



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

***TESIS***

**PREVALENCIA DE *Porphyromonas gingivalis* GENOTIPO *fim A II* Y *fim A IV* EN MUJERES EMBARAZADAS CON DIABETES GESTACIONAL Y EMBARAZADAS SIN DIABETES GESTACIONAL ATENDIDAS EN EL HOSPITAL DE LA MUJER DEL ISSEA EN LA CIUDAD DE AGUASCALIENTES**

**PRESENTA**

**Roberto Arturo García Reyna**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**

Tutores:

Dr. Rafael Gutiérrez Campos

Dra. Ma. del Carmen Terrones Saldívar

Asesor:

Dr. Nicolás Zaragoza Velázquez

Aguascalientes, Ags. Enero del 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES



ANIVERSARIO  
UAA

ROBERTO ARTURO GARCÍA REYNA  
MAESTRÍA EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA  
P R E S E N T E

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que ha cumplido con los siguientes requisitos; a) Participación como ponente en un congreso, b) Asistente a dos congresos de su área de formación, c) La aceptación o publicación de un artículo. d) Su trabajo de tesis, titulado:

**"PREVALENCIA DE *Porfiromonas gingivalis* GENOTIPO *fim A II* Y *fim A IV* EN MUJERES EMBARAZADAS CON DIABETES GESTACIONAL Y EMBARAZADAS SIN DIABETES GESTACIONAL ATENDIDAS EN EL HOSPITAL DE LA MUJER DEL ISSEA EN LA CIUDAD DE AGUASDCALIENTES"**

Los requisitos para su titulación han sido revisados y aprobados por su tutor y el consejo académico, se autoriza continuar con los trámites para obtener el grado de **Maestría en Investigación Biomédica**.

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo

ATENTAMENTE  
"SE LUMEN PROFERRE"  
Aguascalientes, Ags., 6 de Enero del 2014.

DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

ccp. C.P. Ma. Esther Rangel Jiménez / Jefe de Departamento de Control Escolar.  
ccp. Mtra. Guadalupe Valdés Reyes / Jefa de Departamento de Apoyo al Posgrado.  
ccp. Archivo.

DR. RAUL FRANCO DIAZ DE LEON

DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T E

Por medio del presente como tutor designado del estudiante **ROBERTO ARTURO GARCIA REYNA** con ID 8768, quien realizó la tesis titulada:


**PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS FIMA II Y FIMA IV DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS EN EMBARAZADAS CON DIABETES GESTACIONAL Y EMBARAZO NORMAL DEL HOSPITAL DE LA MUJER ISSEA,** y con fundamento en el artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla, y así continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo, lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se lumen proferre"

Aguascalientes, Ags., a 27 de Noviembre del 2013

  
DR. RAFAEL GUTIERREZ CAMPOS

TUTOR

  
DRA. MA. DEL CARMEN TERRONES SALDIVAR

COTUTOR

  
DR. NICOLAS ZARAGOZA VELAZQUEZ

ASESOR

ccp.- Interesado

ccp.- Secretaría de Investigación y Posgrado

ccp.- Jefatura del Departamento de Estomatología

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rafael Gutiérrez Campos por regalarme su tiempo y sus conocimientos para realizar este proyecto; por su apoyo, no tan solo del laboratorio, si no de su amistad

Al Comité Estatal de Investigación en Salud del Instituto de Servicios de Salud del Estado de Aguascalientes, en particular al Dr. Javier Góngora, por haber creído en este proyecto

A las Honorables Autoridades del Hospital de la Mujer por brindarme las facilidades necesarias para realizar este proyecto, en particular al jefe de Enseñanza el Dr. Ely Bravo Aguirre y al Dr. Leopoldo César Serrano Díaz encargado del Servicio de Embarazo de Alto Riesgo

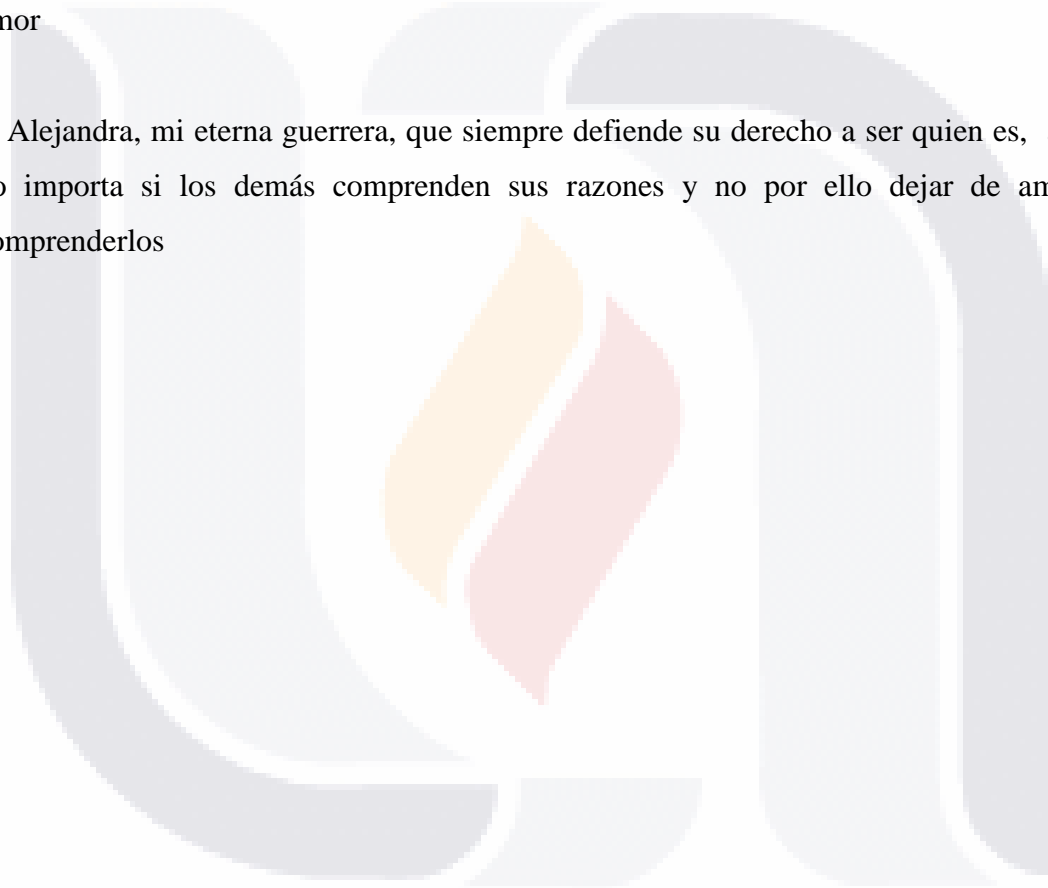
A mis compañeros de Maestría Dra. Esther Martínez mercado y Jesús Norberto Lozano Ruiz Esparza, por su apoyo y compañía en esta etapa de mi vida

## DEDICATORIA

A Hortencia, mi compañera de vida en mil batallas enfrentadas y superadas, con amor

A Roberto de quien siempre he aprendido algo desde que nació, como la dedicación, perseverancia, y cariño por lo que se hace; pero sobre todo por enseñarme lo que es el amor

A Alejandra, mi eterna guerrera, que siempre defiende su derecho a ser quien es, a quien no importa si los demás comprenden sus razones y no por ello dejar de amarlos y comprenderlos



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	1
ÍNDICE DE TABLAS .....	3
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	4
ÍNDICE DE FIGURAS .....	6
RESUMEN .....	7
ABSTRACT.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Factores de Riesgo para Diabetes Gestacional .....	11
1.2 Porphyromonas gingivalis .....	12
1.3 Lipopolisacáridos.....	12
1.4 Polisacárido Capsular .....	13
1.5 Fimbrias .....	14
1.6 Gingipaínas .....	16
1.7 Efectos de los factores de virulencia en el hospedador .....	18
1.8 Epidemiología de <i>fimA</i> .....	19
1.9 Inflamación de los tejidos de soporte dentales y diabetes .....	20
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	22
III. OBJETIVO .....	24
IV. HIPÓTESIS .....	25
4.1 Hipótesis Alterna .....	25
4.2 Hipótesis Nula.....	25
V. METODOLOGÍA.....	26
5.1 Descripción de variables:.....	26
5.2 Selección de la muestra.....	28

5.3 Material y método.....31

VI. RESULTADOS .....34

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....52

CONCLUSIONES.....56

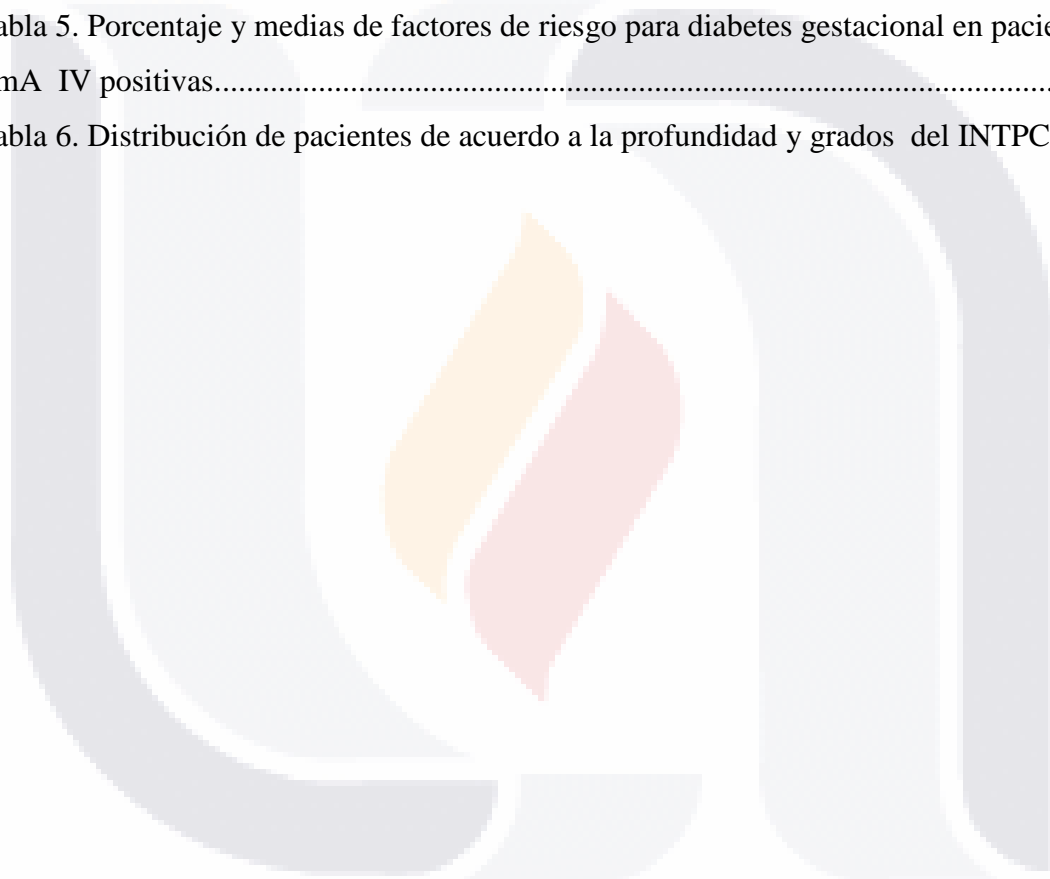
BIBLIOGRAFÍA .....57

ANEXOS .....69



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de variables.....	26
Tabla 2. Características demográficas de los grupos en estudio.....	43
Tabla 3. Proporción de genotipos fimA II y fimA IV por grupo de estudio. ....	43
Tabla 4. Porcentaje y medias de factores de riesgo para diabetes gestacional en pacientes fimA II positivas.....	48
Tabla 5. Porcentaje y medias de factores de riesgo para diabetes gestacional en pacientes fimA IV positivas.....	49
Tabla 6. Distribución de pacientes de acuerdo a la profundidad y grados del INTPC.....	49





## ÍNDICE DE GRÁFICAS

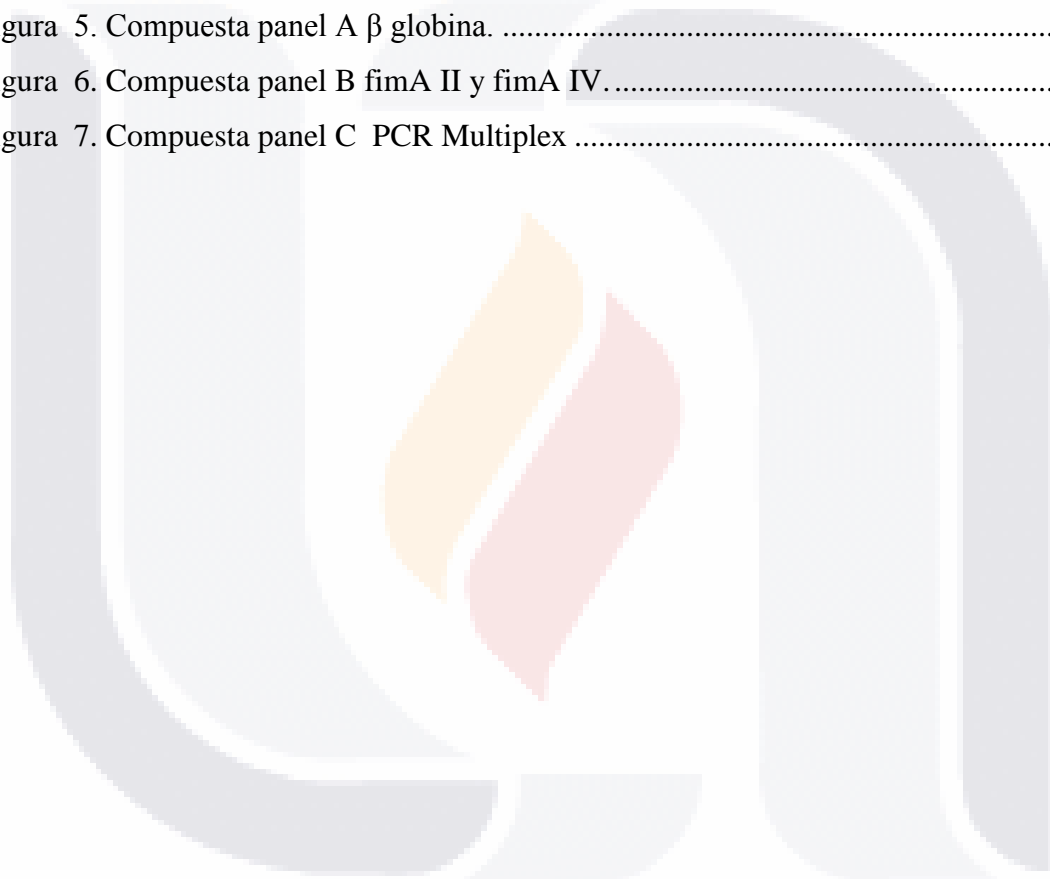
Gráfica 1. Prevalencia expresada en porcentaje de los <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> .....	44
Gráfica 2. Relación de distribución de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>Porphyromonas gingivalis</i> , en relación a los antecedentes heredofamiliares .....	44
Gráfica 3. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> en el grupo de Diabetes Gestacional.....	45
Gráfica 4. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> en el grupo Embarazo Sin Diabetes .....	45
Gráfica 5. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> en el grupo Sin Embarazo y Sin Diabetes .....	46
Gráfica 6. Distribución de las pacientes de acuerdo al Índice de Masa Corporal y a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> en el grupo de Diabetes Gestacional.....	46
Gráfica 7. Distribución de las pacientes de acuerdo al Índice de Masa Corporal y a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> en el grupo de Embarazo Sin Diabetes .....	47
Gráfica 8. Distribución de pacientes Sin Embarazo y sin Diabetes de acuerdo al Índice de masa corporal en base a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> .....	47
Gráfica 9. Distribución de pacientes con Diabetes Gestacional de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival en relación a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> . .....	50
Gráfica 10. Distribución de pacientes Embarazadas Sin Diabetes de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival en relación a la presencia o ausencia de los genotipos <i>fimA II</i> y <i>fimA IV</i> de <i>P. gingivalis</i> .....	51

Gráfica 11. Distribución de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival que presentaron los pacientes del grupo Sin Embarazo y Sin Diabetes Diabetes en relación a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* .....51



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Toma de muestra. ....	39
Figura 2. Comparación sonda periodontal con tirilla FTA Card. ....	39
Figura 3. Corte papel FTA Card en segmentos de 3 mm ....	40
Figura 4. Segmentos de 1 mm. de la muestra, depositadas en microtubos listos para su procesamiento ....	40
Figura 5. Compuesta panel A $\beta$ globina. ....	41
Figura 6. Compuesta panel B fimA II y fimA IV. ....	41
Figura 7. Compuesta panel C PCR Multiplex ....	42



## RESUMEN

**INTRODUCCION.-** La diabetes gestacional es una de las complicaciones médicas que más frecuentemente afectan a las mujeres embarazadas en nuestro país. Algunos autores han establecido una prevalencia entre el 9.7 y el 13.9%. La literatura reporta informes contradictorios acerca de la relación entre la infección de *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) y la Diabetes Gestacional (DG).

**OBJETIVO.-** Determinar la prevalencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en mujeres con diabetes gestacional, embarazadas sin diabetes y mujeres sin embarazo y sin diabetes, y compararlas.

**MÉTODO.-** En un estudio descriptivo, transversal y prospectivo se analizó la prevalencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* a través de PCR en un grupo de 120 mujeres, 40 con diabetes gestacional (DG), 40 mujeres embarazadas sin diabetes (ESD) y 40 mujeres sin embarazo y sin diabetes (SESD), la validez estadística se realizó mediante el empleo de una prueba de  $\chi^2$

**RESULTADO.-** La prevalencia de *fimA II* y *fimA IV* en mujeres con diabetes gestacional fue del 52.5% y del 10% respectivamente, en mujeres embarazadas sin diabetes fue del 32.5% y 27.5%; y en mujeres sin diabetes y sin embarazo fue del 25% y del 50%

**CONCLUSIONES.-** Los resultados establecen la presencia del genotipo *fimA II* de *P. gingivalis* en la diabetes gestacional. Por otra parte la mayor proporción del genotipo *fimA IV* en las mujeres sin embarazo y sin diabetes podría explicarse por el bajo impacto de los programas preventivos y de fomento a la salud en la población en México.

**PALABRAS CLAVE:** *Porphyromonas gingivalis*, *fimA II*, *fimA IV*, Diabetes Gestacional.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION.-** Gestational diabetes is one of the most common medical complications that affect pregnant women in our country. Some authors have established a prevalence between 9.7 and 13.9%. The literature reports conflicting reports about the relationship between infection of *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) and Gestational Diabetes (GD)

**PURPOSE.-** To determine the prevalence of fimA II and fimA IV genotypes of *P. gingivalis* in women with gestational diabetes, pregnant women without diabetes and without embarrassment and without diabetes, and to compare

**METHOD.** - In a descriptive, cross-sectional and prospective study the prevalence of fimA genotypes II and IV fimA *P. gingivalis* was analyzed by PCR in a group of 120 women, 40 with gestational diabetes (DG), 40 pregnant women without diabetes (ESD) and 40 non-pregnant women without diabetes (SESD), the statistical value was performed by employing a  $\chi^2$  test

**RESULTS** - The prevalence of fimA II and fimA IV genotypes in women with gestational diabetes was 52.5% and 10% respectively, in pregnant women without diabetes was 32.5% and 27.5% and in women without diabetes and no pregnancy was 25 % and 50%

**CONCLUSIONS.** - The results establish the presence of fimA II genotype of *P. gingivalis* in gestational diabetes. Moreover, the higher proportion of genotype fimA IV in non-pregnant women without diabetes could be explained by the low impact of preventive programs and health promotion in the population in Mexico

**KEY WORDS:** *Porphyromonas gingivalis*, fimA II, fimA IV, Diabetes Gestacional.

## I. INTRODUCCIÓN

La Diabetes mellitus gestacional (DG) es una complicación del embarazo que se presenta entre el 2 y 14 % de las embarazadas. <sup>1</sup>*Ha sido descrita como una ventana a la salud futura de las mujeres y puede ser considerada como una señal de alerta temprana de la susceptibilidad a desarrollar diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, e incluso enfermedad cardiovascular en cinco a diez años posteriores al parto.*<sup>2</sup> Así mismo la diabetes gestacional se asocia a un incremento en las complicaciones perinatales.<sup>3</sup>

Se entiende por diabetes gestacional la intolerancia a los carbohidratos de severidad variable, que se detecta o se diagnostica por primera vez durante el embarazo. Los criterios diagnósticos que se emplean son los establecidos por la Asociación Internacional de Diabetes y se basan en los siguientes hallazgos: cualquier alteración de la glucosa en ayunas  $\geq 100$  y  $<126$  mg / dl, o un valor mayor a 140 y menos de 200 mg / dl dos horas después de una carga de 75 gramos glucosa.<sup>4</sup>

La importancia del diagnóstico estriba en el reconocimiento de que la mujer afectada se encuentra en riesgo tanto de resultados obstétricos adversos como en el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), ya que se considera que la DG puede representar un "desenmascaramiento" de la predisposición genética o epigenética a DM2 inducida por los cambios hormonales del embarazo. <sup>5</sup>A diferencia de los otros tipos de diabetes, la gestacional no es causada por la carencia de insulina, sino por los efectos bloqueadores de otras hormonas sobre la insulina producida. El embarazo se caracteriza por una resistencia periférica a la insulina, generado por una reducción en la activación los receptores de sustrato de la insulina 1 (IRS1), que se desarrolla en paralelo con un incremento en los niveles plasmáticos de hormonas de la madre, que incluyen lactógeno placentario, prolactina, progesterona y estradiol entre otros. <sup>6</sup>La resistencia a la insulina materna es contrarrestada por la adaptación de los islotes de Langerhans al aumento de la demanda de insulina.<sup>7</sup> Si no se produce este ajuste, se establece la diabetes gestacional. El proceso de adaptación de los islotes se caracteriza por un aumento de la biosíntesis de insulina y un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

aumento de la masa de células  $\beta$ . No se entiende completamente por qué, en algunos individuos, la masa y la función de las células  $\beta$  no se adaptan a las demandas metabólicas del embarazo, sin embargo, una alteración de la respuesta de las células  $\beta$  a las hormonas maternas puede jugar un papel clave.<sup>8</sup> El papel de la hormona  $17\beta$ -estradiol en este proceso de adaptación ha sido en gran parte desconocida. Sin embargo, en los últimos años, se ha demostrado que actúa directamente sobre las células  $\beta$ -para aumentar la biosíntesis de la insulina y para mejorar la secreción de insulina estimulada por la glucosa mediante diferentes mecanismos moleculares.<sup>9</sup>

A partir de la 7ª semana de la gestación se inicia la elevación del lactógeno placentario y el cortisol materno, lo cual desencadena un incremento en la resistencia a la insulina. Este incremento alcanza su máxima expresión en el tercer trimestre del embarazo. La respuesta normal ante esta situación es un aumento en la secreción de insulina, cuando esto no ocurre se produce la diabetes gestacional <sup>10</sup>.

La importancia clínica del diagnóstico de la diabetes gestacional reside en el reconocimiento de que las mujeres afectadas se encuentran en riesgo de resultados adversos como la macrosomía; además identifica a las pacientes con un defecto de las células  $\beta$  del páncreas, este defecto puede ser transitorio o estable, pero en la mayoría de los casos es progresiva, con un alto riesgo de diabetes durante al menos una década después de haber presentado diabetes gestacional. El defecto que presentan las células  $\beta$  puede ser el resultado de muchas causas, entre las que se han considerado entre otras, las variaciones genéticas típicas de las formas monogénicas de la diabetes y la autoinmunidad típica de la evolución de la diabetes de tipo 1.<sup>11, 12</sup>

## 1.1 Factores de Riesgo para Diabetes Gestacional

Se reconocen como factores de riesgo para la diabetes gestacional: la edad, el sobrepeso de la madre,<sup>13,14</sup> tener un familiar directo con diabetes<sup>15</sup> y pertenecer a un grupo étnico con alta prevalencia de diabetes mellitus<sup>16</sup>

Así mismo, en el caso de obesidad materna, además de la diabetes gestacional, existe un mayor riesgo de complicaciones maternas como la hipertensión inducida por el embarazo, mayor posibilidad de cesárea, aborto, nacimiento prematuro, macrosomía neonatal, malformaciones congénitas y muerte perinatal.<sup>17,18</sup>

Algunos autores han publicado que los procesos infecciosos generan un estado de resistencia a la insulina, ya que conduce a la activación de las vías de señalización inflamatorias que ocasiona una elevación sostenida de los niveles de citoquinas (IL-1 $\beta$  y FNT- $\alpha$ ).<sup>19,20</sup>

La exposición de las células  $\beta$  a estas citoquinas proinflamatorias, disminuye la secreción de insulina y, finalmente, la masa de células  $\beta$ , comprometiendo su función; tal como se encuentra en pacientes con Diabetes Gestacional y Diabetes Mellitus tipo 2. De tal forma que la presencia de IL-1 se ha asociado con la aparición y la progresión de diabetes.<sup>21-23</sup>

Los productos bacterianos de los patógenos presentes en el nicho periodontal inducen la producción de citoquinas (FNT- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, y proteína C reactiva), colaborando con el estado de resistencia a la insulina<sup>24-26</sup>

Se ha comprobado que uno de los principales responsables en la inducción de interleucinas (IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-8) así como de inmunoglobulina G es la *Porphyromonas gingivalis* integrante de la flora patógena del tejido periodontal enfermo. Nishimura y Shoelson encontraron que estos mediadores inducen la fosforilación de los residuos de serina de los receptores de insulina produciendo resistencia a la insulina.<sup>27,28</sup>



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Xu Xiong en el 2009, reportó una mayor severidad de enfermedad periodontal en pacientes con diabetes gestacional. Confirmando los hallazgos de Dasanayke et al. quienes encontraron un incremento en el número de mujeres con diabetes mellitus gestacional que presentaron periodontitis, al compararlas con mujeres con embarazo sin diabetes.<sup>29, 30</sup>

## **1.2 Porphyromonas gingivalis**

La *Porphyromonas gingivalis* es un microorganismo negro pigmentado, asacarolítico, no móvil Gram-negativo que requiere de condiciones anaeróbicas para su crecimiento, y la presencia de hemina y vitamina K en su medio nutriente. Obtiene su energía metabólica mediante la fermentación de aminoácidos, una propiedad determinante para su supervivencia en las bolsas periodontales profundas, donde los azúcares son extremadamente escasos. Al considerar su ubicación en comunidades multiespecies en el biofilm subgingival, la *P. gingivalis* es un colonizador tardío, y se encuentra en estrecha proximidad con el tejido gingival, con el que interactúa.<sup>31,32</sup>

Como un patógeno oportunista, posee diversos factores de virulencia. Estos son moléculas que provocan efectos nocivos sobre las células huésped, y están orientados a permitir la supervivencia de *P. gingivalis*. Los principales factores de virulencia son: Lipopolisacáridos (LPS), polisacáridocapsular (CPS), fimbrias y gingipainas<sup>33</sup>.

## **1.3 Lipopolisacáridos**

Al igual que todas las especies bacterianas Gram-negativas, *P. gingivalis* posee un lipopolisacárido (LPS), como componente de su membrana externa, que es reconocido por los mecanismos de defensa del huésped y puede desencadenar eventos de señalización intracelulares. Los LPS poseen afinidad a sus receptores de patrones de reconocimiento, como los receptores tipo Toll (TLR) que son proteínas transmembranales y de las células CD4, estimulando una respuesta proinflamatoria que tiene como resultado resorción ósea del proceso alveolar, como se ha demostrado en modelos animales experimentales. In vitro

estimula la producción de citoquinas proinflamatorias como IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-18 y factor de necrosis tumoral (FNT- $\alpha$ ) en los monocitos.<sup>33 - 35</sup>

Estructuralmente, los LPS de *P. gingivalis* exhiben características únicas en comparación con el de otras especies. Estas incluyen diferencias en la estructura del antígeno-O entre las distintas cepas de *P. gingivalis* que pueden conferir diferencias antigénicas,<sup>36</sup> así como en los patrones de acilación y la capacidad de activación del componente de lípido A. Mientras que el lípido A en la mayoría de las especies Gram-negativas es un fuerte activador de la respuesta de TLR4, el lípido A de *P. gingivalis* activa predominantemente un TLR2 e incluso puede actuar como antagonista de TLR4.<sup>37</sup> Al considerar además los patrones heterogéneos de acilación del lípido A de *P. gingivalis*, éstos presentan dos formas principales: el lípido tetra - acilado y el penta - acilado. El lípido penta - acilado activa a TLR4, mientras que los lípidos tetra - acilados actúan como un antagonista de TLR4.<sup>38</sup> La expresión en la acilación del lípido A depende de las condiciones microambientales. En particular, cuando la disponibilidad de hemina es alta (una condición que está presente en la inflamación), el lípido A penta - acilado se convierte en lípido A tetra - acilado. Por lo tanto, mediante la modificación de su estructura de lípido A de acuerdo con el microambiente, *P. gingivalis* puede modular la afinidad de unión del LPS a los receptores TLR afines. Se ha identificado un segundo tipo de LPS, que contiene un polisacárido aniónico distinto al lípido A, conocido como lipopolisacárido aniónico (LPS-A) que está involucrado en la integridad celular y la resistencia sérica de la *P. gingivalis*, además se ha asociado estructuralmente con la Arg - X gingipaina; y es un inductor más débil de la expresión de citoquinas por los monocitos en comparación con los LPS convencionales.<sup>39</sup>

#### **1.4 Polisacárido Capsular**

Otro factor importante de virulencia de *P. gingivalis* es su cápsula, también conocido como polisacárido capsular (PSC) o antígeno- K; se han identificado al menos seis serotipos diferentes basados en la capacidad de PSC para generar respuestas de anticuerpo IgG

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sistémica. Las cepas encapsuladas son más invasiva que las cepas no encapsuladas. Las cepas que presentan cápsula ocasionan mayor pérdida de hueso alveolar.<sup>40, 41</sup> Son más resistentes a la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares que las cepas no encapsuladas y tienen mayor capacidad de adherencia a las células epiteliales gingivales.<sup>42</sup>

Los diferentes serotipos de PSC pueden reflejar diferencias en la capacidad de estimulación de quimiocinas por parte de los macrófagos o la estimulación de citoquinas por las células dendríticas. Además juegan un rol importante en minimizar las respuestas inmunitarias innatas. Aunque es evidente que la presencia de PSC, o sus serotipos individuales, podrían ser determinantes de la virulencia de *P. gingivalis*, su participación en la desregulación global de las respuestas del huésped todavía no está clara y requiere de más estudios.<sup>43</sup>

## 1.5 Fimbrias

La investigación sobre las fimbrias de *P. gingivalis* tiene una larga historia que se remonta a la década de 1980, mediante estudios bioquímicos y moleculares se inició con la purificación de fimbrias de *P. gingivalis* 381 en 1984.

Las fimbrias de *P. gingivalis* son protuberancias de la superficie celular, filamentos delgados que facilitan su adhesión a las proteínas salivales, matriz extracelular, células eucariotas y bacterias de la misma o de otras especies. A través de sus fimbrias puede unirse a las bacterias colonizadoras tempranas, y participar en la estructura del biofilm en desarrollo. Las fimbria tipo I (mayor) tiene un papel importante en la colonización y la invasión, mientras que las fimbria tipo II (menor) poseen una mayor capacidad de adhesión<sup>44,45</sup>. Otras propiedades de ambas fimbrias mayor y menor son la inducción de citosinas proinflamatorias y la producción de metaloproteinasas de la matriz (MMPs), tales como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  y MMP-9, por diversas células del huésped.<sup>46,47</sup>

Las fimbrias de *Porphyromonas gingivalis* pueden activar los TLR2 y TLR4. La activación de TLR2 es mediante un patrón de señalización diferente al de los LPS. Las fimbrias pueden inducir directamente dos vías de señalización distintas, una que lleva a la producción de citoquinas proinflamatorias, tales como IL-6 y TNF- $\alpha$ , y otro que media la expresión de moléculas de adhesión celular, tales como ICAM-1. Por otra parte, la señalización a través de TLR4 requiere una co-estimulación adicional de CD14 y MD-2. Además, las fimbrias mayores puede estimular la señalización de TLR2 con el fin de interactuar con el receptor del complemento 3 (CR3), Esta interacción activa la capacidad de unión de CR3 y permite la internalización de *P. gingivalis* en los macrófagos y la reducción de la producción de IL-12 lo que puede inhibir el proceso de “aclaramiento de bacterias”.<sup>48</sup>

Las fimbrias *fimA* de *P. gingivalis* se clasifican en seis genotipos (tipos I-V, y Ib) en base a las diferentes secuencias de nucleótidos de los genes *fimA* que codifican la subunidad fimbria. Los diferentes genotipos exhiben o poseen diferente potencial de virulencia de tal forma que el genotipo *fimA II* es un fuerte inductor de inflamación sistémica que interfiere en la hemostasis, regeneración y reparación del tejido conectivo periodontal; además es capaz de provocar un incremento significativo de los niveles séricos de interleucina-1b y de interleucina 6 en comparación con el genotipo *fimA I*. Aunque se ha establecido que la virulencia que exhibe el genotipo *fimA II* está muy relacionado con la actividad de las gingipainas, especialmente con el de la forma secretada.<sup>49, 50</sup>

Los genotipos *fimA* tienen una capacidad variable para provocar una respuesta inmune del huésped. Estudios exhaustivos han demostraron diferentes efectos de los genotipos *fimA* en relación a la pérdida de hueso inducida por bacterias, en su actividad pro-inflamatoria, así como en su capacidad de ingreso intracelular.

Este potencial de virulencia es compartido por los genotipos Ib,IV y V : Mientras que los genotipos I Y III provocan escasa respuesta inflamatoria por parte del hospedador. De hecho el genotipo I es más prevalente en sitios que clínicamente mostraron poca mejoría

con el tratamiento periodontal.<sup>51</sup> Hasta el momento no se tienen reportes de los genotipos encontrados en las pacientes con diabetes gestacional.

## 1.6 Gingipaínas

Las gingipaínas son un grupo de cisteína proteinasas que se encuentran en la superficie celular de *P. gingivalis*, aunque también pueden ser secretada en forma soluble. Representan el 85% del total de la actividad proteolítica de *P. gingivalis*. En base a su especificidad de sustrato, se pueden dividir en arginina-específica (Arg-X) y lisina-específica (Lys-X). Las gingipaínas Arg-X tienen actividad similar a la tripsina, y pueden degradar componentes de la matriz extracelular, incluyendo la integrina de unión a fibronectina, citoquinas, inmunoglobulinas y factores del complemento. Hay dos tipos de gingipaína Arg-X (específica para arginina), la RgpA, que tiene función proteolítica y función de adhesión, y la RgpB, que contiene sólo función proteolítica. Hay un solo tipo de gingipaína Lys-X, es la Kgp, que posee tanto función proteolítica como de adhesión.<sup>52</sup>

Las gingipaínas tienen múltiples efectos en los componentes moleculares de la respuesta inmune, y, por ello, pueden desregular estas respuestas. Por ejemplo, pueden escindir varios receptores de las células T, CD2, CD4 y CD8 lo que dificulta la respuesta inmune mediada por células. También pueden estimular la expresión de los receptores activados por proteasa en los neutrófilos, células epiteliales gingivales fibroblastos y células T,<sup>53</sup> que son cruciales para la inducción de las respuestas de citosinas y el establecimiento de la inflamación crónica en la periodontitis. Las gingipaínas también pueden estimular la producción de IL-6 por las células epiteliales y de IL-8 por los fibroblastos o pueden inactivar proteolíticamente IL-4, IL-5, IL-12 e IFN- $\gamma$ .<sup>54</sup>

Un número de efectos, particularmente interesantes, son ejercidas por las gingipaínas en los componentes del sistema del complemento. La gingipaína Arg-X puede escindir la molécula C5, lo que resulta en la liberación de su componente C5a, que es crucial para mejorar el reclutamiento de PMNs.<sup>55</sup> Por otro lado, Lys-X puede inactivar el receptor de

C5a en PMN, una acción que en realidad puede poner en peligro su reclutamiento. En esta línea, la gingipaina Arg-X puede degradar la molécula de C3, lo que contribuye a la disminución de la opsonización bacteriana. Esta propiedad podría conferir mayor resistencia de *P. gingivalis* a la actividad bactericida.

Aparte de su efecto sobre la respuesta inmune, las gingipainas también pueden estar implicados en la unión de la *P. gingivalis* a las células del hospedero, tal como lo demuestran los complejos Rgp-Kgp para mediar en la adhesión sobre las células epiteliales y los fibroblastos.

Curiosamente, cuando *P. gingivalis* invade intracelularmente las células epiteliales, la expresión de gingipaínas disminuye.<sup>56</sup>

También pueden afectar la permeabilidad vascular y la homeostasis en el lugar de la lesión periodontal.

Pueden activar proteolíticamente la calicreína plasmática y la bradiquinina y aumentar la liberación de trombina y protrombina, que puede dar lugar a un aumento de la permeabilidad vascular y flujo de polimorfonucleares (PMN). Por otra parte, puede degradar el fibrinógeno, inhibiendo la coagulación para prolongar el sangrado, y así aumentar la disponibilidad de hemina requerido para el crecimiento de *P. gingivalis*.<sup>57</sup>

Más cerca de la barrera del epitelio gingival en el que reside la biopelícula, las concentraciones de gingipainas son altas, lo que causa la degradación o la desregulación de los diversos componentes de la respuesta inmune. Esto dificulta la eliminación de bacterias y facilita la invasión bacteriana. Sin embargo, más profundamente, en el tejido conectivo, las concentraciones de gingipaínas son bajas y estimulan, en lugar de inhibir, la inflamación. Esto a su vez puede inducir la destrucción del tejido conectivo y del tejido óseo, que son el rasgo patognomónico de la inflamación de los tejidos de soporte dental.<sup>58</sup>

Los cambios en el microambiente subgingival puede regular la expresión de los factores de virulencia, y por lo tanto los potenciales proinflamatorias o anti-inflamatoria de *P. gingivalis*. Esto afecta fuertemente la composición de la microbiota comensal oral de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

forma cualitativa y cuantitativa,<sup>59</sup> por lo que se considera a la *P. gingivalis* una especie de “piedra de toque” en el biofilm subgingival.

### **1.7 Efectos de los factores de virulencia en el hospedador**

Como se ha mencionado, los factores de virulencia de la *P. gingivalis* tiene como objetivo, evadir los sistema de defensa del hospedador para su supervivencia; para lograrlo puede invadir activamente las células epiteliales gingivales, como parte de sus estrategias de supervivencia en el huésped, donde se puede mantener la viabilidad y la replicación evadiendo los mecanismos de defensa,<sup>60</sup> o bien puede desregular la respuesta innata, que a su vez puede desactivar la inmunidad en el microambiente del biofilm subgingival.

La capacidad invasiva está a cargo de las fimbrias, que se unen a  $\beta 1$  integrina en la superficie de las células huésped, un evento que causa reordenamientos del citoesqueleto de actina para permitir su internalización.<sup>61</sup>

También puede invadir los macrófagos, pero dentro de estas células su replicación es menos activa. Esto es una estrategia para evitar exposición al medio ambiente extracelular y a la vigilancia inmune. Curiosamente, una vez que la *P. gingivalis* ha invadido intracelularmente, no hay signos de apoptosis o necrosis ya que secreta una enzima hidrolizante de ATP, para suprimir la apoptosis dependiente de ATP permitiendo la supervivencia de las células huésped, para posteriormente, difundirse de célula a célula, a través de puentes de actina del citoesqueleto. Además una vez que *P. gingivalis* se establece dentro de la célula, afecta a las vías del ciclo celular y por lo tanto acelera la proliferación de las células epiteliales gingivales,<sup>62</sup> lo que constituye un mecanismo de expansión del epitelio de la bolsa periodontal, que es una característica histopatológica de la periodontitis. Por otra parte un ejemplo representativo de su habilidad para desregular la respuesta inmune es la degradación de las defensinas humanas, su resistencia a la explosión oxidativa mediada por los neutrófilos o polimorfonucleares y su capacidad para inhibir, de

acuerdo a sus necesidades, la producción de citoquinas proinflamatorias.<sup>63</sup> Puede evitar la producción de interleucina -8 (IL-8) por las células epiteliales, evitando la quimiotaxis de PMN, a este fenómeno se le conoce como "parálisis de quimiocinas", lo que incapacita a la primera línea de defensa en los tejidos periodontales. Por otra parte mediante la inhibición de la producción de IL - 12, por los macrófagos, impide la activación de células T citotóxicas e inhibe el interferón (IFN) -  $\gamma$  para evitar la actividad bactericida de los macrófagos. La *P. gingivalis* puede suprimir la activación del complemento, mediante la degradación de C3 y la captura de la proteína "blanco" del C4b, al alterar la señalización de los receptores tipo Toll (TLR). Otro punto interesante es que toda *P. gingivalis* viable es detectado por el anfitrión, en función de los factores de virulencia liberados, y por el potencial para activar las vías intracelulares para la producción de citoquinas.<sup>64</sup>

### **1.8 Epidemiología de *fimA***

Se han realizados varios estudios clínicos para establecer la asociación entre un genotipo específico de fimbria y el establecimiento y severidad de la lesión de los tejidos de soporte dentarios (periodonto); y se reporta que el genotipo *fimA* II se ha detectado con mayor frecuencia en pacientes con lesiones severas del tejido de soporte y también en espacios subgingivales más profundos. Sin embargo este genotipo también se ha reportado en pacientes con lesiones marginal de los tejidos de soporte en estudios realizados en Alemania, Brasil, Suiza y China. Estos estudios realizados en diferentes países coinciden en que el genotipo más prevalente asociado a periodontitis es el genotipo *fimA* II y el fenotipo *fimA* IV.<sup>65</sup>

En otros estudios se reporta que el genotipo I era más prevalente en sitios con lesión periodontal clínica.<sup>66</sup>



## 1.9 Inflamación de los tejidos de soporte dentales y diabetes

En el 2011 la OMS estimó que 349 millones de personas en el mundo padecían diabetes, y que para el 2030 esta cifra se incrementaría a 439 millones, lo que representa casi un 10% de los adultos mayores de 20 años. Se considera que la diabetes es el noveno trastorno más común en el mundo.<sup>67</sup>

Según Duncan y Schmidt la inflamación precede al inicio de la diabetes, ya que esta está vinculada al estado de resistencia a la insulina, al desarrollo de la diabetes y a sus complicaciones.<sup>68</sup>

Diversos estudios han estado encaminados a establecer la relación entre la enfermedad periodontal y enfermedades no orales relacionadas con el estado de inflamación sistémica, como eventos cerebro-cardiovasculares y la aterosclerosis. La evidencia biológica que soporta esta conexión se basa en el hecho de que los microorganismos del biofilm subgingival, estimulan una inflamación sistémica crónica y por lo tanto contribuye a la carga inflamatoria acumulativa en el huésped.<sup>69</sup>

Un sistema inmune mal regulado, como el provocado por *P. gingivalis*, está relacionado a la patogénesis de la diabetes y a sus complicaciones asociadas. La diabetes mellitus de tipo 2 (*DM2*) y las condiciones relacionadas con ella como la obesidad se asocian con una serie de cambios fisiológicos, *nutricionales* y metabólicos, *incluyendo* la hiperglucemia, *la producción* de productos finales de glicación avanzada (AGEs), hiperlipidemia y aumento de la adiposidad<sup>70</sup>; estos cambios incluyen la desregulación inmune *ocasionada* por un estado inflamatorio de larga duración, lo que provoca *una* limitación y resolución de la respuesta inmune. Los cambios sistémicos en los niveles de citoquinas son fundamentales para la patogénesis de la *DM2* y estos cambios inmunes (a menudo se describen como una inflamación crónica de bajo grado) pueden *ocasionar resistencia a* la insulina y apoptosis de las células de los islotes *pancreáticos* lo que conduce a una deficiencia de insulina y por lo tanto a la progresión del estado de hiperglicemia.

Bajo esta perspectiva se han realizado estudios donde se relaciona la presencia de alteración de los tejidos de soporte dental y diabetes gestacional.<sup>71</sup>

Xu Xiong en el 2009, encontró que la severidad de enfermedad periodontal estaba presente en la Diabetes gestacional, confirmando los hallazgos de Dasanayke et al. quienes encontraron un incremento en el número de mujeres con diabetes mellitus gestacional que presentaron periodontitis al contrastarlo con mujeres sin diabetes mellitus gestacional; pero este incremento no alcanzo significancia estadística.<sup>72</sup>

Es interesante resaltar que un estudio reveló que FNT alfa fue un predictor significativo independiente para la sensibilidad a la insulina ( $p < 0.0001$ ), sensibilidad que se ve incrementada por las hormonas del embarazo durante la gestación y provee las bases para considerar la FNT alfa como un factor que explique, además de las hormonas del embarazo, la resistencia a la insulina.<sup>73</sup>

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diabetes gestacional (DG) es una de la alteración metabólica más frecuente en el embarazo, que se acompaña de mayor probabilidad de cesárea, aborto, nacimiento prematuro, macrosomía neonatal malformaciones congénitas, entre otros, y que tiene una gran influencia en el futuro de la mujer y su hijo. Según datos del Instituto Nacional de Perinatología, la DG presenta una prevalencia entre el 9.7 y el 13.9%, que la ubica entre las diez primeras causas de atención obstétrica.<sup>74</sup>

Las pacientes con DG mal controlada tienen un incremento significativo en complicaciones maternas y neonatales entre las que se encuentran preclampsia, parto prematuro, macrosomía, inducción de trabajo de parto, traumatismos obstétrico, cesárea, hipoglucemia del producto, muerte fetal, hiperbilirrubinemia e hipocalcemia en el niño.<sup>75</sup>

La enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte dentales de etiología bacteriana, es la condición inflamatoria crónica más común, afecta a aproximadamente el 50% de los adultos y más del 60% de los mayores de 65 años de edad sin diferencia estadísticamente significativa entre mujeres y hombres. La forma grave se presenta entre el 10 y 15 % de la población.<sup>76</sup>

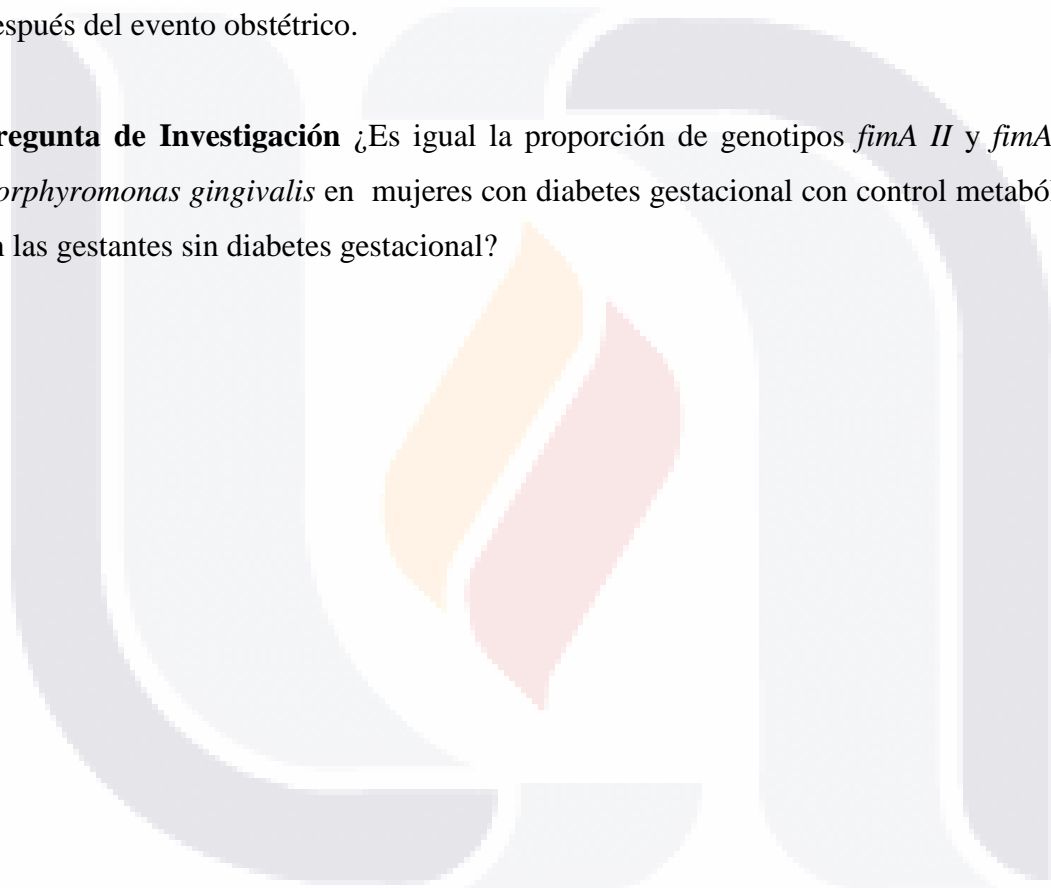
En México de acuerdo a los datos proporcionados por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, del total de la población diagnosticada en el 2008 con gingivitis y enfermedades del periodonto, las mujeres mayores de 30 años contribuyeron con la mayor proporción (62%) y 317 214 casos nuevos, con una incidencia de 585.1 casos por cada 100 000 habitantes.<sup>77</sup>

Los factores de riesgo para diabetes gestacional como son el sobrepeso, edad, historia familiar de diabetes y grupo étnico de alto riesgo en nuestro país se ven incrementados debido a que la gran mayoría de las mujeres no planifican sus embarazos y, el estatus de salud bucal durante el embarazo, está comprometido con la presencia de agentes

infecciosos que pueden contribuir con un estado de resistencia a la insulina, gracias a la activación de las vías de señalización inflamatorias que comprometen la función de regulación glicémica.

La atención de las complicaciones fetales y maternas ocasionadas por la DG genera costos, tanto para el sector salud como para la familia, además de los costos para la atención de la madre orientados a prevenir la posterior aparición de diabetes mellitus tipo 2 después del evento obstétrico.

**Pregunta de Investigación** ¿Es igual la proporción de genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *Porphyromonas gingivalis* en mujeres con diabetes gestacional con control metabólico que en las gestantes sin diabetes gestacional?



### III. OBJETIVO

Conocer la prevalencia del genotipo *fimA II* y *fimA IV* de *Porfiromona gingivalis* en embarazadas con diabetes gestacional con control metabólico y en gestantes sin diabetes gestacional



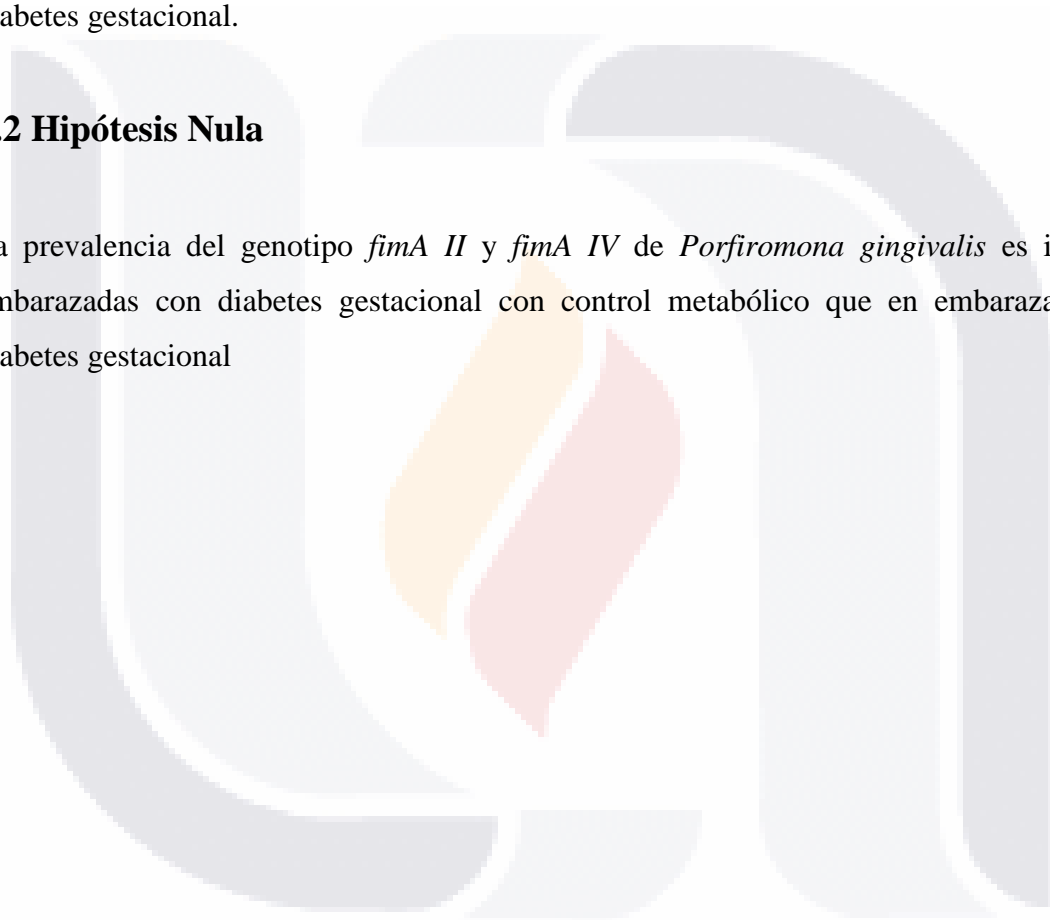
## IV. HIPÓTESIS

### 4.1 Hipótesis Alterna

La prevalencia del genotipo *fimA II* o *fimA IV* de *Porfiromona gingivalis* es diferente en embarazadas con diabetes gestacional con control metabólico que en embarazadas sin diabetes gestacional.

### 4.2 Hipótesis Nula

La prevalencia del genotipo *fimA II* y *fimA IV* de *Porfiromona gingivalis* es igual en embarazadas con diabetes gestacional con control metabólico que en embarazadas sin diabetes gestacional



## V. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional descriptivo transversal y prospectivo en mujeres atendidas en el servicio de Gineco Obstetricia del Hospital de la Mujer de la ciudad de Aguascalientes de julio a octubre del 2012. Se conformaron tres grupos de 40 integrantes cada uno: embarazadas con diagnóstico de diabetes gestacional, en embarazadas sin diagnóstico de diabetes y mujeres sin embarazo y sin diabetes

### 5.1 Descripción de variables:

**Tabla 1. Descripción de variables**

VARIABLE	CONCEPTO	OPERACIONALIZACION	ESCALA DE MEDICION	REACTIVO	UNIDADES
DIABETES GESTACIONAL	La diabetes gestacional es la alteración en el metabolismo de los hidratos de carbono que se detecta por primera vez durante el embarazo, debido a una inadecuada adaptación a la insulina resistencia que se produce en la gestante.	Glicemia .- Extracción de sangre de vena periférica 5 ml. Colocada en tubo con EDTA y Oxalato de potasio	De razón o proporción	Reacción de Trinder o método de oxidasa - hexoquinasa,	mg/dl
GENOTIPO DE <i>Porfiromonas gingivalis</i>	Expresión de la proteína fimbriada por el gen <i>fimA</i> que es un factor de virulencia de la bacteria	Gen <i>fimA II y IV</i>  Se toma una muestra del contenido de la bolsa periodontal de la paciente usando papel FTA.  Para la determinación del genotipo se realiza con prueba de PCR multiplex.	Nominal	Para <i>fim A II</i> Forward: ACA ACT ATA CTP ATG ACA ATG G Reverse: AAC CCC GCT CCC TGT ATT CGG A Para <i>fim A IV</i> Forward: ACC	Numero de pares de Bases

				AAC ACT CTC CTT GAC AGT G Reverse: TAT TGG GAA GTG ACG ATC ATT G	
EDAD	Término que se utiliza para hacer mención al tiempo que ha transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Años de vida en que presenta el actual embarazo la gestante	Cuantitativa	NA	Años
HISTORIA FAMILIAR DE DIABETES	Término empleado para conocer si las personas tienen antecedentes de diabetes en familiares de primer grado (padres, hermanos, hijos o abuelos) segundo grado (tíos o sobrinos)	Manifestación mediante interrogatorio si la persona tiene un familiar en primer grado que padezca diabetes	Cualitativa Nominal	NA	SI/NO
ÍNDICE DE MASA CORPORAL	Índice empleado para valorar el estado nutricional de una persona	Se determina dividiendo el peso en kilogramos por el cuadrado de la estatura en metros: $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Altura (m)}^2$	Cuantitativa continua	Bascula para determinar peso en Kilogramos y cinta métrica para determinar estatura expresada en metros.	Kg /cm <sup>2</sup> .
NÚMERO DE EMBARAZOS	Número de veces que el útero ha sido ocupado por uno o más fetos	Manifestado por la paciente participante del estudio	Cuantitativa discreta	Interrogatorio a la paciente	Número de veces que ha estado ocupado el útero de la paciente



## 5.2 Selección de la muestra

Se calculó el tamaño de muestra aplicando la fórmula para dos proporciones como se describe a continuación, y se consideró un grupo control de mujeres sin embarazo y sin diabetes

$$n = \frac{[Z_{\alpha} \cdot \sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta} \cdot \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2} = 44 \text{ pacientes de cada grupo}$$

Dónde:

Z es el valor Z correspondiente al riesgo  $\alpha$  de 0.05 = 1.96

Z es el valor Z correspondiente al riesgo de 0.05 = 1.96

p1 es el valor de la proporción en el grupo control = 0.70 (basado en la proporción de *P. gingivalis fim A II* que presenta población con diabetes mellitus tipo 2

p2 es el valor de la proporción en el grupo experimental = 0.30 Basado en la población general sin diabetes que presenta de *P. gingivalis fim A II*

p es la media aritmética de las dos proporciones = p1 y p2 (p1 + p2/2) = 0.5

La selección de la muestra fue por conveniencia, de acuerdo a los días que tenían cita de control las pacientes del Servicio de Embarazo de Alto Riesgo, Embarazo de Bajo Riesgo y Gineco Obstetricia.

### **En el grupo de Diabetes Gestacional quedaron incluidas las pacientes:**

Con diagnóstico de diabetes gestacional según los criterios de las guías clínicas de CENETEC.

En control prenatal en el servicio de Embarazo de Alto Riesgo.

Sin tratamiento dental en los últimos doce meses, salvo por motivos de urgencia

De 18 a 45 años de edad.

Hoja firmada de consentimiento informado.

**Quedaron excluidas para el grupo de Diabetes Gestacional las pacientes:**

- Que esté embarazada sin diagnóstico de diabetes gestacional.
- En control prenatal en el servicio de Embarazo de Bajo Riesgo.
- Que haya recibido tratamiento dental orientado al control de placa.
- Que sea menor a 18 años o mayor a 45 años.
- Que no autorice el procedimiento de toma de muestra.

**En el grupo de Embarazadas sin Diabetes quedaron incluidas las pacientes:**

- Con embarazo.
- Que no tenga diagnóstico de diabetes tipo 1, tipo 2 o gestacional.
- Que sea paciente del servicio de Embarazo de Bajo Riesgo.
- Sin tratamiento dental en los últimos 12 meses, salvo por motivos de urgencia.
- De 18 a 45 años de edad.
- Hoja firmada de consentimiento informado.

**Quedaron excluidas para el grupo de Embarazadas sin Diabetes las pacientes:**

- Que no estén embarazadas.
- Que presente diabetes tipo 1 o tipo 2 o diabetes gestacional.
- Que no sea paciente del servicio de Embarazo de Bajo Riesgo.
- Que haya recibido tratamiento dental orientado al control de placa en los últimos 12 meses.
- Que sea menor a 18 años o mayor a 45 años.
- Que no autorice el procedimiento de toma de muestra.

**Quedaron incluidas para el grupo sin Embarazo y sin Diabetes las pacientes:**

- Que no estén embarazadas.
- Que no presente diabetes tipo 1 o tipo 2.
- Que sean pacientes del servicio de Gineco Obstetricia.

Sin tratamiento dental en los últimos 12 meses, salvo por motivos de urgencia.

De 18 a 45 años de edad.

Hoja firmada de consentimiento informado.

**Quedaron excluidas para el grupo sin Embarazo y sin Diabetes las pacientes:**

Que esté embarazada.

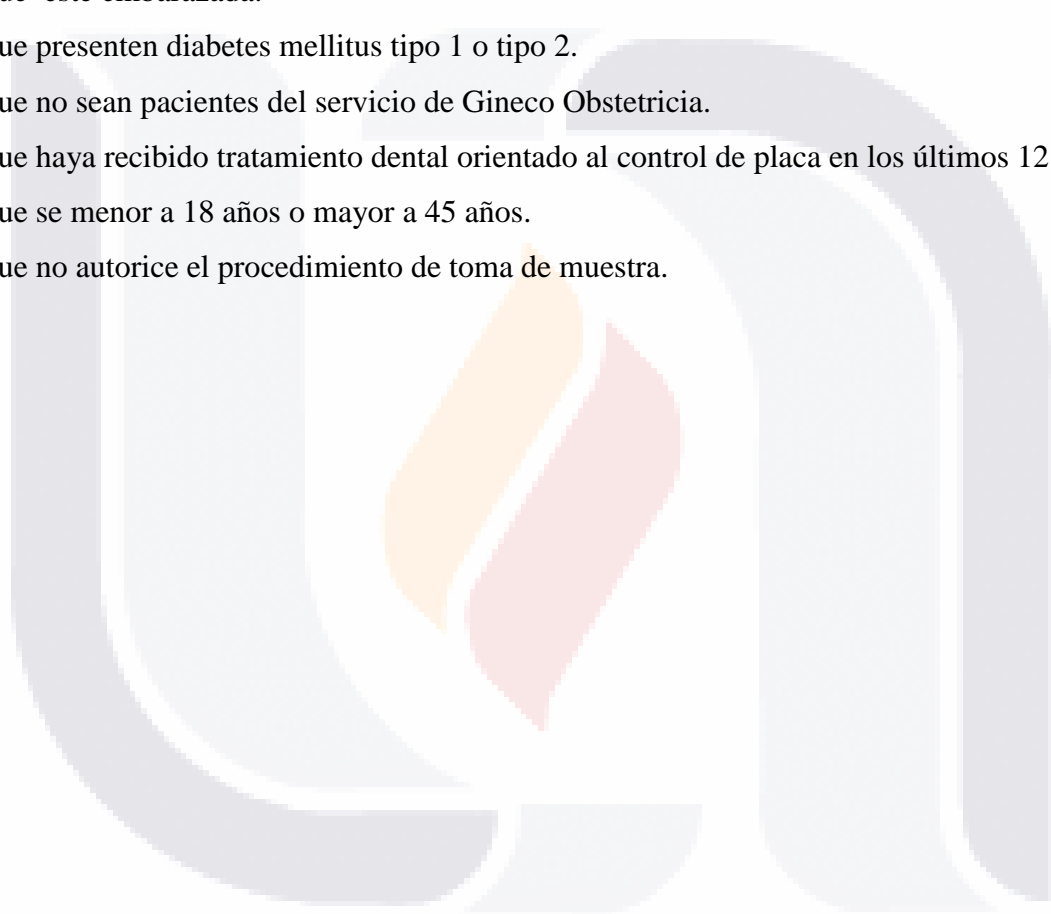
Que presenten diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2.

Que no sean pacientes del servicio de Gineco Obstetricia.

Que haya recibido tratamiento dental orientado al control de placa en los últimos 12 meses.

Que se menor a 18 años o mayor a 45 años.

Que no autorice el procedimiento de toma de muestra.



### 5.3 Material y método

Las muestras de estudio se obtuvieron de pacientes atendidas en el Hospital de la Mujer de la Ciudad de Aguascalientes, México. Se analizó la prevalencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *Porphyromonas gingivalis* en 120 pacientes divididos en tres grupos: El primer grupo correspondió a 40 mujeres embarazadas con diagnóstico de diabetes gestacional según los criterios de Carpenter, señalado en la Guías de Práctica Clínica que acudieron a cita de control al servicio de Embarazo de Alto Riesgo. Al momento de la toma de la muestra todas las pacientes tuvieron cifras menores a 6.5 % de HbA1c. El segundo grupo se conformó con 40 mujeres embarazadas sin diabetes que acudieron a cita de control al servicio de Embarazo de Bajo Riesgo. El tercer grupo correspondió a 40 mujeres sanas, no embarazadas y las cuales acudieron a cita de revisión ginecológica de rutina al servicio de Gineco Obstetricia. Ninguna participante recibió atención dental previa al embarazo, salvo para tratamiento de extracción dental por dolor.

A las pacientes de los tres grupos se les realizó el *Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la comunidad (INTPC)*, según el manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual consiste en registrar un promedio por grupo de necesidad de atención periodontal considerando los parámetros tales como sangrado al sondeo (BOP), profundidad de sondeo (PD) y presencia de sarro. A los parámetros referidos se les asigna una de las siguientes categorías: Código 0: sin sangrado al sondeo ni cálculo dental; la profundidad es menor a 3.5 mm, no se requiere tratamiento. Código 1: sangrado gingival al sondeo sin presencia de cálculo dental, la profundidad es menor a 3.5 mm y solo se necesita mejorar la higiene. Código 2: presencia de sangrado y cálculo dental, la profundidad es menor a 3.5 se necesita mejorar la higiene y detartraje. Código 3: presenta los mismos signos que el anterior y una profundidad de 3.5 a 5.5 mm. Se requiere mejorar la higiene y raspado y alisado radicular. Código 4: Lo mismo que el código anterior y una profundidad de 5.5 mm o más. Se requiere además de raspado y alisado radicular tratamiento quirúrgico. Finalmente para la toma de la muestra se consideró la cara mesial del 16, en caso de estar ausente, la cara mesial del 17. Este criterio se utilizó por ser uno de los órganos dentales

que erupcionan a temprana edad (6 años), y por ende tiene una mayor probabilidad presentar alteraciones periodontales. Todas las pacientes fueron informadas acerca del procedimiento de la toma de muestra y el objetivo del estudio a fin de obtener su consentimiento informado.

**OBTENCION DE LAS MUESTRAS:** Se realizó aislado relativo y secado con torunda de algodón de la cara palatina del primer molar superior derecho o 16 y cuando éste estuvo ausente, en el 17. Cada muestra se obtuvo por duplicado, insertando una tira de papel FTA (Whatmann, GE., Buckinghamshire, UK) en tres puntos; las tiras tuvieron una medida de 1.5 mm de ancho por 12 mm de largo y se dejaron por espacio de 20 segundos, como se puede observar en la foto 1, para posteriormente depositarlas en un microtubo y almacenadas a 4 °C.

**PURIFICACION DE ADN.** Los fragmentos de 1 mm del papel FTA fueron lavados y enjuagados de acuerdo a las especificaciones del proveedor (Whatmann, GE., Buckinghamshire, UK). Un fragmento de papel de 1 mm por 1.5 mm fue utilizado para cada reacción de PCR, analizando así toda la zona correspondiente a la bolsa periodontal.

**DETERMINACION DE GENOTIPOS DE *Porphyromonas gingivalis* por PCR.** La genotipificación de los genotipos II y IV de *Porphyromonas gingivalis* fue llevada a cabo de acuerdo a los protocolos de Amano et al (1999) con mínimas variaciones descritas abajo. Los cebadores utilizados fueron: para *fimA* II F - 5' ACA ACT ATA CTP ATG ACA ATG G 3' y R- 5' y F-5' ACC AAC ACT CTC CTT GAC ATT G 3' y R- 5' TAT TGG GAA GTG ACG ATC AGA G 3'. Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen de 12.5 µl, conteniendo 1.25 µl de buffer 10X ( Invitrogen, Sao paulo, BR.), 1.0 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de dNTP's, 0.8 µM de cada primer 2.5 U de *Taq* polimerasa recombinante ( Invitrogen, Sao Paulo, BR.). Para cada reacción se utilizó como ADN molde un fragmento de 1 mm por 1.5 mm de papel FTA. La amplificación se llevó a cabo por 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, un alineamiento a 60°C por 30 s, y la extensión a 72°C por 60 s. Una pre-desnaturalización a 94°C por 10 min y una extensión final a 72°C por 7 min fueron necesarias. La determinación de los genotipos se realizó en forma separada o a

través de PCR multiplex para detectar a los dos genotipos simultáneamente. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA). En el caso de las reacciones realizadas por separado los productos fueron visualizados a través de electroforesis al 3% teñidos con EtBr. Así mismo cuando se realizó la PCR multiplex los productos fueron separados en un gel de acrilamida al 4% y teñidos con nitrato de plata. La razón de esto último es que los productos amplificados tienen un peso molecular de 257pb para *fimA* II y 251pb para *fimA* IV lo cual dificulta observar la diferencia en la migración de ambos fragmentos en agarosa. Para todas las reacciones se llevó a cabo una PCR, utilizando como control de reacción interna un fragmento de la  $\beta$ -globina utilizando los cebadores 5'-GGTTGGCCAATCTACTCCCAGG-3' y 5'-GCTCACTCAGTGTGGCAAAG-3' con las siguientes condiciones. La mezcla de amplificación consistió de 50 mmol de KCl, 10 mmol l de Tris-HCl (pH 8.3), 0.1 g / l de gelatina, 1,5 mmol / l de MgCl<sub>2</sub>, 100-200 ng de DNA genómico, 0,7 mmol / l de cada cebador (E91s y E136as), 200, mMol , l para cada trifosfato de desoxinucleótido y 1.25 U de Taq polimerasa (Invitrogen St. MO., USA) en un volumen final de 50  $\mu$ L. El programa de amplificación por PCR se realizó en un termociclador modelo 480 (Perkin-Elmer, Gouda, Holanda). Después de desnaturalización a 94 ° C durante 100 s, 30 ciclos se llevaron a cabo: desnaturalización a 94 ° C durante 1 minuto, hibridación a 57 ° C durante 1 min, y luego la extensión a 72 ° C durante 2 min; la extensión final fue a 72 ° C durante otros 10 minutos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. La prevalencia de *fimA* II y *fimA* IV se calculó dividiendo el número de pacientes que lo presentaron (x) entre el número de integrantes de cada grupo (n). Para cada grupo se analizó mediante una prueba de  $\chi^2$  para considerar la significancia estadística con un nivel de  $p < 0.05$ . Para las diferencias de medias de IMC, ingreso y edad se empleó una prueba ANOVA, considerando una diferencia significativa de  $p < 0.05$ . Se analizó las proporciones de profundidad y AHF mediante una prueba de  $\chi^2$ , considerando significancia con un nivel de  $p < 0.05$ . Todos los cálculos se realizaron en Minitab15 para el análisis de las pruebas.

## VI. RESULTADOS

En un estudio observacional, transversal y analítico realizado en el Hospital de la Mujer ISSEA del estado de Aguascalientes, México, se determinó la prevalencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *Porphyromonas gingivalis*. 120 mujeres distribuidas en tres grupos:

40 en el grupo 1 integrado con mujeres con diabetes gestacional (grupo DG), donde el promedio de edad de las paciente fue de  $31.2 \pm 5.26$  con un rango de 18 a 43 años, el promedio de Índice de Masa Corporal (IMC) fue de 30.17, con un rango de 21 a 46 kg /m<sup>2</sup>, presentaron un promedio de años de estudio de 7 con un rango de 5 a 11 años, el 75% manifestó tener historia familiar positiva para diabetes (AHF), tener un promedio de ingreso mensual de 3930.00 pesos con un rango de 1999.00 a 8999.00; además este grupo presentó una mediana de 3 embarazos con un rango de 1 a 8 embarazos.

40 en el grupo 2 integrado con mujeres embarazadas sin diabetes (grupo ESD) que presentó un promedio de edad de  $28.65 \pm 6.32$  con un rango de 18 a 42 años el promedio de Índice de Masa Corporal (IMC) fue de 24.85, con un rango de 18 a 41 kg /m<sup>2</sup>, presentaron un promedio de años de estudio de 7.20 con un rango de 5 a 12 años, el 55 % manifestó tener historia familiar de diabetes, un ingreso mensual promedio de 4230.00 pesos con un rango de 1387.00 a 8400.00; además presento una mediana de 2 embarazos con un rango de 1 a 7 embarazos.

40 mujeres en el grupo 3 conformado por mujeres sin embarazo y sin diabetes (grupo SESD) el cual presentó un promedio de edad de  $27.82 \pm 8.32$  con un rango de 18 a 45 años el promedio de índice de masa corporal(IMC) fue de 25.250 con un rango de 17 a 36 kg /m<sup>2</sup>, presentaron un promedio de años de estudio de 7.150 con un rango de 5 a 12 años, el 50 % manifestó tener historia familiar de diabetes, un promedio mensual de ingreso de 4105.00 pesos con un rango de 1600.00 a 8999.00; además presento una mediana de embarazos de 2 con un rango de 0 a 5 embarazos.

Las medias se sometieron a una prueba ANOVA y las proporciones y medianas a una prueba de  $\chi^2$ , no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad, escolaridad, ingreso familiar, número de embarazos y antecedentes heredofamiliares para diabetes entre los diferentes grupos bajo estudio. (Tabla 1).

Para la detección molecular y la genotipificación de *Porphyromonas gingivalis* se optimizó un protocolo descrito por Amano y cols (1999). La evaluación de la presencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* se seleccionaron por ser los más prevalentes y patogénicos de acuerdo a lo reportado en la literatura. Las muestras fueron tomadas a través de un novedoso método consistente en el uso de tirillas elaboradas con papel FTA. En cada fragmento de 1 mm<sup>2</sup> (indicando este el nivel de profundidad) se analizó la presencia de ambos genotipos. La representación gráfica de los productos amplificados se muestra en la figura 1.

La proporción de genotipos de *P. gingivalis* encontrados por grupo de estudio, fue la siguiente:

El grupo DG presentó el 52.5 % para *fimA II* y para *fimA IV* una proporción 5 veces menor (10%). El grupo ESD presentó una proporción similar tanto para *fimA II* (32.5%) como para *fimA IV* (27.5%); mientras que en el grupo SESD encontramos un 25% para *fimA II* y el doble de porcentaje (50%) para *fimA IV*, como se puede observar en la tabla 2.

El genotipo *fimA II* fue más prevalente en mujeres con diabetes gestacional que en los demás grupos al estar en el 52.5% de las pacientes; mientras que el genotipo *fimA IV* tuvo mayor prevalencia en las mujeres que no presentaron embarazo ni diabetes con un 50 %  
Ver grafica 1

Con los datos anteriores se realizó una prueba de  $\chi^2$  a fin de establecer las diferencias estadísticas en la prevalencia de ambos genotipos, encontrando que las prevalencias del genotipo *fimA II* son significativamente diferentes de los grupos de estudio entre sí (p=0.024) al igual que para *fimA IV* (p=0.000)



De acuerdo a las directrices sugeridas por la Federación Europea de Periodontología /Asociación americana de Periodontología, en estudios en donde se analizan asociaciones de alteraciones periodontales con diabetes gestacional, es necesario incluir otros factores como el sobrepeso, los antecedentes heredofamiliares (AHF), raza, etnicidad y localización geográfica entre otros. En este estudio se analizó la asociación de los antecedentes heredofamiliares (AHF) de DM tipo 2, el número de embarazos y el índice de masa corporal con la presencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis*.

Por lo que establecimos la proporción de antecedentes heredo familiares para diabetes en las pacientes de los distintos grupos y encontramos que el grupo de diabetes gestacional presentó el mayor porcentaje con 30 pacientes de 40; seguido del grupo de embarazadas sin diabetes con 22 de 40 y el de sin embarazo sin diabetes 20 de 40 pacientes. (p=0.054) Se consideró los antecedentes heredofamiliares para diabetes de acuerdo a la presencia de los genotipos y encontramos que en las pacientes positivas para *fimA II* había 18 pacientes de 21 en el grupo DG, 7 de 13 en el grupo ESD y 7 de 10 en el grupo SESD. (p=0.125) Ver grafica 2

Para las pacientes positivas para el genotipo *fimA IV* encontramos que en el grupo DG 4 de 4 presentaron heredofamiliares positivos para diabetes, 7 de 11 en el grupo ESD y 13 de 20 en el grupo SESD (p=0.006).

Así mismo determinamos la distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia de los genotipos o su ausencia en los grupos de estudio y encontramos que:

En el grupo DG encontramos que 11 mujeres de las 21 positivas para *fimA II* tenían una edad de entre 36 a 40 años siendo el de mayor frecuencia; para las *fimA IV* positivas la mayor frecuencia se ubicó en el grupo de 21 a 25 años con 2 pacientes de 4; para las pacientes que no presentaron algún genotipo el grupo de mayor frecuencia fue también el de 21 a 25 años. Ver grafica 3

Para el grupo ESD encontramos que el grupo de edad con mayor frecuencia para las pacientes positivas para *fimA II* fue en el de 21 a 25 años con 4 pacientes de 13; para las

pacientes positivas para *fimA IV* 4 de 11 tuvieron de 31 a 35 años y las que no presentaron algún genotipo el rango de edad con mayor frecuencia fue el de 26 a 30 años con 6. Ver grafica 4.

En el grupo SESD el grupo de mayor frecuencia para las 10 pacientes *fimA II* positivas fue el de 21 a 25 años con 5; que fue el mismo grupo con 7 pacientes de las 20 par apacientes *fimA IV* positivas, al igual que para las pacientes sin algún genotipo con 9 pacientes. Ver grafica 5.

El Índice de Masa Corporal previo al embarazo en las pacientes del grupo DG, encontramos que en las pacientes positivas para *fimA II* el mayor número de pacientes se encontró en el rango de 30.0 a 39.9 Krs/m<sup>2</sup>, al igual que para las pacientes positivas para *fimA IV*, mientras que para las pacientes sin presencia de algún genotipo fue el rango de 25 a 29.9 Kg /m<sup>2</sup>. Ver grafica 6

Mientras que para las pacientes del grupo ESD encontramos que en las pacientes positivas para *fimA II* el mayor número de pacientes se encontró en el rango de 18.5 a 24.9 Kg /m<sup>2</sup>, al igual que para las pacientes positivas para *fimA IV* y para las pacientes sin presencia de fim. Ver grafica 7.

En las pacientes del grupo SESD encontramos que en las pacientes positivas para *fimA II* el mayor número de pacientes se encontró en el rango de 18.5 a 24.9 Kg /m<sup>2</sup>, al igual que para las pacientes positivas para *fimA IV* y para las pacientes sin presencia de fim. Ver grafica 8.

Se encontró que el grupo DG presentó un mayor índice de masa corporal estadísticamente significativo para ambos genotipos (p=0.008).

Las medianas de embarazos se sometieron a una prueba de  $\chi^2$  en las pacientes *fimA II* positivas y no se encontró una diferencia significativa (p=0.102) tampoco se encontró diferencia significativa entre las medianas entre las pacientes *fimA IV* positivas (p=0.102).

Los resultados resumidos se pueden observar en las tablas 3 y 4

Al determinar el Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la Comunidad (INTPC), se encontró que el grupo con diabetes gestacional y sin diabetes gestacional se ubicaron en el código 3 y el grupo sin embarazo y sin diabetes en el código 2 Ver tabla 5.

Al considerar la profundidad encontrada en el espacio subgingival y de acuerdo a la presencia de *fimA II*, *fimA IV*, o sin presencia de *fim* encontramos que para *fimA II*:

En el grupo de DG, para la profundidad más frecuente fue la de 3.1 a 4 mm con 8 pacientes de 21, al igual que para *fimA IV* con 3 pacientes de 4; y para pacientes sin presencia de alguno de los genotipos la profundidad con mayor número de pacientes fue la de 2.1-3 mm con 5. Ver grafica 9.

En el grupo ESD la distribución de mayor frecuencia fue de 3.1-4 mm de profundidad con 5 pacientes de 13 para *fimA II*, para *fimA IV* de 3.1 a 4mm con cuatro pacientes de 11. Mientras que para las pacientes que no presentaron algún genotipo 6 presentaron una profundidad similar. Ver grafica 10

En el grupo de SESD la distribución para la profundidad fue la siguiente: para *fimA II* de 2.1 a 3 mm con 7 pacientes, y la misma profundidad para *fimA IV* con 10 pacientes y para pacientes sin algún genotipo con 7 pacientes. Ver grafica 11

Al someter a prueba de  $\chi^2$  los resultados anteriores, estableciendo profundidad mayor a 3mm y menor de 3 mm encontramos los siguientes resultado para las pacientes *fimA II* positivo: no existe diferencia significativa entre los grupos en estudio ( $p=0.374$ ); ni para las pacientes *fimA IV* positivo ( $p=0.854$ )

**TABLAS Y FIGURAS**



**Figura 1. Toma de muestra.**

**Figura 1.-** Toma de muestra.- Muestra obtenida insertando una tira de papel FTA (Whatmann, GE., Buckinghamshire, UK) con medida de 1.5 mm de ancho por 12 mm de largo, por espacio de 20 segundos en la cara mesial del 16



**Figura 2. Comparación sonda periodontal con tirilla FTA Card.**

**Figura 2.-** Medición de la profundidad del espacio subgingival registrada en la toma de muestra con sonda periodontal, y presencia de sangrado durante el procedimiento.



**Figura 3. Corte papel FTA Card en segmentos de 3 mm**

Corte de la muestra tomada con papel FTA Card en segmentos de 1 mm



**Figura 4. Segmentos de 1 mm. de la muestra, depositadas en microtubos listos para su procesamiento**

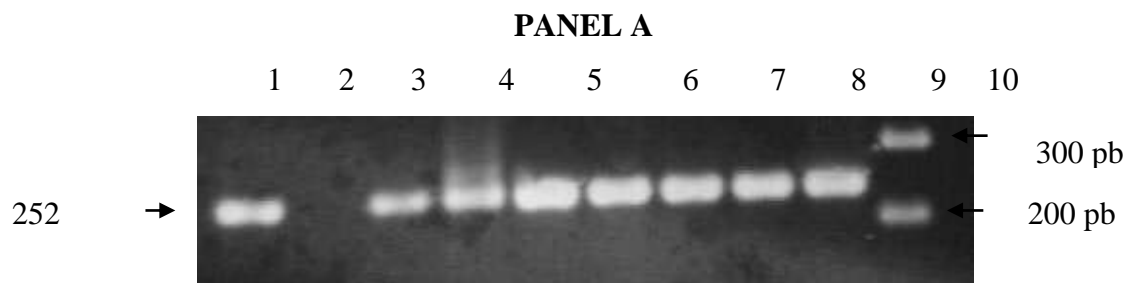


Figura 5. Compuesta panel A  $\beta$  globina.

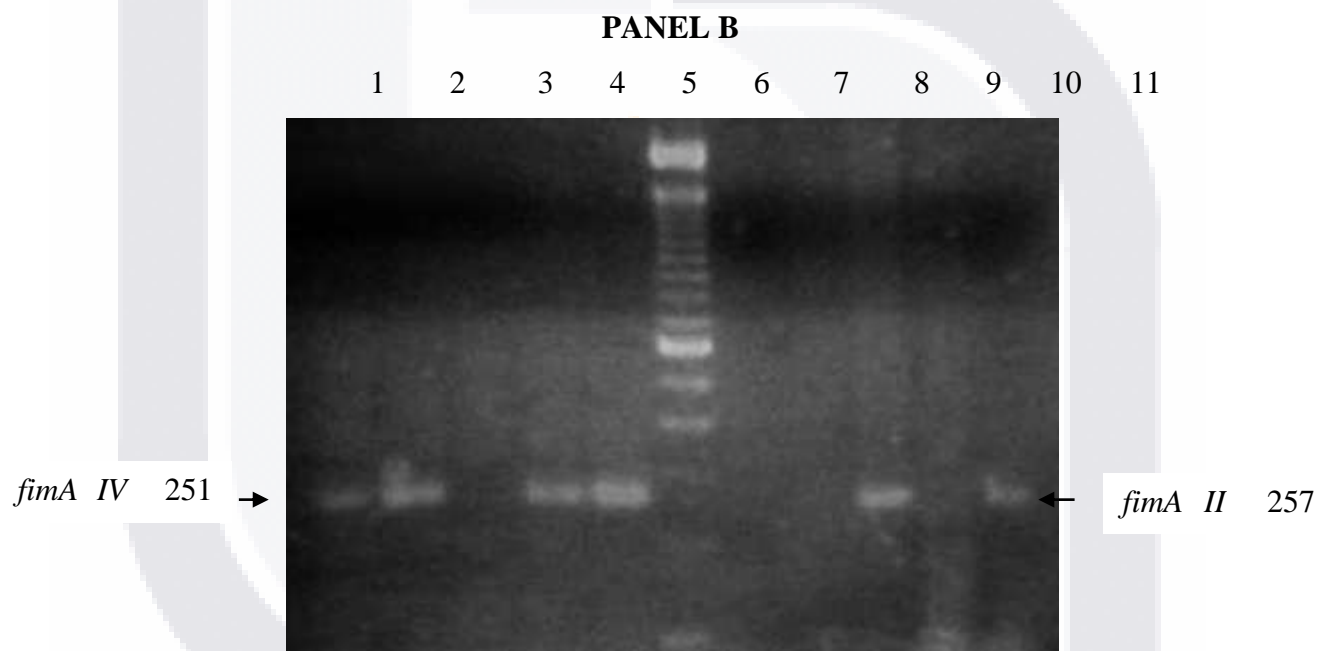


Figura 6. Compuesta panel B *fimA II* y *fimA IV*.

PANEL C

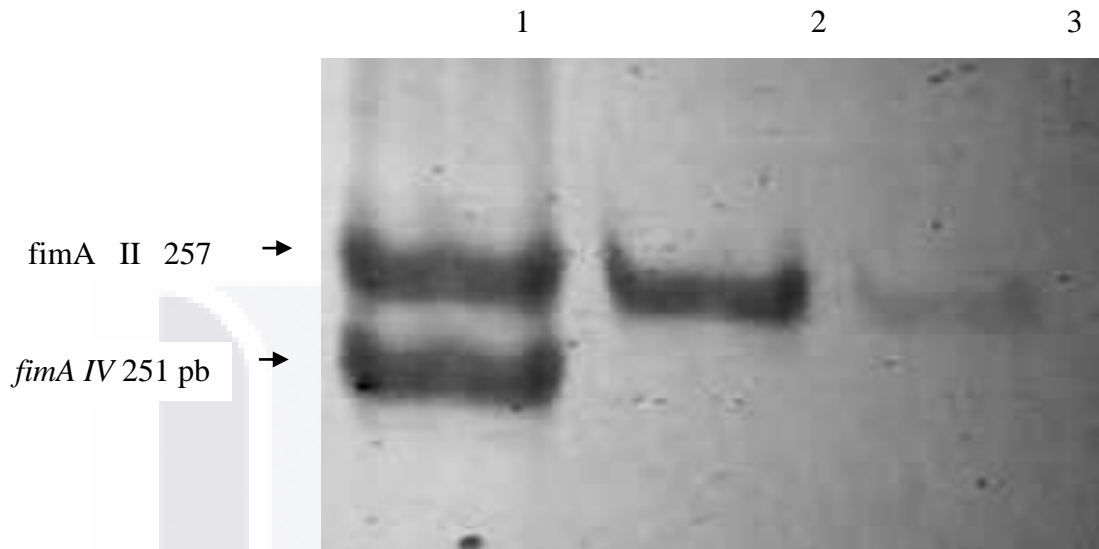


Figura 7. Compuesta panel C PCR Multiplex

**Figura 4.** Separación electroforética de productos de PCR para la caracterización de genotipos *fimA II* y *fim IV* de *Porphyromonas gingivalis*. Las Muestras fueron amplificadas a partir de papel FTA introducido en el surco gingival de pacientes femeninas. Panel A, amplificación de fragmentos del gen de la  $\beta$ -globina como reacción de control interna. Carriles: 1, Control positivo, ADN K 562, 2, control negativo (agua); carriles 3-9 muestras de pacientes; carril 10; marcador de peso molecular, 100pb ladder. Panel B, caracterización de genotipos *fimA II* y *fim IV* de *Porphyromonas gingivalis* en geles de agarosa al 2%. Carriles 1- 5, muestras de pacientes amplificadas con cebadores para *fimA II*; carril 6 marcador de peso molecular, 100 pb ladder, carriles 7 – 11 muestras de pacientes amplificadas con cebadores para *fimA IV*. Panel C, amplificación a través de PCR multiplex utilizando cebadores contra *fimA II* y *fim IV*. Los productos de amplificación fueron separados en geles de acrilamida al 3%. Carriles: 1, coinfección con *fimA II* y *IV*, 2-3. Amplificación de genotipo *fimA II*.

**Tabla 2. Características demográficas de los grupos en estudio.**

	Grupo DG	Grupo ESD	Grupo SESD	p
EDAD	31.20 ± 6.85	28.65 ± 6.14	27.82 ± 8.36	0.095
ESCOLARIDAD	7.0 ± 1.485	7.20 ± 1.604	7.15 ± 1.847	0.853
INGRESO FAMILIAR	290 ± 129.38	325.38 ± 131	312.69 ± 174.56	0.479
HISTORIA FAMILIAR PARA DIABETES	30/40	22/40	20/40	0.054
MEDIANA DE No. DE EMBARAZOS	3	2	2	0.147
IMC	30.17 ± 5.13	24.85 ± 6.04	25.25 ± 5.19	0.000

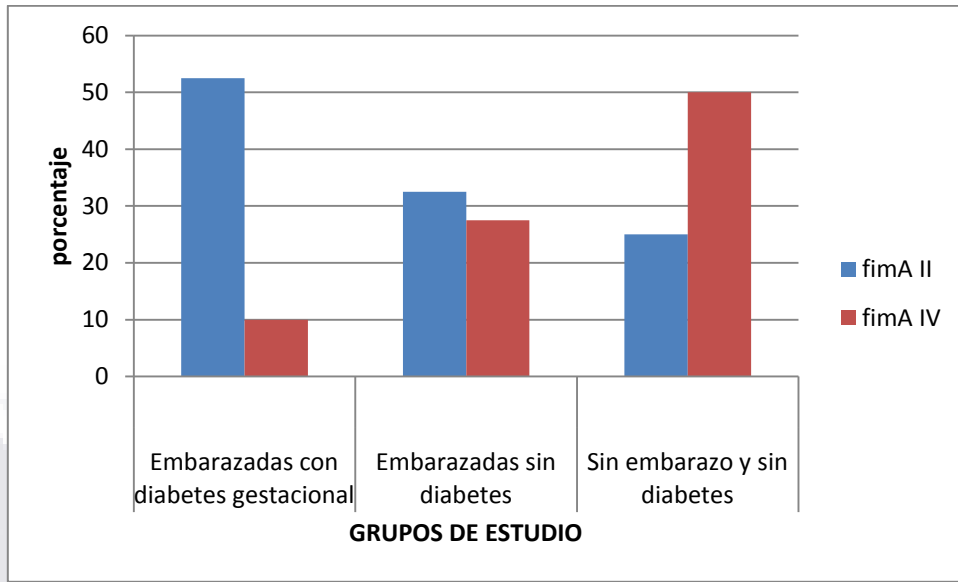
**Tabla 2.-** La edad se expresó en años, la escolaridad en años de estudio, el ingreso familiar se registra por mes y en dólares, la historia familiar se expresa en porcentaje con N=40 por grupo, el número de gestas de la paciente y el índice de masa corporal en Kg /m<sup>2</sup>.

**Tabla 3. Proporción de genotipos fimA II y fimA IV por grupo de estudio.**

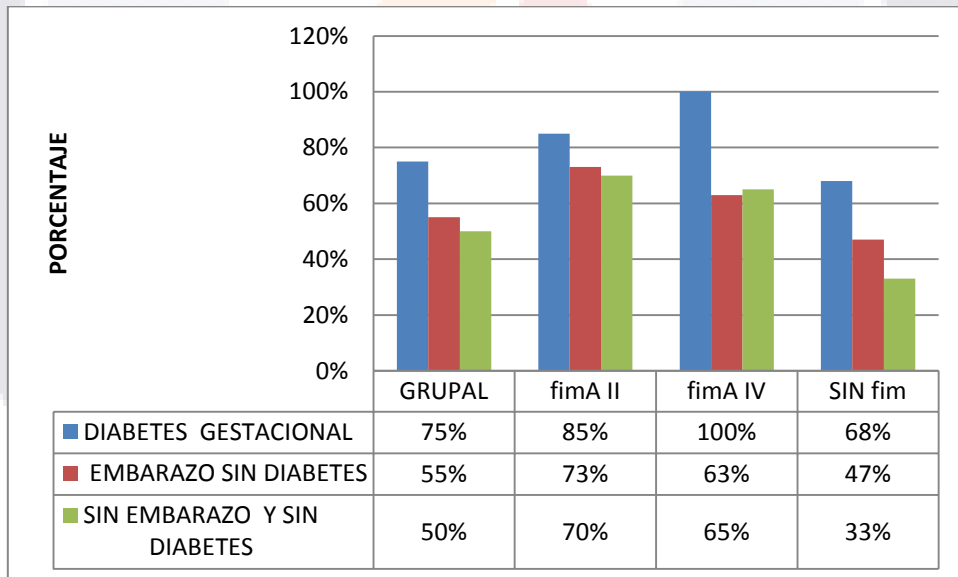
Genotipo	Embarazadas con diabetes gestacional		Embarazadas sin diabetes		Sin embarazo y sin diabetes	
	n	%	n	%	n	%
<i>fimA II</i>	21/40	52.5	13	32.5	10	25
<i>fimA IV</i>	4/40	10	11	27.5	20	50

**Tabla 3.-** Relación del número de pacientes (n) que presento de *fimA II* y *fimA IV* y la prevalencia expresada en porcentaje (%) observadas en cada grupo

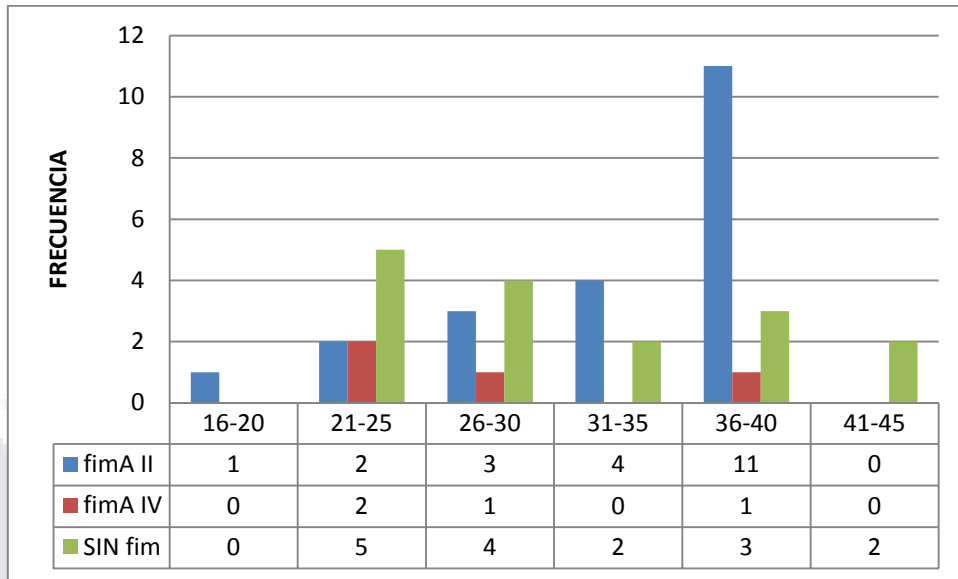




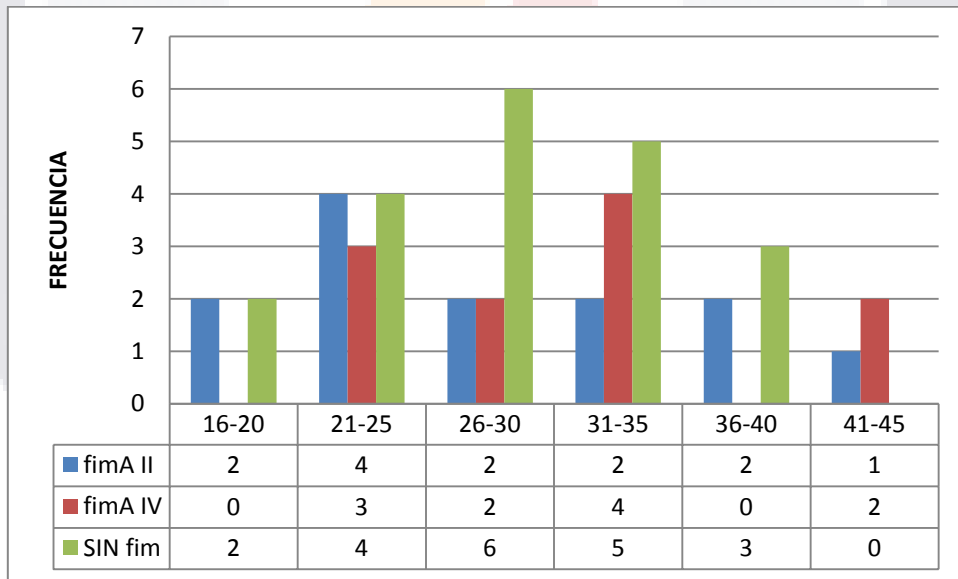
**Gráfica 1. Prevalencia expresada en porcentaje de los *fimA II* ( $p < 0.024$ ) y *fimA IV* ( $p < 0.000$ ) de *Porphyromonas gingivalis* observadas en las mujeres con diabetes gestacional, embarazadas sin diabetes y en mujeres sin embarazo y sin diabetes**



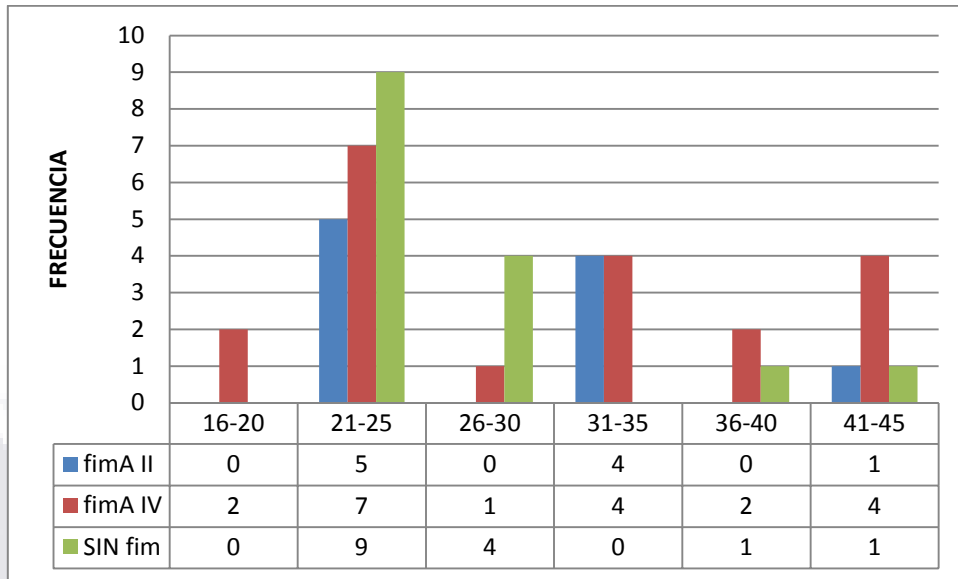
**Gráfica 2. Relación de distribución de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *Porphyromonas gingivalis*, en relación a los antecedentes heredofamiliares de las mujeres de los grupos bajo estudio. En la presente figura se puede observar el elevado porcentaje de antecedentes heredofamiliares en las pacientes positivas para *fimA IV* del grupo de diabetes gestacional.**



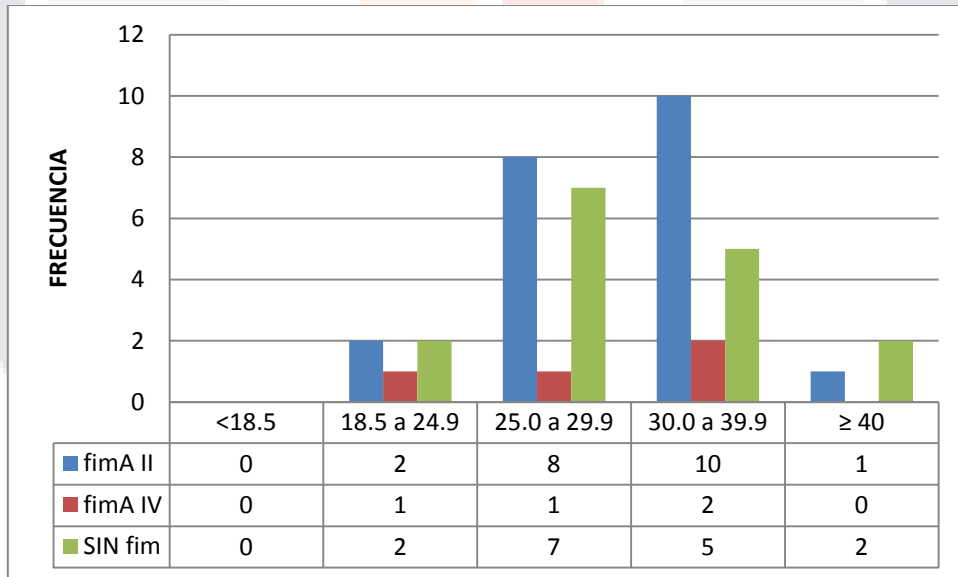
Gráfica 3. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en el grupo de Diabetes Gestacional; en la gráfica se puede observar que las pacientes *fimA II* presentaron una mayor frecuencia en el grupo de 36 a 40 años



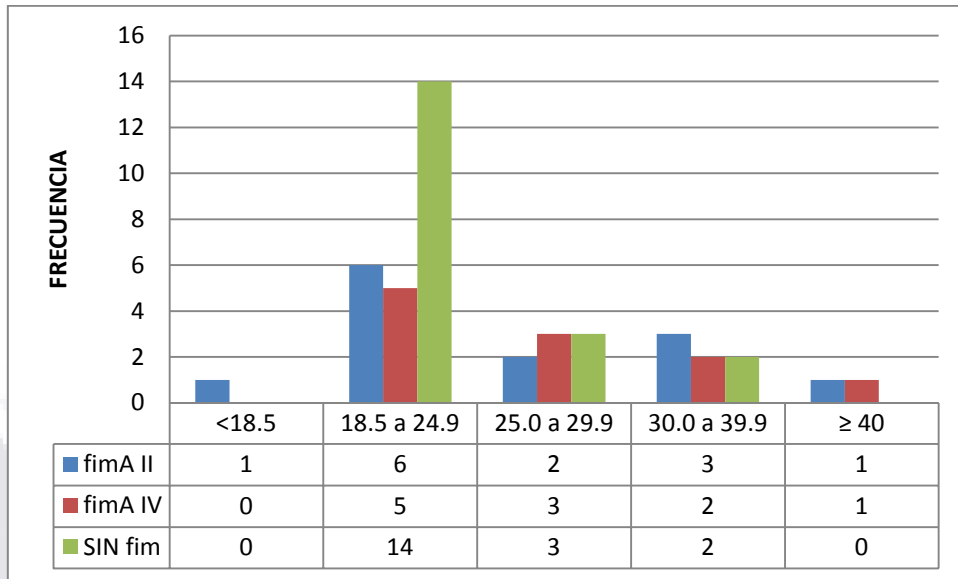
Gráfica 4. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en el grupo Embarazo Sin Diabetes; A pesar de una distribución homogénea en los distintos grupos de edad para los dos genotipos, encontramos 3 pacientes con presencia de alguno de los genotipos en el grupo de edad de 41 a 45 años



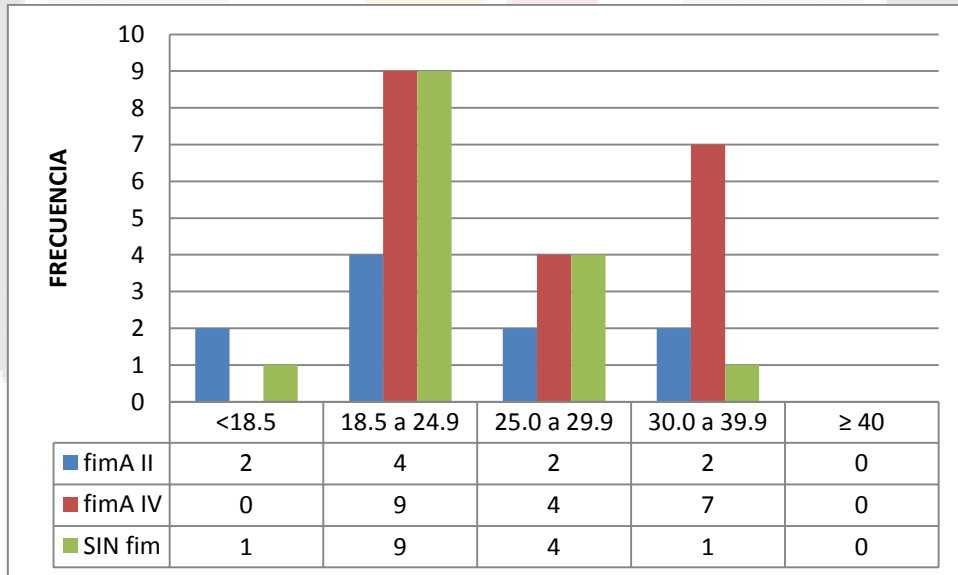
Gráfica 5. Distribución de las pacientes por grupos de edad de acuerdo a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en el grupo Sin Embarazo y Sin Diabetes; en este grupo el rango de edad que presentó mayor frecuencia para la presencia de los 2 genotipos fue el de 21 a 25 años.



Gráfica 6. Distribución de las pacientes de acuerdo al Índice de Masa Corporal y a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en el grupo de Diabetes Gestacional, donde se aprecia que 10 de las 21 pacientes *fimA II* positivas presentaron un Índice de Masa Corporal considerado como obesidad 8 con sobrepeso.



**Gráfica 7. Distribución de las pacientes de acuerdo al Índice de Masa Corporal y a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis* en el grupo de Embarazo Sin Diabetes, nótese la distribución similar para la presencia de los dos genotipos en estudio, de tal forma que la mayor distribución se concentra en un índice de masa corporal que se considera de peso normal.**



**Gráfica 8. Distribución de pacientes Sin Embarazo y sin Diabetes de acuerdo al Índice de masa corporal en base a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis*; como se puede apreciar en la gráfica, casi la mitad de las paciente que presentan *fimA IV* tienen un índice de masa corporal clasificado como normal y siete de ellas presentan obesidad**

**Tabla 4. Porcentaje y medias de factores de riesgo para diabetes gestacional en pacientes fimA II positivas**

fimA IV	AHF Diabetes n            %	Edad $\mu$	No. Embarazos mediana	IMC $\mu$
DIABETES GESTACIONAL	4/4 100	29.25 $\pm$ 7.37	3	29.00 $\pm$ 5.72
EMBARAZADAS SIN DIABETES	7/11 63.5	26.63 $\pm$ 8.49	3	26.91 $\pm$ 6.27
SIN EMBARAZO Y                    SIN DIABETES	13/20 65	29.05 $\pm$ 9.42	2	27.2 $\pm$ 5.67

**Tabla 4.-** Porcentaje (%) y número de pacientes (n) con antecedentes heredo-familiares para diabetes, media ( $\mu$ ) y desviación estándar ( $\sigma$ ) de edad en años, Índice de Masa Corporal en Kg/m<sup>2</sup> (IMC), profundidad en mm y mediana de número de embarazos en pacientes fimA II positivo

**Tabla 5. Porcentaje y medias de factores de riesgo para diabetes gestacional en pacientes fimA IV positivas.**

fimA II	AHF Diabetes		Edad	No Embarazos	IMC
	n	%	$\mu$	mediana	$\mu$
Diabetes Gestacional	18/21		32.86 $\pm$	3	29.43 $\pm$ 4.73
	85.71		6.39		
Embarazadas sin Diabetes	7/13		22.84 $\pm$	2	25.92 $\pm$ 7.38
	53.84		6.58		
Sin Embarazo y Sin Diabetes	7/10	70	26.09 $\pm$	3	24.10 $\pm$ 5.65
			8.03		

**Tabla 5.-** Porcentaje (%) y número de pacientes (n) con antecedentes heredo-familiares para diabetes, media ( $\mu$ ) y desviación estándar ( $\sigma$ ) de edad en años, Índice de Masa Corporal en Kg/m<sup>2</sup> (IMC), profundidad en mm y mediana de embarazos en pacientes fimA IV positivo

**Tabla 6. Distribución de pacientes de acuerdo a la profundidad y grados del INTPC**

	GRADO 2		GRADO 3		GRADO 4	
	Menos de 3mm		3 a 5.5 mm		Más de 5.5mm	
	n	%	n	%	n	%
Diabetes gestacional	8	20	31	77.5	1	2.5
Embarazadas sin diabetes	13	32.5	26	65	1	2.5
Sin embarazo y sin diabetes	34	85	6	15	0	0

**Tabla 6.-** Relación de la distribución del número de pacientes por grupo de acuerdo a la profundidad y grados de severidad y tratamiento señalada en el INTPC:

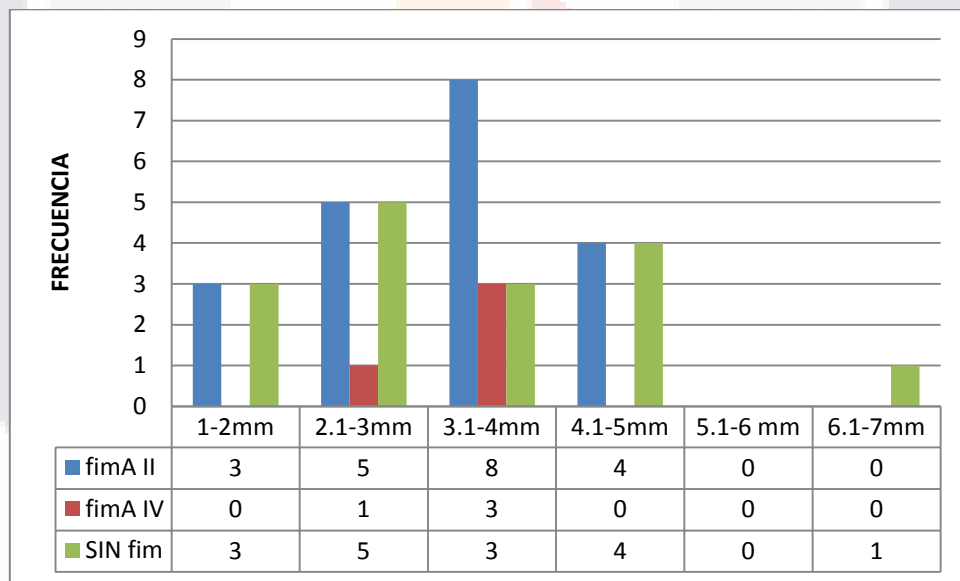
Código 0: sin sangrado ni cálculo al sondeo; la profundidad es menor a 3.5 mm y por lo tanto no se requiere tratamiento.

Código 1: sangrado gingival sin cálculo, la profundidad es menor a 3.5 mm y solo se necesita mejorar la higiene.

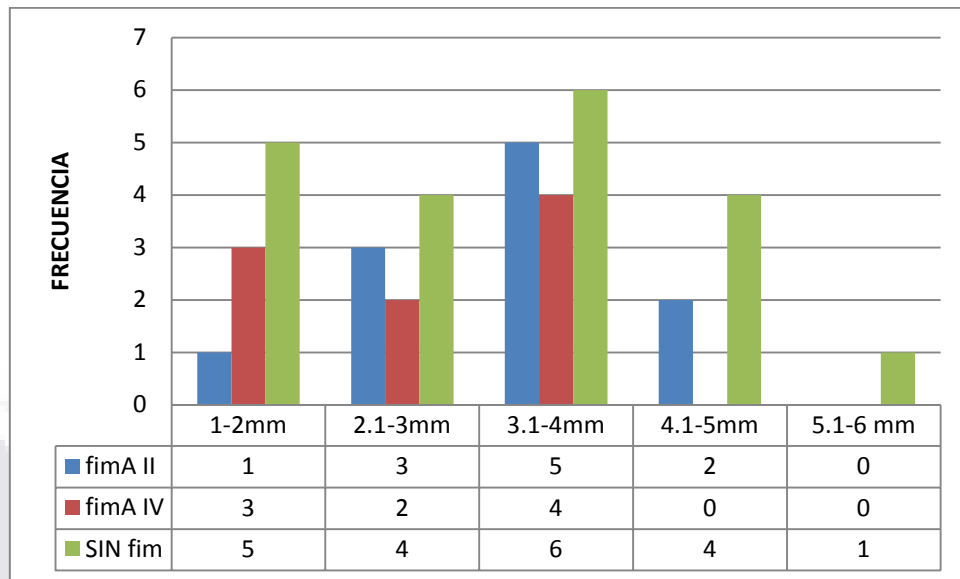
Código 2: sangrado y cálculo, la profundidad es menor a 3.5 mm y se requiere mejorar la higiene, raspado y alisado radicular.

Código 3: mismos signos que el anterior, pero la profundidad al sondeo va de 3.5 a 5.5 mm. Se requiere mejoramiento de la higiene bucal, raspado y alisado radicular.

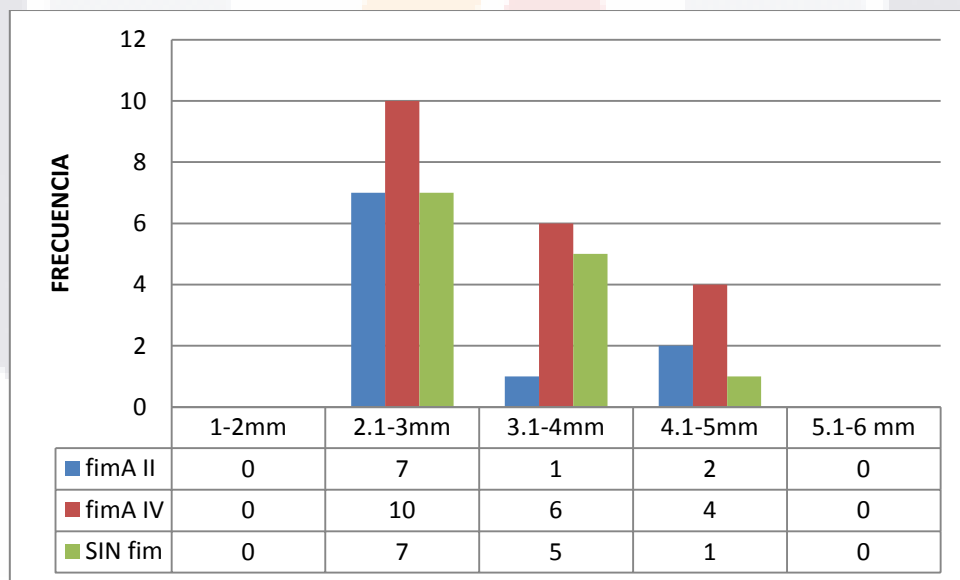
Código 4: signos del código 3 y profundidad al sondeo mayor a 5.5 mm. Además del mejoramiento de la higiene, raspado y alisado radicular, es necesario tratamiento quirúrgico complejo.



**Gráfica 9. Distribución de pacientes con Diabetes Gestacional de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival en relación a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis*. Ocho pacientes con diabetes gestacional, que fue la mayoría presentaron una profundidad entre 3.1 y 4 mm como se observa en esta grafica**



**Gráfica 10. Distribución de pacientes Embarazadas Sin Diabetes de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival en relación a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis*. En la gráfica se observa que el rango de profundidad de mayor frecuencia para los dos genotipos fue el de 3.1 a 4 mm**



**Gráfica 11. Distribución de acuerdo a la profundidad del espacio subgingival que presentaron los pacientes del grupo Sin Embarazo y Sin Diabetes en relación a la presencia o ausencia de los genotipos *fimA II* y *fimA IV* de *P. gingivalis*. En esta grafica se puede apreciar que la mayor frecuencia para los dos genotipos correspondió al rango de profundidad de 2.1 a 3 mm.**



## VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los diversos estudios que relacionan la presencia de *P. gingivalis*, y por lo tanto con la lesión de los tejidos de soporte dental, con el nivel glicémico en pacientes con diabetes tipo 2, <sup>78</sup> se corrobora en este estudio donde el genotipo *fimA II* de *P. gingivalis* presentó un mayor porcentaje en las mujeres con diabetes gestacional que en aquellas mujeres que presentan embarazo sin hiperglicemia.

Esto nos orienta a pensar que a pesar del incremento en los niveles hormonales durante el embarazo, (de 10 a 30 veces más elevadas que durante la menstruación) y de que la *Porphyromonas gingivalis* utiliza estas hormonas como fuente de nutrientes, no es el único factor responsable de una mayor presencia de este genotipo.<sup>79</sup> Llama la atención que si el estatus hormonal es el factor principal en el aumento de porcentaje del genotipo *fimA II*, los resultados serían similares a los encontrados en el grupo de mujeres embarazadas sin diabetes, donde fue semejante la presencia del genotipo *fimA II* (32.5%) y del genotipo *fimA IV* (27.5%) y la suma de estos genotipos fue análoga a las mujeres que no presentaron algún genotipo (40%).

Sin embargo como se ha visto es casi el doble la prevalencia del genotipo *fimA II* en el grupo DG que en el de ESD. Una explicación de este hecho de acuerdo a lo publicado, es que la hiperglicemia está asociada a un mayor riesgo de padecer enfermedad del periodonto, debido a una alteración en la respuesta inmune causada por inadecuada quimiotaxis y fagocitosis y por lo tanto a una mayor susceptibilidad del paciente diabético a padecer procesos infecciosos.<sup>80</sup> Además, como ya se mencionó durante la gestación se suma el incremento hormonal que también puede generar una desregulación del sistema inmune<sup>81</sup> Estos hechos refuerzan el concepto de una relación bidireccional entre la diabetes mellitus como entidad nosológica que predispone a procesos infecciosos en la cavidad oral, como es el caso de la enfermedad del periodonto y la presencia de los factores de virulencia, expresados por los microorganismos del biofilm subgingival, que promueven mediadores inflamatorios relacionados con un procesos inflamatorios crónicos y su

capacidad de generar resistencia a la insulina lo que impide un adecuado control glicémico<sup>82,83</sup> o bien, contribuyen a la aparición de diabetes en pacientes con factores de riesgo presentes como son factores genéticos, vida sedentaria, obesidad y otras condiciones como son inflamación crónica por infecciones de baja intensidad<sup>84</sup>

Mención aparte son los resultados encontrados en el grupo Sin Embarazo y sin diabetes (SESD), donde el 50% presento *fimA IV* y el 25 % *fimA II*; donde sin la influencia hormonal ni la presencia de hiperglicemia, como es el caso de este grupo de pacientes, el genotipo más prevalente fue el *fimA IV*, que se ha relacionado principalmente con casos de gingivitis, según lo reportado por Morten, quien en un estudio realizado en una población brasileña con gingivitis, reporto un 65 % de prevalencia. Probablemente la discrepancia con el estudio realizado en México se deba a que de una muestra de 25 pacientes solo 17 eran mujeres.

La poca prevalencia de *fimA II* encontrada en este grupo nos demuestra que los cambios hormonales influyen en el incremento de la prevalencia de este genotipo, presencia que se ve potencializada por la de diabetes gestacional.

Debemos recordar que la capacidad patogénica de este genotipo es debida a su mayor nivel de transcripción del gen *fimA*, a su habilidad de adherencia a las estructuras del hospedador y por lo tanto de su colonización además de su mayor capacidad de promover mediadores inflamatorios en comparación con los demás genotipos. De tal forma, se ha reportado que el genotipo *fimA II* tiene 20 veces mayor expresión del gen *fimA* que el genotipo *fimA IV*. Así pues, el genotipo *fimA II* se ha asociado a la presencia de mayor profundidad del espacio subgingival, mayor severidad de la lesión, en agrandamiento gingival por medicamentos y una mayor presencia en diabetes mellitus tipo 2 . En tanto que el genotipo *fimA IV* ha sido mayormente asociado en casos de gingivitis<sup>42</sup>

Los resultados de este estudio establecen que no solamente el estatus hormonal es suficiente para esta colonización<sup>31</sup>. Asimismo se menciona que existen profundos cambios durante el embarazo que redundan en una inmunodepresión de la gestante lo que

contribuiría a dicha colonización<sup>32</sup>. Es evidente en la condición patológica de la DG, en particular la endotelitis<sup>33</sup> y otros eventos adversos que generan una sobre migración de elementos humorales y celulares de la respuesta inmune pudieran contribuir al daño celular y permitir que la bacteria colonice esos sitios dañados<sup>34</sup>. Más estudios son necesarios para establecer los eventos bioquímicos que favorecen la colonización del tejido de soporte en el caso de las mujeres con DMG.

Se ha reportado con anterioridad que la población de *P. gingivalis* fimA II es susceptible a los incrementos de la HbA1C<sup>86</sup>. En nuestro estudio, a pesar de que todas las pacientes analizadas, presentaban un buen control glicémico, determinado éste con la glucosa basal y la hemoglobina glicosilada, era de esperar que encontráramos una baja prevalencia, la elevada proporción del genotipo fimA II de *P. gingivalis* encontrada no necesariamente indica que ésta se encuentre activa en cuanto a su infección ya que el estudio realizado por Ling se llevó a cabo con anticuerpos monoclonales para fimbrias, sin embargo nuestros hallazgos sugieren que este genotipo muestra una elevada persistencia y que ante cambios fisiológicos específicos como producto de la pérdida del control glicémico pueden generar una rápida producción de fimbrias y por ende un acelerada progresión de la enfermedad periodontal.

Al considerar los factores de riesgo para diabetes y su relación con la presencia o no de los genotipos, observamos que el mayor número de pacientes con antecedentes heredo familiares para diabetes los presento el grupo DG lo que corrobora este factor de riesgo como preponderante para el padecimiento de diabetes tipo 2 tanto en la población México-americana como la mexicana debido a una variación de transcripción en la región genómica *TCF7L2* que es un factor de riesgo para DM 2<sup>87</sup>

Sin embargo los antecedentes heredo familiares para diabetes en las pacientes positivas para el genotipo *fimA II* de las mujeres con diabetes gestacional al compararlo con el grupo de embarazadas sin diabetes, no resultaron significativamente diferentes. Lo que viene a fortalecer la evidencia de la presencia de este factor de riesgo asociado a un proceso

infeccioso de baja intensidad que genera una inflamación crónica que favorece la aparición tanto de diabetes gestacional, como de diabetes tipo 2.

Así mismo las mujeres con diabetes gestacional positivas para *fimA II* y para *fimA IV*, presentaron mayor edad que las mujeres sin diabetes que es considerado un factor de riesgo para periodontitis y para diabetes tipo 2<sup>88</sup>.

Encontramos que el índice de masa corporal previo al embarazo, consignado en el expediente clínico, que presentaron las mujeres positivas para *fimA II* y *fimA IV* con diabetes gestacional correspondía a una clasificación de obesidad ( $>30\text{Kg}/\text{m}^2$ ). Recordemos que la obesidad ha sido considerada, al igual que la edad y la historia familiar para diabetes, factor de riesgo para diabetes gestacional.<sup>89,90</sup>

Según lo reportado por diversos autores durante el embarazo la profundidad se incrementa por la inflamación gingival.<sup>91</sup> Sin una pérdida del nivel de inserción clínica.<sup>92</sup> Condición que en nuestro estudio se comprobó en las mujeres con diabetes gestacional y en las embarazadas (3.1-4 mm) que presentaron *fimA II* y *fimA IV*, a diferencia de las mujeres sin embarazo y sin diabetes (2.1-3mm).

Una aportación del presente trabajo es que se puede realizar la toma de la muestra a partir de tirillas de papel FTA un sustrato ampliamente utilizado en la conservación de muestras forenses. En nuestro trabajo el uso de papel FTA, por una parte funcionó de una manera muy similar a una forma de sondaje y por otra permitió conservar por mucho tiempo el ADN obtenido del biofilm subgingival y finalmente permite a través de PCR multiplex la posibilidad de detectar simultáneamente múltiples patógenos del biofilm subgingival. De la misma forma el uso de este sustrato permitió establecer el grado de profundidad al que se encuentran los genotipos de *P. gingivalis*. Una aportación interesante derivada de lo anterior es que pudimos detectar a los patógenos a una profundidad de hasta 2 mm, lo cual en términos de la clínica nos permite establecer a una paciente que está en riesgo potencial de desarrollar enfermedad del periodonto en cualquiera de sus formas, para lo cual deberá administrarse el tratamiento oportuno.

## CONCLUSIONES

Encontramos que las embarazadas con diabetes gestacional presentaron una mayor prevalencia del genotipo fimA II que las embarazadas sin diabetes gestacional; de igual forma, en este grupo encontramos una mayor profundidad del espacio subgingival. Descubrimos una mayor prevalencia del genotipo fimA IV en mujeres aparentemente sanas que en mujeres embarazadas con diabetes gestacional o sin diabetes.

Así mismo encontramos un mayor porcentaje de antecedentes heredofamiliares y un mayor índice de masa corporal previo al embarazo en las mujeres con diabetes gestacional que en las mujeres embarazadas sin diabetes.

Observamos un Código 3 del Índice de Necesidad de Tratamiento Periodontal de la Comunidad, en las mujeres del estudio. Lo que sugiere que no se le da la suficiente importancia al estado de salud de la cavidad oral por parte de las mujeres embarazadas.

Se necesitan más estudios de diseño longitudinal orientados a corroborar lo reportado aquí por nosotros y de esa manera establecer la existencia o no de una asociación entre los genotipos fimA II y fimA IV de *Porphyromonas gingivalis* y la diabetes mellitus gestacional.

Se deben implementar más campañas orientadas a concientizar a las mujeres para que tomen las medidas necesarias orientadas a tener un estado de salud adecuado antes de sus embarazos, de tal forma que les permita presentar un embarazo con el mínimo de complicaciones; o bien, una vez embarazada, durante las primeras semanas de gestación, tener una valoración odontológica integral para disminuir las probabilidades de estados patológicos que afecten tanto la salud de la madre como del recién nacido.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Karcaaltincaba D, Kandemir O, Yalvac S, Guvendag-Guven S, Haberal A. Prevalence of gestational diabetes mellitus and gestational impaired glucose tolerance in pregnant women evaluated by National Diabetes Data Group and Carpenter and Coustan criteria. *Int J Gynaecol Obstet* 2009 Sep;106(3):246-249.
- 2.- Dabelea D, Snell-Bergeon JK, Hartsfield CL, Bischoff KJ, Hamman RF, et al. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) over time and by birth cohort: Kaiser Permanente of Colorado GDM Screening Program. *Diabetes Care*. 2005;28:579–584. [[PubMed](#)]
- 3- American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004;27(Suppl 1):S88–90. [[PubMed](#)]
- 4.- Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, Buchanan TA, Catalano PA, Damm P, Dyer AR, Leiva A, Hod M, Kitzmiller JL, Lowe LP, McIntyre HD, Oats JJ, Omori Y, Schmidt MI 2010 International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. *Diabetes Care* 33:676–682
- 5.-[Angel Nadal<sup>1</sup>](#), [Paloma Alonso-Magdalena<sup>1</sup>](#), [Sergi Soriano<sup>1</sup>](#), [Ana B. Ropero<sup>1</sup>](#) and [Ivan Quesada<sup>1</sup>](#) The role of oestrogens in the adaptation of islets to insulin resistance November 1, 2009 *The Journal of Physiology*, 587, 5031-5037.
- 6.- *Kuhl C (1998). Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. Diabetes Care 21 (Suppl. 2), B19–B26.*
- 7.- Liu S, Le May C, Wong WP, Ward RD, Clegg DJ, Marcelli M, Korach KS & Mauvais-Jarvis F (2009). Importance of extranuclear estrogen receptor  $\alpha$  and membrane G protein-coupled estrogen receptor in pancreatic islet survival. *Diabetes*;

8.- Le May C, Chu K, Hu M, Ortega CS, Simpson ER, Korach KS, Tsai MJ & Mauvais-Jarvis F (2006). Estrogens protect pancreatic  $\beta$ -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 9232–9237

9.- Harris MI 1988 Gestational diabetes may represent discovery of pre-existing glucose intolerance. *Diabetes Care* 11:402–411

10.- Linda A. Barbour\*, Carrie E. McCurdy\*, Teri L. Hernandez and Jacob E. Friedman Chronically Increased S6K1 Is Associated with Impaired IRS1 Signaling in Skeletal Muscle of GDM Women with Impaired Glucose Tolerance Postpartum *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* May 1, 2011 vol. 96 no. 5 1431-1441

11.- Thomas A. Buchanan and Kathleen A. Page Approach to the Patient: Approach to the Patient with Gestational Diabetes after Delivery *JCEM* 2011 96: 3592-3598

12.- Brelje TC, Scharp DW, Lacy PE, Ogren L, Talamantes F, Robertson M, Friesen HG & Sorenson RL (1993). Effect of homologous placental lactogens, prolactins, and growth hormones on islet B-cell division and insulin secretion in rat, mouse, and human islets: implication for placental lactogen regulation of islet function during pregnancy. *Endocrinology* 132, 879–887.

13.- Jatta Pirkola, Anneli Pouta, Aini Bloigu, Satu Miettola, Anna-Liisa Hartikainen, Marjo-Riitta Järvelin and Marja Väärasmäki Prepregnancy Overweight and Gestational Diabetes as Determinants of Subsequent Diabetes and Hypertension after 20-Year Follow-Up *JCEM* 2010 95: 772-778;

14,. Tine D. Clausen, Overweight and the Metabolic Syndrome in Adult Offspring of Women with Diet-Treated Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes *JC*

15.- Soo Heon Kwak, Clinical and Genetic Risk Factors for Type 2 Diabetes at Early or Late Post Partum After Gestational Diabetes Mellitus *JCEM* 2013 98: E744-E752; doi:10.1210/jc.2012-3324

- 16.- ADA. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004;27(Suppl 1):88–90.
- 17.- Keshavarz M, Cheung NW, Babae GR, Moghadam HK, Ajami ME, Shariati M. Gestational diabetes in Iran: incidence, risk factors and pregnancy outcomes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;69:279–286.
- 18.-Khatun N, Latif SA, Uddin MM. Pregnancy associated complications of mothers with gestational diabetes mellitus. *Mymensingh Med J*. 2005;14:196–198.
- 19.- Hohmeier HE, Tran VV, Chen G, Gasa R, Newgard CB 2003 Inflammatory mechanisms in diabetes: lessons from the beta-cell. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 Suppl 3:S12–16
- 20.- Unger RH 2002 Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med* 53:319–336
- 21.- Padgett LE, Broniowska KA, Hansen PA, Corbett JA, Tse HM2013 The role of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in type 1 diabetes pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci*
- 22.-Ehse JA, Lacraz G, Giroix MH, Schmidlin F, Coulaud J, Kassis N, Irminger JC, Kergoat M, Portha B, Homo-Delarche F, Donath MY 2009 IL-1 antagonism reduces hyperglycemia and tissue inflammation in the type 2 diabetic GK rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 13998–14003
- 23.-Donath MY, Storling J, Maedler K, Mandrup-Poulsen T 2003 In- flammatory mediators and islet beta-cell failure:a link between type1 and type 2 diabetes. *J Mol Med* 81:455–470
- 24.-Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, et al. The pathophysiological influence of leptin and the tumor necrosis factor system on maternal insulin resistance: negative correlation with



anthropometric parameters of neonates in gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol* 2002;16:453–460. [PubMed: 12626032]

25.-Di Benedetto A, Russo GT, Corrado F, et al. Inflammatory markers in women with a recent history of gestational diabetes mellitus. *J Endocrinol Invest* 2005;28:34–38. [PubMed: 15816369]

26.-Agwunobi AO, Reid C, Maycock P, Little RA, Carlson GL. Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3770–3778. [PubMed:11061537]

27.- Trindade SC, Induction of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HmuY in humans. *J Periodontal Res.* 2012 Feb;47(1):27-32. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01401.x. Epub 2011 Aug 17.

28.-Holt, S. C., and J. L. Ebersole. 2005. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex,” a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol.* 2000 38:72–122

29.- A.P. Dasanayake, Periodontal Pathogens and Gestational Diabetes Mellitus *J Dent Res* 2008 (84) 328-33

30.-Xiong X, Buekens P, Vastardis S, Pridjian G. Periodontal disease and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:1086–1089.

31.- Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S & Jakubovics NS (2011) Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol* 8: 471–480.

32.-Zijngje V, van Leeuwen MB, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmur R & Harmsen HJ (2011) Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS ONE* 5: e9321.

33.-Hajishengallis G, Shakhathreh MA, Wang M & Liang S (2007) Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of *Porphyromonas gingivalis* and negates its virulence in vivo. *J Immunol* 179: 2359–2367.

34.- Hamed M, Belibasakis GN, Cruchley AT, Rangarajan M, Curtis MA & Bostanci N (2009) *Porphyromonas gingivalis* culture supernatants differentially regulate interleukin-1beta and interleukin-18 in human monocytic cells. *Cytokine* 45: 99–104.

35.- Bostanci N, Allaker RP, Belibasakis GN, Rangarajan M, Curtis MA, Hughes FJ & McKay IJ (2007a) *Porphyromonas gingivalis* antagonises *Campylobacter rectus* induced cytokine production by human monocytes. *Cytokine* 39: 147–156.

36.- Paramonov NA, Aduse-Opoku J, Hashim A, Rangarajan M & Curtis MA (2009) Structural analysis of the core region of O-lipopolysaccharide of *Porphyromonas gingivalis* from mutants defective in O-antigen ligase and O-antigen polymerase. *J Bacteriol* 191: 5272–5282.

37.- Darveau RP, Pham TT, Lemley K et al. (2004) *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4. *Infect Immun* 72: 5041–5051.

38.- Nemoto E, Darveau RP, Foster BL, Nogueira-Filho GR & Somerman MJ (2006) Regulation of cementoblast function by *P. gingivalis* lipopolysaccharide via TLR2. *J Dent Res* 85: 733–738.

39.- Rangarajan M, Aduse-Opoku J, Paramonov N et al. (2008) Identification of a second lipopolysaccharide in *Porphyromonas gingivalis* W50. *J Bacteriol* 190: 2920–2932.

40.- Sims TJ, Schifferle RE, Ali RW, Skaug N & Page RC (2001) Immunoglobulin G response of periodontitis patients to *Porphyromonas gingivalis* capsular carbohydrate and lipopolysaccharide antigens. *Oral Microbiol Immunol* 16: 193–201.

41.- Gonzalez D, Tzianabos AO, Genco CA & Gibson FC 3rd (2003) Immunization with *Porphyromonas gingivalis* capsular polysaccharide prevents *P. gingivalis*-elicited oral bone loss in a murine model. *Infect Immun* 71: 2283–2287.

42.- Dierickx K, Pauwels M, Laine ML, Van Eldere J, Cassiman JJ, van Winkelhoff AJ, van Steenberghe D & Quirynen M (2003) Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* serotypes to pocket epithelium. *J Periodontol* 74: 844–848.

43.- Brunner J, Scheres N, El Idrissi NB, Deng DM, Laine ML, van Winkelhoff AJ & Crielaard W (2010a) The capsule of *Porphyromonas gingivalis* reduces the immune response of human gingival fibroblasts. *BMC Microbiol* 10: 5.

44.- Amano A, Nakagawa I, Okahashi N & Hamada N (2004) Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. *J Periodontal Res* 39: 136–142.

45.- Hajishengallis G, Wang M, Liang S, Triantafilou M & Triantafilou K (2008) Pathogen induction of CXCR4/TLR2 cross-talk impairs host defense function. *P Natl Acad Sci USA* 105: 13532–13537.

46.- Pollreis A, Huang Y, Roth GA *et al.* (2010) Enhanced monocyte migration and pro-inflammatory cytokine production by *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Periodontal Res* 45: 239–245.

47.- Takahashi Y, Davey M, Yumoto H, Gibson FC 3rd & Genco CA (2006) Fimbria-dependent activation of pro-inflammatory molecules in *Porphyromonas gingivalis* infected human aortic endothelial cells. *Cell Microbiol* 8: 738–757.

48.- Hajishengallis G, Shakhathreh MA, Wang M & Liang S (2007) Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of *Porphyromonas gingivalis* and negates its virulence in vivo. *J Immunol* 179: 2359–2367.

- 49.- Nakagawa, I., Amano, A., Kuboniwa, M., Nakamura, T., Kawabata, S., and Hamada, S. (2002) Functional differences among FimA variants of *Porphyromonas gingivalis* and their effects on adhesion to and invasion of human epithelial cells. *Infect Immun* 70: 277–285.
- 50.- Xie, H., Kozlova, N., and Lamont, R.J. (2004) *Porphyromonas gingivalis* genes involved in fimA regulation. *Infect Immun* 72: 651–658
- 51.- Nakagawa I, Amano A, Kuboniwa M, Nakamura T, Kawabata S, Hamada S. Functional differences among FimA variants of *Porphyromonas gingivalis* and their effects on adhesion to and invasion of human epithelial cells. *Infect Immun* 2002a
- 52.- Guo Y, Nguyen KA & Potempa J (2010) Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontology* 2000 54: 15–44.
- 53.- Belibasakis GN, Bostanci N & Reddi D (2010) Regulation of protease-activated receptor-2 expression in gingival fibroblasts and Jurkat T cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Cell Biol Int* 34: 287–292.
- 54.- Tam V, O'Brien-Simpson NM, Chen YY, Sanderson CJ, Kinnear B & Reynolds EC (2009) The RgpA-Kgp proteinase-adhesin complexes of *Porphyromonas gingivalis* Inactivate the Th2 cytokines interleukin-4 and interleukin-5. *Infect Immun* 77: 1451–1458.
- 55.- Imamura T, Banbula A, Pereira PJ, Travis J & Potempa J (2001) Activation of human prothrombin by arginine-specific cysteine proteinases (Gingipains R) from *porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem* 276: 18984–18991.
- 56.- Xia Q, Wang T, Taub F, Park Y, Capestany CA, Lamont RJ & Hackett M (2007) Quantitative proteomics of intracellular *Porphyromonas gingivalis*. *Proteomics* 7: 4323–4337.

57.- Imamura T, Potempa J, Pike RN & Travis J (1995a) Dependence of vascular permeability enhancement on cysteine proteinases in vesicles of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 63: 1999–2003.

58. - Pathirana RD, O'Brien-Simpson NM & Reynolds EC (2010) Host immune responses to *Porphyromonas gingivalis* antigens. *Periodontology* 2000 52: 218–237.

59. - Hajishengallis G, Liang S, Payne MA et al. (2011) Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe* 10: 497–506.

60. - Tribble GD, Mao S, James CE & Lamont RJ (2006) A *Porphyromonas gingivalis* haloacid dehalogenase family phosphatase interacts with human phosphoproteins and is important for invasion. *P Natl Acad Sci USA* 103: 11027–11032.

61. - Yilmaz O, Young PA, Lamont RJ & Kenny GE (2003) Gingival epithelial cell signalling and cytoskeletal responses to *Porphyromonas gingivalis* invasion. *Microbiology* 149: 2417–2426.

62.- Kuboniwa M, Hasegawa Y, Mao S, Shizukuishi S, Amano A, Lamont RJ & Yilmaz O (2008) *P. gingivalis* accelerates gingival epithelial cell progression through the cell cycle. *Microbes Infect* 10: 122–128.

63.- Mydel P, Takahashi Y, Yumoto H et al. (2006) Roles of the host oxidative immune response and bacterial antioxidant rubrerythrin during *Porphyromonas gingivalis* infection. *PLoS Pathog* 2: e76.

64. - Wang M, Krauss JL, Domon H et al. (2010) Microbial hijacking of complement-toll-like receptor crosstalk. *Sci Signal* 3: ra11

65. - Miura M, Hamachi T, Fujise O, Maeda K. The prevalence and pathogenic differences of Porphyromonas gingivalis fimA genotypes in patients with aggressive periodontitis. J Periodontal Res. 2005 Apr;40(2):147-52.

66.-Zhao L ,Wu YF, Meng S, Yang H, OuYang YL, Zhou XD. Prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis and periodontal health status in Chinese adults. J Periodontal Res. 2007 Dec;42(6):511-7.

67.- Chen L, Magliano DJ, Balkau B, Wolfe R, Brown L, Tonkin AM, Zimmet PZ, Shaw JE Maximizing efficiency and cost-effectiveness of Type 2 diabetes screening: the AusDiab study. Diabet Med. 2011 Apr; 28

68.- Wang J, Light K, Henderson M, O'Loughlin J, Mathieu ME, Paradis G, Gray-Donald K. Consumption of Added Sugars from Liquid but Not Solid Sources Predicts Impaired Glucose Homeostasis and Insulin Resistance among Youth at Risk of Obesity J Nutr. 2013 Nov 6.

69. - Borgnakke WS, Ylöstalo PV, Taylor GW, Genco RJ Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. J Periodontol. 2013 Apr;84(4 Suppl):S135-52.

70. - Mandrup-Poulsen, T. (2010)The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. Diabetologia 53, 10–20.)

71.- Fernandez-Real, J. M. & Pickup, J. C. (2012) Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes. Diabetologia, 55, 273–278.).

72. - Dasanayake, A. P N. Chhun Periodontal pathogens and gestational diabetes mellitus. Journal of Dental Research2008; 87, 328–333. doi:10.1177/ 154405910808700421.

73. - Kirwan JP TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. Diabetes. 2002 Jul;51(7):2207-13.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12086951>

74.- Aída Delgado-Becerra Morbilidad del hijo de madre con diabetes gestacional, en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes PERINATOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN HUMANA Julio-Septiembre, 2011 Volumen 25, Número 3 pp 139-145

75.- Study Lynn P. Lowe, Boyd E. Metzger, William L. Lowe Jr., Alan R. Dyer, Thomas W. McDade, H. David McIntyre Inflammatory Mediators and Glucose in Pregnancy: Results from a Subset of the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* December 1, 2010 vol. 95 no. 12 5427-5434

76. - Francisco Mesa Elena Pozo<sup>†</sup> Vanessa Blanc,<sup>‡</sup> Alberto Puertas Manuel Bravo Are Periodontal Bacterial Profiles and Placental Inflammatory Infiltrate in Pregnancy Related to Birth Outcomes? Journal of Periodontology, September 2013, Vol. 84, No. 9, Pages 1327-1336

77.- SSA Encuesta nacional de Salud 2010

78. - Kiran, M., Arpak, N., Unsal, E. & Erdogan, M. F. (2005) The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Periodontology* 32, 266–272..

79.-Jonsson, R., Howland, B. E. & Bowden, G. H. (1988) Relationships between periodontal health, salivary steroids, and *Bacteroides intermedius* in males, pregnant and non-pregnant women. *Journal of Dental Research* 67, 1062–1069.

80. - Holt, S. C., Kesavalu, L., Walker, S. & Genco, C. A. (1999) Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology* 2000 20, 168–238.

81. - Soory, M. (2000b) Targets for steroid hormone mediated actions of periodontal pathogens, cytokines and therapeutic agents: some implications on tissue turnover in the periodontium. *Current Drug Targets* 1, 309–325.

82. - Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:1793-1801.

83. - Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444:860-867

84. - Center for Disease Control and Prevention. Diabetes data & trends. Number (in millions) of persons with diagnosed diabetes, United States, 1980-2005.

85.- *Morten Enersen, Kazuhiko Nakano, Atsuo Amanao Porphyromonas gingivalis fimbriae* J Oral Microbiol. 2013; 5: 10.3402/jom.v5i0.20265. Published online 2013 May 6.

86. - Ling Auyeung Evaluation of Periodontal Status and Effectiveness of Non-Surgical Treatment in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus in Taiwan for a 1-Year Period. *Journal of Periodontology* 2012 83:5, 621-628

87.- Donna M. Lehman Haplotypes of Transcription Factor 7–Like 2 (*TCF7L2*) Gene and Its Upstream Region Are Associated With Type 2 Diabetes and Age of Onset in Mexican Americans *Diabetes February 2007 vol. 56 no. 2 389-393*

88. - Promsudthi, A., Pimapansri, S., Deerochanawong, C. & Kanchanasavita, W. The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral Diseases* (2005)11, 293–298.

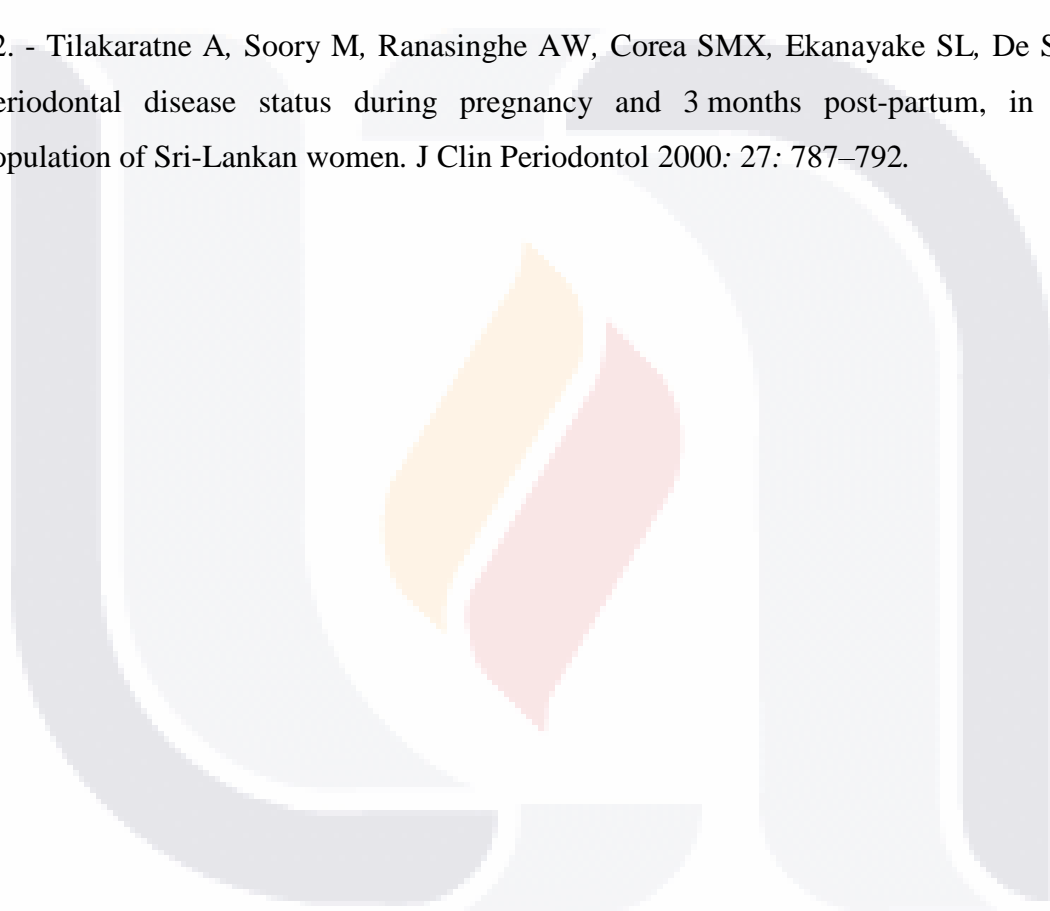
89.- Tine D. Clausen, Overweight and the Metabolic Syndrome in Adult Offspring of Women with Diet-Treated Gestational Diabetes Mellitus or Type 1 Diabetes *JCEM* 2009 94: 2464-2470; doi:10.1210/jc.2009-0305

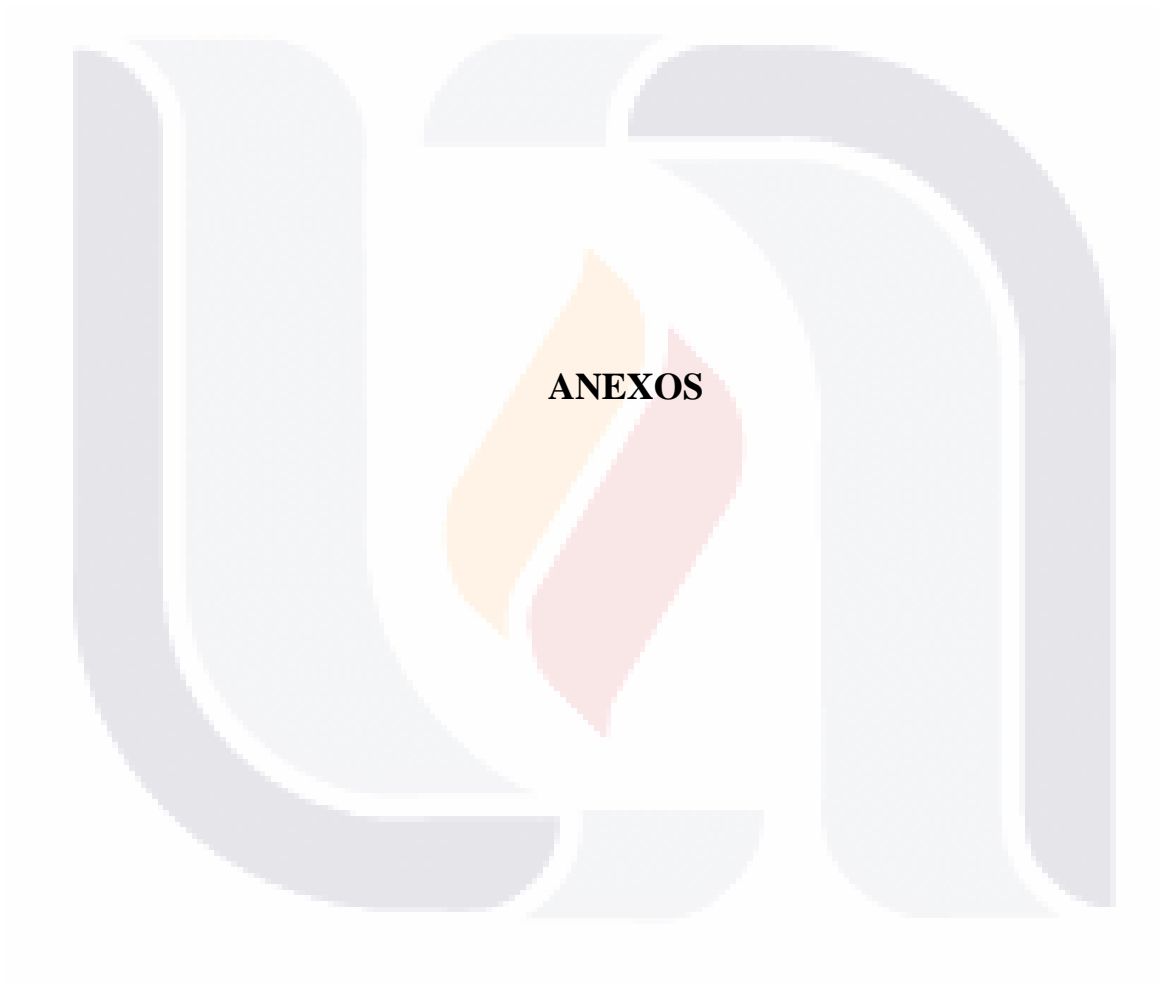


90.- Jatta Pirkola, Prepregnancy Overweight and Gestational Diabetes as Determinants of Subsequent Diabetes and Hypertension after 20-Year Follow-Up *JCEM 2010 95: 772-778*; doi:10.1210/jc.2009-1075

91. - Gürsoy M, Pajukanta R, Sorsa T, Könönen E. Clinical changes in periodontium during pregnancy and post-partum. *J Clin Periodontol 2008: 35: 576–583.*

92. - Tilakaratne A, Soory M, Ranasinghe AW, Corea SMX, Ekanayake SL, De Silva M. Periodontal disease status during pregnancy and 3 months post-partum, in a rural population of Sri-Lankan women. *J Clin Periodontol 2000: 27: 787–792.*





**ANEXO A.**



DEPENDENCIA:	INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD DEL ESTADO DE AGUASCALIENTES
SECCIÓN:	SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA, CAPACITACIÓN E INVESTIGACIÓN.
Nº DE OFICIO:	5000-
EXPEDIENTE:	5000/

**COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN**

Aguascalientes, Ags, 16 de Agosto de 2012

A quien corresponda:

El Comité Estatal de Investigación en Salud, basado en los estatutos contenidos en el Manual de Investigación en Salud, ha tenido a bien revisar el protocolo de investigación intitulado "Prevalencia de *porfiromonas gingivalis* genotipo *fim* a ii y *fim* a iv en mujeres embarazadas con diabetes gestacional y embarazadas sin diabetes gestacional atendidas en el Hospital de la Mujer ISSEA en la ciudad de Aguascalientes"

Otorgando el Dictamen de "ACEPTADO" número de registro: 2ISSEA-31/12

Investigador (s) de proyecto:  
**Roberto A. García Reyna**

Investigador principal (es) y Asesor (es) del proyecto:

**Dr. Rafael Gutiérrez Campos, Dr. Nicolás Zaragoza Velázquez, Dra. María del Carmen Terrones Saldivar.**

Lugar de desarrollo de la Investigación:  
**Hospital de la Mujer Aguascalientes**

Clasificación:  
**Trabajo de Investigación Tesis de Maestría.**

Esperando que este proyecto de investigación redunde en beneficio a nuestra población, nos ponemos a sus órdenes.

ATENTAMENTE

**Dr. Israel Gutiérrez Mendoza**  
Secretario Técnico

C.c.p.- Archivo.



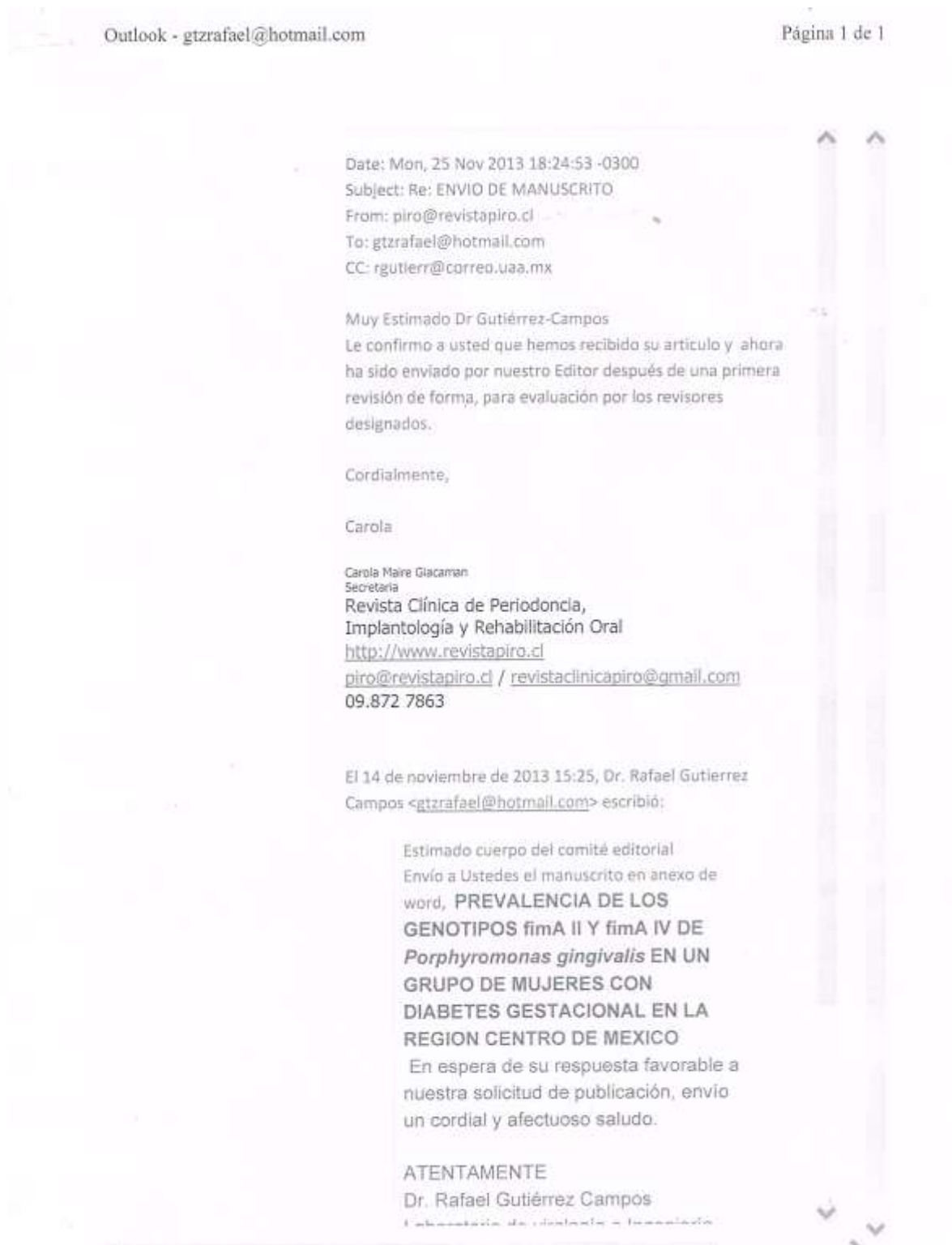
www.aguascalientes.gob.mx  
Margil de Jesús No. 1501 Fracc. Las Arboledas,  
Aguascalientes, Ags.C.P. 20020 | Tel: 910 79 00 |



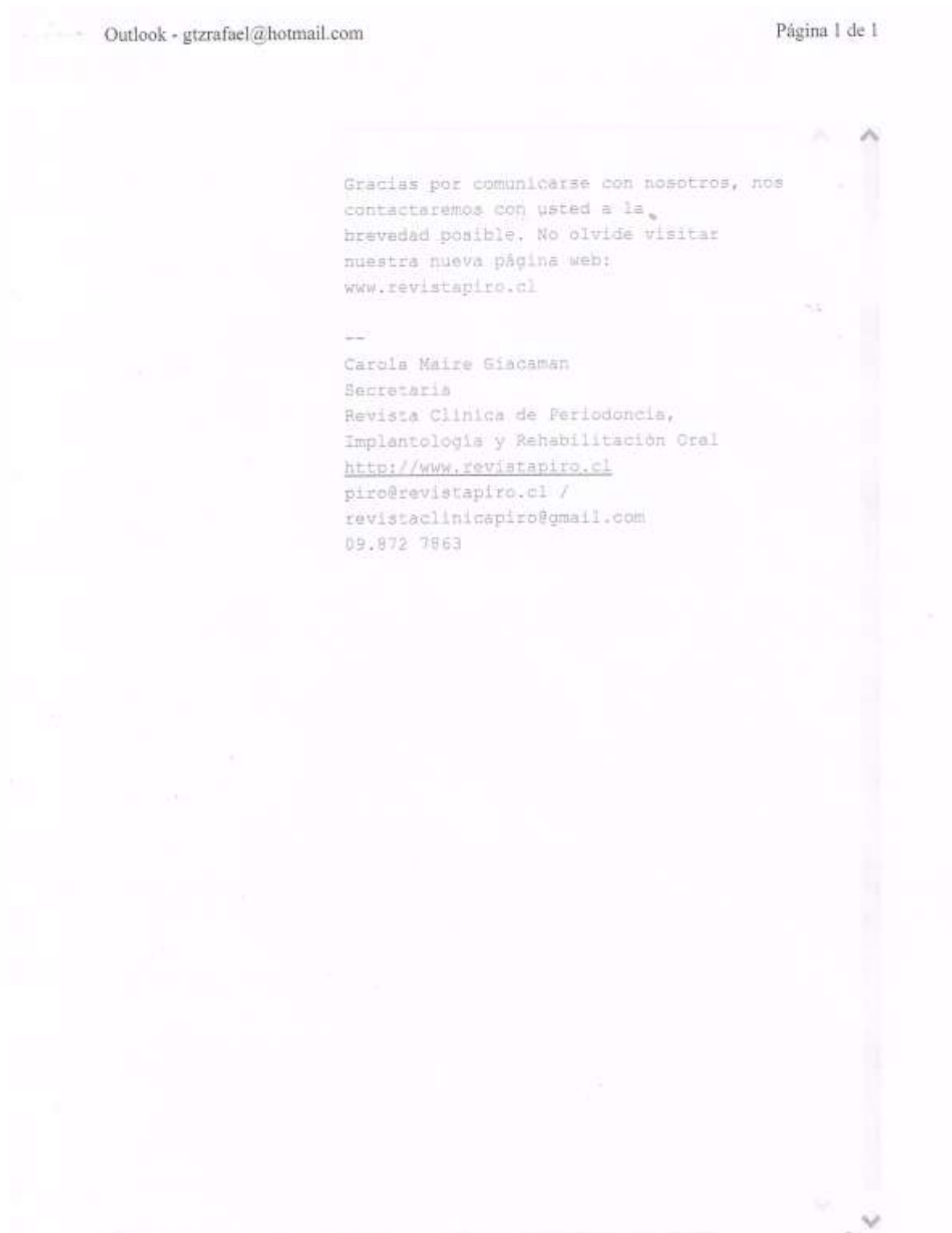
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



**ANEXO B.**



**ANEXO C.**



**ANEXO D.**

**Federación Nacional de Químicos Clínicos  
CONAQUIC, A. C.**

DGP F-370



Mérida, Yucatán, 30 de agosto de 2013

Estimado Roberto Arturo García Reyna  
Universidad Autónoma de Aguascalientes  
**PRESENTE**

El Comité de Editor de la NOTICONAQUIC, tiene el agrado de comunicarle a Usted y autores, Angélica Malacara Rosas, Ma. Esther Martínez Mercado, Jesús Norberto Lozano Ruiz Esparza, Roberto García González y Rafael Gutiérrez Campos, que su artículo: **"Caracterización molecular de genotipos de *Porphyromonas gingivalis* en mujeres gestantes a través de uso de papel FTA"**, ha sido aceptado para su publicación en el No. 62 de la Revista NOTICONAQUIC.

Agradecemos su contribución a la Revista NOTICONAQUIC y aprovechamos la oportunidad para saludar a Ud. muy cordialmente.

  
Dra. ~~María América Delgado Herrera~~

Secretaria de Asuntos Editoriales  
Revista NOTICONAQUIC.

[dherrera02@hotmail.com](mailto:dherrera02@hotmail.com)

[america.delgado.herrera@gmail.com](mailto:america.delgado.herrera@gmail.com)

**"Servir con responsabilidad y compromiso"**

Morelos Pte. No. 101, Colonia Barrio del Calvario  
C.P. 51350, Zinacantepec, Estado de Mexico.  
Tel./Fax: (981) 811 57 45

