kahn BB and Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000; 106: 473–481.
49. Gomez C, Karavitis J, Palmer J, Faunce D, Ramírez L, Nomellini V, Kovacs E. Interleukin-6 contributes to age-related alteration of cytokine production by macrophages. *Mediators of Inflammation.* 2010. doi:10.1155/2010/475139
50. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014 Jun;69 Suppl 1:S4-9. doi: 10.1093/gerona/glu057.
51. Ershler W, Keller E. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Ann Rev Med.* 2000; 51: 245-270.

7.1.11 Tablas

Table 1. Clinical and anthropometric characteristics of the study sample

| Characteristics | N | % |
|---|----------|----------|
| Age (years) | | |
| 22-38 | 47 | 52.2 |
| 39-60 | 43 | 47.8 |
| Gender | | |
| Female | 62 | 69.0 |
| Male | 28 | 31.0 |
| Smoking status | | |
| Non smokers | 49 | 54.4 |
| Former and current smokers | 41 | 45.6 |
| Alcohol consumption | | |
| Never | 40 | 44.4 |
| Current consumer | 50 | 55.6 |
| Body mass index, kg/m ² | | |
| < 25 (normal weight) | 28 | 31.2 |
| 25-30 (overweight) | 38 | 42.2 |
| ≥ 30 (obesity) | 24 | 26.6 |
| High blood pressure (≥130/85 mmHg) | 11 | 12.2 |
| High triacylglycerides (>150 mg/dL) | 44 | 48.9 |
| High total cholesterol (> 200 mg/dL) | 33 | 36.6 |
| Low HDL-chol (< 45 mg/dL men, < 50 mg/dL women) | 68 | 76.4 |
| | Mean | DS |
| Probing depth, mm | 3.6 | 1.4 |
| Glucose, mg/dL | 120.0 | 60.3 |
| IL6, pg/mL | 1.2 | 3.0 |

Table 2. Clinical and anthropometric characteristics by study groups

| Characteristics | Groups | | | p* |
|---|----------------------|------------------|--------------------------|--------------|
| | DM2+PD n=30 n (%) | PD n=30 n (%) | non DM2-PD n=30 n (%) | |
| Age (years) | | | | |
| 22-38 | 3 (10.0) | 18 (60.0) | 26 (86.7) | < 0.001 |
| 39-60 | 27 (90.0) | 12 (40.0) | 4 (13.3) | |
| Gender | | | | |
| Female | 24 (80.0) | 16 (53.3) | 22 (73.3) | 0.067 |
| Male | 6 (20.0) | 14 (46.7) | 8 (26.7) | |
| Smoking status | | | | |
| Non smokers | 25 (83.3) | 12 (40.0) | 12 (40.0) | 0.001 |
| Former and current smokers | 5 (16.7) | 12 (60.0) | 18 (60.0) | |
| Alcohol consumption | | | | |
| Never | 22 (73.3) | 12 (40.0) | 7 (23.3) | < 0.001 |
| Current consumer | 8 (26.7) | 18 (60.0) | 23 (76.7) | |
| Body mass index, kg/m ² | | | | |
| < 25 (normal weight) | 5 (16.7) | 4 (13.3) | 19 (63.3) | < 0.001 |
| 25-30 (overweight) | 12 (40.0) | 18 (60.0) | 8 (26.7) | 0.031 |
| ≥ 30 (obesity) | 13 (43.3) | 8 (26.7) | 3 (10.0) | 0.014 |
| High blood pressure (≥130/85 mmHg) | 11 (38.0) | 10 (35.7) | 12 (40.0) | 0.945 |
| High triacylglycerides (>150 mg/dL) | 14 (46.7) | 19 (63.3) | 11 (36.7) | 0.113 |
| High total cholesterol (> 200 mg/dL) | 16 (53.3) | 9 (30.0) | 8 (26.7) | 0.065 |
| Low HDL-chol (<45 mg/dL men, <50 mg/dL women) | 21 (72.4) | 28 (93.3) | 19 (63.3) | 0.020 |
| | Mean ± DS | Mean ± DS | Mean ± DS | |
| Probing depth, mm | 4.4±1.4 | 4.4±1.0 | 2.1±0.4 | < 0.001** |
| Glucose, mg/dL | 178.6±74.6 | 95.5±13.1 | 85.9±7.8 | < 0.001** |
| IL6, pg/mL, (rank) | 1.7±4.5 (0-20.9) | 0.6±2.1 (0-11.8) | 1.4±1.7 (0-4.2) | 0.044*** |

DM2 = Type 2 Diabetes Mellitus; PD = Periodontal Disease

*Chi² test or Fisher's exact test as appropriate

**One Way Anova

***Kruskal Wallis test

Table 3. Comparison of IL-6 concentrations between the DM-PD, PD and healthy groups according to clinical and anthropometric characteristics

| Characteristics | IL-6 levels (pg/mL) | | | | |
|------------------------------------|---------------------|------------------|----------|-------------------|-------------|
| | DM2+PD (n=30) | PD (n=30) | ρ^* | non DM2-PD (n=30) | ρ^{**} |
| | Mean±SD (range) | Mean±SD (range) | | Mean±SD (range) | |
| Age (years) | | | | | |
| 22-38 | 0±0 (0-0) | 0.9±2.7 (0-11.8) | 0.313 | 1.5±1.7 (0-4.2) | 0.125 |
| 39-60 | 1.9±4.7 (0-20.9) | 0.0±0.1 (0-0.5) | 0.246 | 0.9±1.8 (0-3.6) | 0.967 |
| Gender | | | | | |
| Female | 0.8±2.2 (0-8.9) | 0.3±0.7 (0-2.8) | 0.751 | 1.5±1.7 (0-4.2) | 0.054 |
| Male | 5.3±8.8 (0-20.9) | 0.8±3.1 (0-11.8) | 0.288 | 1.2±8.8 (0-4.1) | 0.763 |
| Smoking status | | | | | |
| Non smokers | 2.0±4.9 (0-20.9) | 0.3±0.8 (0-2.8) | 0.635 | 0.9±1.6 (0-4) | 1.000 |
| Former and current smokers | 0.6±1.3 (0-3) | 0.8±2.7 (0-11.8) | 1.000 | 1.8±1.7 (0-4.2) | 0.123 |
| Alcoholic consumption | | | | | |
| Never | 1.4±3.1 (0-11.4) | 0.3±0.8 (0-2.8) | 0.507 | 0.6±1.5 (0-4.2) | 0.564 |
| Current consumer | 2.6±7.3 (0-20.9) | 0.8±2.7 (0-11.8) | 0.686 | 1.6±1.7 (0-4.1) | 0.093 |
| Body mass index, kg/m ² | | | | | |
| < 25 (normal weight) | 5.0±9.0 (0-20.9) | 2.9±5.9 (0-11.8) | 0.662 | 1.2±1.6 (0-4.1) | 0.578 |
| 25-30 (overweight) | 0.9±2.6 (0-8.9) | 0.1±0.2 (0-0.9) | 0.844 | 1.3±1.8 (0-4.1) | 0.361 |
| ≥ 30 (obesity) | 1.2±3.3 (0-11.4) | 0.5±1.0 (0-2.8) | 0.751 | 3.3±0.9 (0-4.2) | 0.027 |
| High blood pressure (≥130/85 mmHg) | 1.8±4.1 (0-11.4) | 1.2±3.7 (0-11.8) | 0.918 | 1.8±1.6 (0-4.1) | 0.102 |

| | | | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-----------------|-------|
| High triacylglycerides levels (>150 mg/dL) | 2.6±6.1 (0-20.9) | 0±0.2 (0-0.8) | 0.307 | 1.6±1.9 (0-4.2) | 0.467 |
| High total cholesterol level (> 200 mg/dL) | 3.0±5.9 (0-20.9) | 1.4±3.8 (0-11.8) | 0.891 | 2.0±1.8 (0-4.1) | 0.472 |
| Low HDL-chol level (<45 men, <50 women mg/dL) | 1.1±3.0 (0-11.4) | 0.6±2.2 (0-11.8) | 0.599 | 1.5±1.9 (0-4.2) | 0.111 |

*Comparison between diabetes mellitus periodontal disease (DM-PD) group and periodontal disease (PD) group was done with Mann-Whitney U-Wilcoxon rank-sum tests for independent samples.

**Comparison between diabetes mellitus- periodontal disease (DM-PD) group and healthy was done with Mann-Whitney U–Wilcoxon rank-sum tests for independent samples.

Table 4. Linear regression analysis to evaluate IL-6 concentrations in DM2+PD contrasting groups, by age

| Group | N | <i>Crude analysis</i> | | | <i>Model I adjusted by Gender, IMC, HDL</i> | | | <i>Model II adjusted by I plus age, smoking status, alcohol consume</i> | | |
|--------------------|----|-----------------------|---------|-----------------|---|---------|-----------------|---|---------|------------------|
| | | Constant | β | (95% CI) | Constant | β | (95% CI) | Constant | β | (95% CI) |
| All | | | | | | | | | | |
| PD (ref.) | 30 | 0.60 | 1.18 | (-0.670, 3.030) | 2.87 | 1.66 | (-0.199, 3.534) | 2.71 | 0.978 | (-1.416, 3.373) |
| Non DM2-PD (ref.) | 30 | 1.44 | 0.34 | (-1.434, 2.127) | 1.50 | 0.53 | (-1.387, 2.467) | -4.92 | -2.06 | (-5.220, 1.100) |
| Age (years) | | | | | | | | | | |
| 22 – 38 | | | | | | | | | | |
| PD (ref.) | 18 | 0.98 | -0.98 | (-4.437, 2.471) | 1.80 | -0.63 | (-4.107, 2.829) | -0.06 | -0.45 | (-4.246, 3.336) |
| Non DM2-PD (ref.) | 26 | 1.52 | -1.52 | (-3.597, 0.551) | -2.38 | -2.71 | (-4.716,-0.722) | -6.41 | -2.16 | (-3.974, -0.346) |
| 39 – 60 | | | | | | | | | | |
| PD (ref.) | 12 | 0.04 | 1.94 | (-0.870, 4.757) | 2.65 | 3.03 | (0.172, 5.899) | 4.46 | 2.32 | (-0.833, 5.491) |
| Non DM2-PD (ref.) | 4 | 0.90 | 1.08 | (-3.909, 6.079) | 5.70 | 1.80 | (-3.075, 6.681) | 6.41 | 0.66 | (-4.410, 5.740) |

Contrasting groups:

DM2+PD= diabetes mellitus type 2 and periodontal disease

PD= periodontal disease

No DM-PD= without diabetes mellitus type 2 and periodontal disease

Adjusted by BMI (continuous), gender, HDL (continuous), smoking status (non-smokers, former and current smokers) and alcohol consumption (never, current consumer)

7.2 Resultados adicionales

En la tabla 1, correspondiente a los sextantes de la arcada superior en el sextante de molar superior derecho, se presentó mayor prevalencia de la categoría sano en el grupo no DM2-EP, profundidad al sondeo de 3-5.5mm en el grupo EP, y profundidad de 6 o + mm de profundidad en el grupo DM2+EP. En el sextante correspondiente al órgano dentario central superior, el grupo no DM2-EP presentó mayor porcentaje en la categoría de sano, en el grupo con EP en profundidad al sondeo de 3-5.5 mm y el grupo DM2+EP presentó sangrado. En el sextante correspondiente al molar superior izquierdo el grupo con DM2+EP mostró mayor prevalencia en la categoría de sondeo de 3-5.5mm, de igual forma el grupo EP, observando lo contrario en el grupo no DM2-EP.

Tabla1. IPC arcada superior por grupos de estudio.

| | DM2+EP | EP | no DM2-EP | p < 0.05 |
|-------------------------------|---------------|-----------|------------------|--------------------|
| MOLAR SUPERIOR DERECHO | (%) | (%) | (%) | |
| Sano | 0.0 | 0.0 | 53.3 | <0.001 |
| Sangrado | 0.0 | 3.3 | 23.3 | 0.007 |
| Cálculo | 26.7 | 13.3 | 16.7 | 0.631 |
| 3-5.5mm | 43.3 | 60.0 | 3.3 | <0.001 |
| 6 o + mm | 30.0 | 23.3 | 0.0 | 0.001 |
| Excluido | 0.0 | 0.0 | 3.3 | 0.430 |
| CENTRAL SUPERIOR | | | | |
| Sano | 6.7 | 10.0 | 76.7 | <0.001 |
| Sangrado | 53.3 | 33.3 | 20.0 | 0.024 |
| Cálculo | 3.3 | 3.3 | 3.3 | 0.944 |
| 3-5.5mm | 16.7 | 40.0 | 0.0 | 0.009 |
| 6 o + mm | 10.0 | 10.0 | 0.0 | 0.074 |
| Excluido | 10.0 | 3.3 | 0.0 | 0.206 |
| | | | | |

| MOLAR SUPERIOR IZQUIERDO | | | | |
|-------------------------------------|------|------|------|--------|
| Sano | 0.0 | 0.0 | 50.0 | <0.001 |
| Sangrado | 0.0 | 3.3 | 26.7 | 0.003 |
| Cálculo | 20.0 | 13.3 | 23.3 | 0.940 |
| 3-5.5mm | 43.3 | 66.7 | 0.0 | <0.001 |
| 6 o + mm | 30.0 | 16.7 | 0.0 | 0.003 |
| Excluido | 6.7 | 0.0 | 0.0 | 0.181 |

En la Tabla 2. Correspondiente a los sextantes de la arcada inferior, correspondiente al sextante de molar inferior izquierdo el grupo DM2+EP presentó mayor prevalencia en la categoría de profundidad al sondeo de 3-5.5 mm, de igual forma el grupo EP, por lo contrario en el grupo no DM2-EP tiene una mayor prevalencia en la categoría de cálculo. Correspondiente al sextante del diente central inferior el grupo DM2+EP presentó mayor prevalencia en la categoría de profundidad al sondeo de 3-5.5mm, y los grupo EP y No DM2-EP pr mayor prevalencia en la categoría del cálculo. En el sextante inferior derecho el grupo DM2+EP mostró mayor prevalencia en la categoría de profundidad al sondeo de 3-5.5mm, de igual forma el grupo EP, el grupo No DM2-EP demostró mayor prevalencia en la categoría de cálculo.

Tabla 2. IPC arcada superior por grupos de estudio.

| | DM2+EP | EP | no DM2-EP | p < 0.05 |
|-------------------------------------|---------------|-----------|------------------|--------------------|
| MOLAR INFERIOR IZQUIERDO | (%) | (%) | (%) | |
| Sano | 0.0 | 0.0 | 30.0 | 0.001 |
| Sangrado | 0.0 | 0.0 | 16.7 | 0.012 |
| Cálculo | 30.0 | 30.0 | 50.0 | 0.268 |
| 3-5.5mm | 46.7 | 50.0 | 3.3 | <0.001 |
| 6 o + mm | 20.0 | 20.0 | 0.0 | 0.004 |
| Excluido | 3.3 | 0.0 | 0.0 | 0.430 |

| CENTRAL INFERIOR | | | | |
|------------------------------|------|------|------|--------|
| Sano | 3.3 | 0.0 | 40.0 | <0.001 |
| Sangrado | 3.3 | 3.3 | 6.7 | 0.839 |
| Cálculo | 33.3 | 46.7 | 53.3 | 0.131 |
| 3-5.5mm | 46.7 | 33.3 | 0.0 | <0.001 |
| 6 o + mm | 6.7 | 16.7 | 0.0 | 0.181 |
| Excluido | 6.7 | 0.0 | 0.0 | 0.181 |
| MOLAR INFERIO DERECHO | | | | |
| Sano | 0.0 | 0.0 | 30.0 | <0.001 |
| Sangrado | 0.0 | 0.0 | 20.0 | 0.004 |
| Cálculo | 20.0 | 36.7 | 50.0 | .0041 |
| 3-5.5mm | 46.7 | 40.0 | 0.0 | <0.001 |
| 6 o + mm | 23.3 | 20.0 | 0.0 | 0.016 |
| Excluido | 10.0 | 3.3 | 0.0 | 0.206 |

En la Tabla 3 se muestra el control glicémico de los pacientes con DM2, donde encontramos la mayoría de los pacientes se encuentran en un mal control, considerando los parámetros establecidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994.

Tabla 3. Control glicémico pacientes con DM2

| Control del paciente HbA1 | n | % |
|----------------------------------|----------|----------|
| Bueno <6.5%mg/dl | 6 | 6.7 |
| Regular 6.5-8%mg/dl | 2 | 2.2 |
| Malo >8%mg/dl | 22 | 24.4 |

8. Conclusiones Generales.

8.1. Conclusiones

Los datos de este estudio indican que las concentraciones salivales de IL-6 se presentaron incrementadas en los pacientes con DM2 con EP que en los individuos que solo presentaron EP, este resultado muestra la relación que existe entre la DM2 y la EP, siendo esta una de las complicaciones más importante a nivel bucal de los pacientes con DM2, así como la relación del estado inflamatorio entre la EP y la DM2. Hasta el momento no se ha identificado como tal un biomarcador salival en específico que ayude a la detección oportuna de la EP en los pacientes con DM2, considerando que la evaluación de saliva es una técnica no invasiva e innovadora.

Se encontró que en los pacientes con DM2 existe una mayor afectación a nivel periodontal tomando en cuenta los parámetros del IPC, donde los sextantes más afectados fueron los posteriores en ambas arcadas. Esto nos lleva a concluir que es importante el poder implementar una técnica preventiva de la EP para los pacientes con DM2 ya que la enfermedad periodontal es de tipo progresivo y es detectada en estadios ya avanzados.

El mal control glicémico del paciente con diabetes, contribuye al desarrollo de la EP, considerando que si esta es una complicación a nivel bucal se presenta de forma crónica en el paciente y complicando la salud bucal del paciente, es importante hacer hincapié en el paciente con DM2 que debe haber un control óptimo en sus concentraciones de glucosa .

8.2. Limitaciones

El presente estudio mostro ciertas limitaciones, entre ellas que es de tipo transversal, el cual el diseño no nos permite inferir causalidad, los participantes del grupo con DM2+EP eran de un parámetro de edad mayor a los otros, no fue posible identificar pacientes con DM2 sin EP. El uso del IPC nos limita a una evaluación clínica no a las necesidades del paciente. Por ultimo no encontramos estudios realizados en nuestro país, en el cual evaluaran las concentraciones salivales de IL-6, lo cual nos dificulta el poder comprar nuestro trabajo con población del mismo país.

8.3. Recomendaciones

Realizar una evaluación posterior al paciente, considerando el control glicémico y la condición periodontal subsecuente al tratamiento posiblemente realizado. Es importante la realización de estudios en población mexicana evaluando las concentraciones de IL-6 salival buscando su asociación con el tiempo de diagnóstico de la DM2. Especificar un biomarcador salival que ayude a la prevención de la EP en el paciente con DM2.

9. Referencias Bibliográficas

1. Barnes VM, Kennedy AD, Panagakos F, Devizio W, Trivedi HM, et al. Global metabolic analysis of human saliva and plasma from healthy and diabetic subjects, with and without periodontal disease. *PLoS ONE*. 2014; 9 (8):1-8.
2. Chee B, Park B, Bartold M. Periodontitis and type II diabetes : a two-way relationship. *Int J Evid Based Healthc*. 2013;11(4):317-29.
3. Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med*. 2009 ;46 (7): 914-21.
4. Preshaw PM. Periodontal disease and diabetes. *J Dent*. 2009 ;37 (8) :S575- S7.
5. Kuo LC, Polson AM, Kang T. Associations between periodontal diseases and systemic diseases: a review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. *Public Health*. 2008; 122 (4):417-33.
6. Nurdan O. Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta*. 2004; 334:1-16.
7. Zhang L, Henson BS, Camargo PM, Wong DT. The clinical value of salivary biomarkers for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2009 ; 51: 29-37.
8. Kaufman E, Lamster IB. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. A review. *J Clin Periodontol 2000*. 2000; 27: 453.
9. Ali J, Pramod K, Tahirn M, Ansari SH. Autoimmune responses in periodontal diseases. *Autoimmun Rev*. 2011;10:426-31.
10. Tobón-Arroyave SI, Jaramillo-González PE, Isaza-Guzmán DM. Correlation between salivary IL-1B levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol*. 2008; 53(4) :346-52.
11. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000*. 2009;50:52-64.
12. Palm F, Lahdentausta L, Sorsa T, Tervahartiala T, Gokel P, et al. Biomarkers of periodontitis and inflammation in ischemic stroke: A case-control study. *Innate Immun*. 2014; 20(5): 511-518.
13. Khosravi R, Ka K, Huang T, Khalili S, Nguyen BH, Tumor necrosis factor- α and interleukin-6: potential interorgan inflammatory mediators contributing to destructive periodontal disease in obesity or metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*. 2013:1-6
14. Saremi A, Nelson RG, Tulloch-Reid M, Hanson RL, Sievers ML, et al. Periodontal disease and mortality in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28(1):27-32.

15. Jiménez MC, Sanders AE, Mauriello SM, Kaste LM, Beck JD. Prevalence of periodontitis according to Hispanic or Latino background among study participants of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *J Am Dent Assoc.* 2014;145(8):805-16.
16. Pública INdS. Perfil Epidemiológico de la Salud Bucal en México 2010. .[Online]; 2012.[cited 2014septiembre 24].Avalible from:
<http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/infoepid/publicaciones2011.html>
17. Bongartz T, Kudva Y. Can treatment of chronic inflammatory diseases reduce the risk of diabetes mellitus? *JAMA.* 2011;305(24):2573-4.
18. Ali J, Pramod K, Tahir MA, Ansari SH. Autoimmune responses in periodontal diseases. *Autoimmun Rev.* 2011 May;10(7):426-31
19. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley R. Circulating Interleukin -6 in relation to adiposity, insulin action and insulin secretion. *Obes Res.* 2001;9 (7): 414-7.
20. Monea A, Gruber R, Elod N, Beresescu G, Moldovan C, Monea M. Saliva and serum levels of TNF- α and IL-6 in a simple of Romania adult subjects with type 2 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. *ESJ.* 2014;10(9):350-9.
21. World Health Organization. Oral Health Surveys, Basic methods, 2013. 5ed. France.
22. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *Int J Infect Dis.* 2010 Mar;14(3):e184-
23. Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2016 ;70(1):26-37
24. Kosaka T, Kokubo Y, Ono T, Sekine S, Kida M, et al. Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study. *Atherosclerosis.* 2014 ;237(1):123-8
25. Sherrington EJ, Jeffery NM, Calder PC. The effect of feeding diets with different n-6/n-3 fatty acids ratios on adipose tissue of deposition in the rat. *Biochem Soc Trans.* 1996;24(2):160S.
26. Publica INdS. Encuesta Nacional de Salud.[Online]; 2012.[cited 2014 septiembre 30]. Avalible from: ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf
27. Pickup JC, Crook MA. Is Type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia.* 1998;41(10):1241-8.
28. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1999;104(6):787-94.

29. Heideman WH, Nierkens V, Stronks K, Middelkoop BJ, Twisk JW, et al. . DiAlert: a lifestyle education programme aimed at people with a positive family history of type 2 diabetes and overweight, study protocol of a randomised controlled trial. *BMC Public Health*. 2011;11(751):1-9
30. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2003 ;46 (1):3-19.
31. Mandrup-Poulsen T. Type 2 diabetes mellitus: a metabolic autoinflammatory disease. *Dermatol Clin*. 2013 ;31 (3): 495-506
32. Tébar-Massó . *La Diabetes en la Práctica Clínica*. Ed. Panamericana. Madrid, España. 2009.
33. Haeften TW, Pimenta W, Mitrakou A, Korytkowski M, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, et al. Disturbances in beta-cell function in impaired fasting glycemia. *Diabetes*. 2002;51(1):S265–S70.
34. Laybutt DR, Preston AM, Akerfeldt MC, Kench JG, Busch AK, Biankin AV, et al. Endoplasmic reticulum stress contributes to beta cell apoptosis in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2007;50(4):752-63.
35. Scheen AJ, Paquot N, Lefebvre PJ. Glucotoxicity and lipotoxicity, two implicated accomplices in the vicious circle of type 2 diabetes. *Rev Med Liege*. 1999; 54 (6): 535-8.
36. Sivitz WI. Lipotoxicity and glucotoxicity in type 2 diabetes. Effects on development and progression. *Postgrad Med*. 2001;109 (4): 55-9, 63-4.
37. Poitout V, Robertson RP. Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes--a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002;143(2):339-42.
38. Executive summary: Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes Care*. 2012;35 :S4-S10.
39. Kim KS, Kim SK, Lee YK, Park SW, Cho YW. Diagnostic value of glycated haemoglobin HbA(1c) for the early detection of diabetes in high-risk subjects. *Diabet Med*. 2008 ;25(8):997-1000
40. Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Uchimura I, Izumiyama H, et al. Multi-center intervention study on glycohemoglobin (HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009 ;83(3):308-15
41. Bullo M, Garcia-Lorda P, Salas-Salvado J. Plasma soluble tumor necrosis factor alpha receptors and leptin levels in normal-weight and obese women: effect of adiposity and diabetes. *Eur J Endocrinol*. 2002;146(3):325-31
42. Crook M. Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update. *Diabet Med*. 2004;21(3) :203-7.

43. Mackay CR. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol.* 2001;2(2):95-101.
44. Liles WC, Van Voorhis WC. Nomenclature and biologic significance of cytokines involved in inflammation and the host immune response. *J Infect Dis.* 1995;172:1573-80.
45. Nibal L, Fedele S, D'Aiut F, Donos N. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.* 2012 ;18(3):236-43.
46. Fonseca JE, SantosMJ, Canhão H, Choy E. Interleukin-6 as a key player in systemic inflammation and joint destruction. *Autoimmun Rev.* 2009;8(7):538-42.
47. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.* 2001;18;286(3)
48. Hirano T, Kishimoto T. Interleukin -6: Posssible implications in human diseases. *Ric Clin Lab.* 1989;19(1):1-10.
49. Ross JH, Hardy DC, Schuyler CA, Slate EH, Mize TW. Expression of periodontal interleukin-6 protein is increased across patients with neither periodontal disease nor diabetes, patients with periodontal disease alone and patients with both diseases. *J Periodontal Res.* 2010 ;45(5):688-94.
50. Dodds MW, Yeh CK, Jhonson DA. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28(5):373-81.
51. Radhika T, Ranganathan K. Periodontal health in type 2 diabetics. *J Dr NTR Univ Health Sci.* 2014;3(5):37-42.
52. Ramesh A, Thomas B, Anand A, Kumari S. Comparative evaluation of mieloperoxidase levels amog sistematically healthy individuals and patiend with type 3 Diabetes Mellitus, with chronic periodontitis- A bichemical study. *JSPIK.*2010;4(1): 15-17
53. Dodds MW, Yeh CK, Johnson DA. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2000;28(5):373-54.
54. Mealey BL. Periodontal disease and diabetes. A two-way street. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(10):26S-31S.
55. Demmer RT, Jacobs DR Jr, Singh R, Zuk A, Rosenbaum M. Periodontal Bacteria and Prediabetes Prevalence in ORIGINS: The Oral Infections, Glucose Intolerance, and Insulin Resistance Study. *J Dent Res.* 2015;94(9):201S-11S
56. Lazenby MG, Crook MA. The innate immune system and diabetes mellitus: the relevance of periodontitis? A hypothesis. *Clin Sci (Lond).* 2010;119(10):423-9.

57. Lee HK, Choi SH, Won KC, Merchant AT, Song KB, et al. The effect of intensive oral hygiene care on gingivitis and periodontal destruction in type 2 diabetic patients. *Yonsei Med J.* 2009;50(4):529-36
58. Hanes PJ, Krishna R. Characteristics of inflammation common to both diabetes and periodontitis: are predictive diagnosis and targeted preventive measures possible?. *EPMA J.* 2010;1(1):101-16
59. Arrieta-Blanco JJ, Bartolomé Villar B, Jiménez Martínez E, Saavedra Vallejo P, Arrieta Blanco FJ. Problemas bucodentales en pacientes con diabetes mellitus (II): Índice gingival y enfermedad periodontal. *Med Oral.* 2003;8:233-47.
60. Ryan ME¹, Carnu O, Kamer A. The influence of diabetes on the periodontal tissues. *J Am Dent Assoc.* 2003;134:34S-40S.
61. The American Academy of Periodontology. Parameter on systemic conditions affected by periodontal diseases. American Academy of Periodontology. *J Periodontol.* 2000;71(5):880-3.
62. Taylor GW, Manz MC, Borgnakke WS. Diabetes, periodontal diseases, dental caries, and tooth loss: a review of the literature. *Compend Contin Educ Dent.* 2004 Mar;25(3):179-84
63. Gutiérrez-Hernández G, de la Cruz de la Cruz D, Hernández-Castillo L. Estado periodontal e higiene dental en diabéticos. *Salud en Tabasco* 2011;17:63-70. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48722325004>. Fecha de consulta: 11 de mayo de 2015.
64. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):99-112.
65. Gossi SG. Treatment of periodontal disease and control of diabetes: an assessment of the evidence and need for future research. *Ann Periodontol.* 2001;6(1):138-45.

10 . Anexos

10.1 Anexo 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICAS**



CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION

Proyecto de Investigación: **“Evaluación de las concentraciones salivales de IL-6 y MPO en pacientes con Enfermedad Periodontal en pacientes con y sin Diabetes Mellitus tipo 2”**.

Investigadores: E.OP Diana G. Guadarrama López, Dra. En C. S. Patricia Cerecero Aguirre (UAEMex).

La Facultad de Medicina y el Centro de Investigaciones en Ciencias Médicas de la Universidad Autónoma del Estado de México en colaboración con el Instituto de Salud del Estado de México (ISEM) llevará a cabo un estudio en pacientes con y sin diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad periodontal residentes del Valle de Toluca.

Propósito del estudio

Esta investigación abarca el estudio de la enfermedad periodontal, la cual básicamente consiste en la destrucción progresiva de los tejidos de soporte de los dientes que ocasiona la pérdida gradual de los mismos. Debido a que esta enfermedad es muy frecuente (seis de cada diez adultos la padecen), es la primera causa de pérdida de los dientes en la edad adulta. De tal manera, motivados por la alta prevalencia de este padecimiento en nuestro medio, hemos diseñado este estudio, que nos permitirá conocer más a fondo el estado de algunos mecanismos subyacentes de defensa, así como la identificación de algunos indicadores de inflamación crónica en pacientes con y sin diabetes mellitus tipo 2.

Después de leer la siguiente carta, por favor indique si está de acuerdo en participar en el estudio y de ser así firme el documento.

Procedimientos.

La participación en el estudio es totalmente voluntaria y tiene la opción de rechazar o retirarse de la investigación en el momento que usted lo decida.

En caso de aceptar participar en el estudio, se le pedirá presentarse en las instalaciones al Centro de Investigación en Ciencias Médicas, en ayuno de 12 horas, sin aseo bucal y con ropa cómoda. Durante esta cita se realizarán mediciones de peso y la talla, se evaluará su estado de salud bucal, se tomará una muestra de sangre y saliva. Además, se le pedirá contestar una serie de preguntas con respecto a su estado de salud general; el tiempo aproximado para contestar estas preguntas es de 10 minutos.

Para la exploración bucal se utilizarán instrumentos estériles; el tiempo aproximado para este procedimiento es de 30 minutos. La revisión bucal podría ocasionar un ligero sangrado de la encía al momento de introducir un instrumento delgado de punta roma en el espacio entre la encía y el diente.

Se le tomará una muestra de saliva, por lo cual deberán presentarse en ayuno y sin aseo bucal desde una noche antes. Se depositará en un recipiente nuevo, estéril y desechable.

Además se le tomará una muestra de sangre con el fin de obtener los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol, HDL, hemoglobina glucosilada, con el objetivo de identificar alguna anomalía metabólica, considerando estos datos para su participación o no en el estudio, por lo cual deberá acudir en ayuno total de 12 horas. La toma de muestra sanguínea será realizada por personal profesional capacitado y se realizará una punción en el brazo. Todo el material utilizado será nuevo, desechable y estéril. Después de la punción podría presentarse un pequeño moretón a la zona.

También se le realizarán mediciones de peso y estatura, por lo que se le recomienda acudir con ropa cómoda, el tiempo aproximado de estas mediciones es de 20 minutos.

La información que usted nos proporcione, será estrictamente confidencial.

Los exámenes de sangre, se proporcionarán **sin costo** alguno para usted y los resultados le serán entregados de manera personalizada. Se le darán recomendaciones de tratamiento dental.

No existirá ningún tipo de compensación económica de parte de la Universidad o del Instituto por su participación en esta investigación.

Esta investigación ha sido revisada y aprobada tanto por el Comité de Bioética del Centro de Investigación en Ciencias Médicas de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Estoy enterado y acepto que los datos demográficos (edad, sexo, ocupación) y los resultados de los exámenes diagnósticos de laboratorio sean comparados o discutidos y autorizo sean utilizados para su publicación en revistas científicas y textos especializados, con el conocimiento de que nunca será identificado y siempre se mantendrá el anonimato y confidencialidad de mi identidad personal. Los resultados se analizarán como grupo y mi nombre no aparecerá en la publicación.

Después de que se me explicaron los procedimientos, beneficios y riesgos de este estudio, declaro que he leído y comprendido las explicaciones que se me han dado a todas mis preguntas y al asentar mi firma en este documento, acepto voluntariamente participar en esta investigación.

Con fecha _____, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación en el proyecto, yo _____, con número de expediente _____ acepto participar en el estudio.

Firma del paciente

Nombre y firma del investigador

Nombre y firma del personal del ISEM o Facultad de Odontología

Nombre, firma y parentesco de testigo

Para cualquier información adicional o aclaración, favor de comunicarse con:
E. OP Diana G. Guadarrama López ó Dra. en C.S. Patricia Cerecero Aguirre al teléfono
01 (722) 2 12 80 27. Ext. 158

9.2 Anexo 2. HISTORIA CLÍNICA E INDICE DE ENFERMEDAD PERIODONTAL



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICAS



HISTORIA CLÍNICA E INDICE DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

Fecha _____

Folio: _____

Datos Generales.

Nombre del paciente: _____ Edad: _____
Apellido Paterno Materno Nombre (s)

Dirección y/o teléfono: _____

Sexo: Femenino ____ Masculino ____

Estado civil: Casado Soltero Viudo Separado Unión libre Divorciado

Por favor marque con una "X" hasta que año fue a la escuela

| | Completa | Incompleta |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| Primaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Secundaria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Preparatoria | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Carrera Técnica | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Profesional | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Posgrado | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Marque con una "X" cual es su ocupación actual.

Estudiante ____ Empleado de Gobierno ____ Profesionista ____ Ama de casa ____
Comerciante ____ Empleado ____ Otro ____ (Especifique) _____

ANTECEDENTES HEREDO FAMILIARES

Algún familiar ha padecido o padece?

| | | |
|-----------------------|---|------------------------------|
| Diabetes | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Especifique parentesco _____ |
| Problemas Cardiacos | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Especifique parentesco _____ |
| Hipertensión arterial | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Especifique parentesco _____ |
| Infarto del miocardio | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Especifique parentesco _____ |

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

¿Usted ha padecido o padece?

| | |
|--------------------------|---|
| Enfermedades del corazón | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| Infarto | Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |

| | | |
|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Soplo en el corazón | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Fiebre reumática | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Aterosclerosis | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Presión alta o baja | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Diabetes | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Gota | Si <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |

Especificar el año en que inició el padecimiento _____

¿Toma medicamentos?

(Marque con una "X" solo los que usa regularmente, por ejemplo, dos o más veces por semana)

- ___ Ninguno (pase a la siguiente pregunta)
- ___ Ácido acetilsalicílico (aspirina)
- ___ Acetaminofén (tempra)
- ___ Antiinflamatorios (diclofenaco, naproxeno, ibuprofeno, piroxicam)
- ___ Diuréticos como furosemida (lasix)
- ___ Clortalidona (higotrón)
- ___ Espironolactona (aladactone)
- ___ Beta bloqueadores (propranolol, metoprolol)
- ___ Bloqueadores de calcio (nifedipina, adalat, verapamilo)
- ___ Nitratos (isosorbide)
- ___ Otros antihipertensivos (alfa metil dopa, hidralazina, enalapril, prazosina)
- ___ Digoxina (lanoxin)
- ___ Antiarrítmicos (norpase, propafenona, amiodarona, quinidina)
- ___ Cimetidina , ranitidina (tagamet, ranisen)
- ___ Anticolesterolémicos (pravastatina, bezafibrato)
- ___ Fibra natural como Psillom plántago (metamucil, psillumax)
- ___ Hipoglucemiantes (tulbutamida, glibencalmida)
- ___ Hormonales (estrógenos, premarin)
- ___ Antidepresivos (monclobamina, imipramina)
- ___ Ansiolíticos (diazepán, clonazepán, alprozalán)
- ___ Metformin
- ___ Otro (especifique) _____

TABACO

¿Ha fumado 100 cigarrillos o más en toda su vida?

- ___ No, nunca he fumado (pase a la siguiente pregunta)
- ___ Si fume, pero actualmente ya no
- ___ Si, y actualmente fumo

¿Cuántos cigarros fuma al día? _____

ALCOHOL

Marque con una "X" ¿La última vez que tomó algún tipo de bebida alcohólica, cuántas copas se tomó?

Nunca he tomado una bebida alcohólica

- | | | | | | | | |
|------------|--------------------------|--------------|--------------------------|------------------|--------------------------|-----------------|--------------------------|
| Una copa | <input type="checkbox"/> | Cuatro copas | <input type="checkbox"/> | Siete copas | <input type="checkbox"/> | Mas de 15 copas | <input type="checkbox"/> |
| Dos copas | <input type="checkbox"/> | Cinco copas | <input type="checkbox"/> | De 8 a 10 copas | <input type="checkbox"/> | | |
| Tres copas | <input type="checkbox"/> | Seis copas | <input type="checkbox"/> | De 11 a 15 copas | <input type="checkbox"/> | | |

UNICAMENT SEXO FEMENINO

¿Estás embarazada? Si No

Fecha de última menstruación _____

Si usted padece de otra enfermedad que no se mencione en el formato, por favor especifique _____

REGISTRO DE RESULTADOS DE LABORATORIO Y SOMATOMETRÍA

Séricos

Glucosa mg/dl Colesterol mg/dl

HDL mg/dl Ácido úrico mg/dl

Triglicéridos mg/dl HbA1c mg/dl

Saliva

Interleucina 6

Tensión arterial (mm/Hg)

TA /

Talla cm Peso kg

Circunferencia de cintura cm

Porcentaje de grasa abdominal

IMC

Técnica de cepillado _____ Frecuencia _____
 Hilo dental _____ Palillo _____ Enjuague _____

CÉDULA DE REGISTRO DEL ÍNDICE PERIODONTAL COMUNITARIO (IPC)

- 0= Sano
- 1= Hemorragia
- 2 =Cálculo
- 3= Bolsas de 4-5 mm
- 4= Bolsas 6 mm o más
- X= Sextante incluido
- 9= No registrado

| | | |
|-------|----|-------|
| 17/16 | 11 | 26/27 |
| | | |
| 47/46 | 31 | 36/37 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 17 | 16 | 15 | 14 | 13 | 12 | 11 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| | | | | | | | | | | | | | |
| 47 | 46 | 45 | 44 | 43 | 42 | 41 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 |