



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE
HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

TESIS:

**Asociación entre la presencia de caries y polimorfismos en el gen
AMBN, de una población de adultos residentes en Morelia,
Michoacán**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestra en Ciencias de la Salud

P R E S E N T A:

**Licenciada en Odontología
Claudia Ivett Guillen Reyes**

DIRECTORA DE TESIS:

**Doctora en Ciencias (Biología)
Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas**

CO-DIRECTORA DE TESIS:

**Maestra en Ciencias de la Salud
Julieta de la Vega Calderón**



Morelia, Michoacán,
México
Agosto 2019

DEDICATORIA.

A mis padres Fernando Guillen Cruz y Rosa Ma. Reyes Cortes, por el apoyo y guía que siempre he recibido a lo largo de mi vida, cada logro es suyo también.

A mis hermanos, Fernando, Josué y Nahum Guillen, por estar conmigo y ser un ejemplo de superación y constancia. Por ser mis guías en todo momento y siempre ayudarme a encontrar la mejor solución.

A Adriana Basurto Galván, por ser mi compañera, mi cómplice y mi pilar en todo momento.

A Laura Patricia Reyes Cortes, porque si hubiese tenido una hermana me habría encantado que fueses tú, mi confidente en todo momento y mi mejor consejera,

A mi pequeña Ximena, porque me has enseñado tanto acerca del amor y me impulsas a querer ser el mejor ejemplo que pueda llegar a ser.

A mis abuelos Rodolfo Reyes López y María Cortes Celaya, por ser mis segundos padres, aconsejarme y siempre estar pendiente de mí.

A mis amigos Jaime, Claudia, Yareli, Julio, Karina y Nancy, cada uno de ustedes me ha inspirado y ayudado de diferente manera para alcanzar esta meta.

A mis compañeros del laboratorio de genética molecular microbiana: Estela, Eva, Adrián, Edgardo, Mar, Elda, Andrea, por ser mis maestros, cobijarme con el mejor de los compañerismos y compartir todo su conocimiento conmigo.

A los doctores: Renata Iani Werneck y Roberto Herai de la Pontificia Universidad Católica de Paraná, Brasil, por abrirme las puertas de su universidad y de su casa, por el apoyo que tuve y las grandes enseñanzas académicas y personales que me llevo de cada uno y por su amistad.

AGRADECIMIENTOS.

A mi familia, por ser mi fortaleza, mi sostén, mi todo, no me alcanzaría la vida para retribuir todo lo que me han dado, gracias por siempre impulsarme a ser mejor y ayudarme en cada decisión que tomo, cada una de las cosas que tengo y que logro es gracias a ustedes, los amo.

A Adriana Basurto Galván, por su aliento incondicional, por el amor que me muestras cada día, por soportar la mejor y la peor versión de mí y ayudarme a alcanzar mis metas.

A la Doctora Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas, por aceptarme en su equipo de trabajo y darme la oportunidad de crecer académicamente, por ayudarme siempre y por ser la mejor asesora que pude encontrar, gracias por siempre estar al pendiente de mi trabajo y de mí como persona.

A los doctores: Gerardo Vásquez Marrufo, Ana Laura Guillen Nepita y Ana Edith Higareda Mendoza, por todas las aportaciones que han hecho hacia mi trabajo y por su disponibilidad y apoyo para aclarar cualquier duda, gracias por buscar siempre impulsarme como estudiante,

A mis compañeros del laboratorio de genética molecular microbiana, por ayudarme en cada duda, por la paciencia para enseñarme y guiarme, gracias por ser los mejores compañeros que pude tener, los voy a extrañar mucho y me llevo de las mejores enseñanzas de mi vida.

A mis profesores de posgrado, en especial al doctor †Humberto Vega, por su gran calidez humana y porque cada uno de ustedes me ha brindado herramientas necesarias para culminar esta meta.

Al C.D.E.O Alfonso Martínez Lastiri, director de la carrera de odontología de la Universidad Latina de América, por su apoyo para la realización de esta investigación, por siempre estar disponible y solucionar cualquier obstáculo de la mejor manera.

A la Universidad Latina de América y sus diferentes autoridades, por brindarme el cobijo como mi alma mater, ayudarme y facilitarme cada una de las peticiones para realizar el muestreo de este trabajo, gracias por siempre hacerme sentir parte de la universidad.

A los doctores Renata Iani Werneck y Roberto Herai de la Pontificia Universidad Católica de Paraná, Brasil, por su amistad, por recibirme con la mejor calidez y por todos los conocimientos que compartieron conmigo, los cuales me han ayudado en mi formación profesional.

A las autoridades de la UMSNH de la Facultad de medicina “Dr. Ignacio Chávez “, en su división de posgrado, por facilitar cada uno de mis tramites y permitirme vivir la experiencia de un intercambio escolar



Morelia, Michoacán a 23 de junio de 2017

D.en C. Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas
PRESENTE

Por este conducto, me permito notificarle que ha sido aprobada la solicitud presentada por la Lic. Claudia Ivett Guillen Reyes en esta institución para realizar tomas de muestras de 4 ml de sangre a pacientes y estudiantes que acudan de manera voluntaria a la clínica de odontología de la Universidad Latina de América y para recopilar datos sobre sus historias clínicas, cuya finalidad es la realización del trabajo de tesis de maestría titulado "Polimorfismos en genes involucrados en la formación del esmalte en adultos jóvenes". Cabe señalar, que cada participante del estudio será notificado y dará su autorización a través de su firma en el consentimiento informado.

Se le agradece la consideración de su parte para hacer estudios en esta Universidad, y con grato aprecio esperamos un ejemplar de su trabajo de tesis que sin duda apoyará en el enriquecimiento del conocimiento de nuestros jóvenes alumnos.

Sin otro particular por el momento, reciba saludos y quedo atenta a lo que se requiera.

Atentamente


Dra. Yirlem González Vargas

Coordinadora de Investigación


V. Bo.

Dr. Ernesto Rodríguez Moncada

Vicerrector Académico

Manantial Cointzio Norte No. 355, Fracc. Los Manantiales,
C.P. 58170, Morelia, Michoacán, México.
Tel. (443) 322 15 00 / 01 800 700 8652
www.unla.mx

"Al Bienestar por la Cultura"

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Genética Molecular Microbiana de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D. en C. Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas y la co-dirección de la M. en C. Julieta de la Vega Calderón.

El trabajo se llevó a cabo con la colaboración del Dr. José Alfonso Martínez Lastiri de la Clínica de odontología de la Universidad Latina de América. La Dra. Renata Iani Werneck y el Dr. Roberto Herai de la Pontificia Universidad Católica de Paraná, Brasil.

Se agradece al CONACyT la beca otorgada para la realización de estudios de Maestría con el número de becario 597823. Se agradece también a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el apoyo brindado para la realización de una estancia de investigación en la Pontificia Universidad Católica de Paraná, Brasil.

RESUMEN

Asociación entre la presencia de caries y polimorfismos en el gen AMBN, en una población de adultos residentes en Morelia, Michoacán

Palabras clave: Caries, población, SNP's, AMBN, CPO-D

La caries dental es una de las principales enfermedades infecciosas a nivel mundial, la cual está caracterizada por la destrucción de los tejidos dentarios. Entre los factores causantes de la misma, se encuentran la microbiota propia de la cavidad bucal, la anatomía dental, hábitos higiénico-dietéticos y la susceptibilidad o resistencia genética del hospedero. Se han realizado estudios en genes participantes en la composición salival, respuesta inmune y en genes que participan en el desarrollo del esmalte para determinar si existe una asociación entre la susceptibilidad a caries y la presencia de polimorfismos en estos para evaluar la susceptibilidad de caries en adultos. Siendo el gen AMBN el responsable de codificar para la ameloblastina, proteína que interviene en la diferenciación ameloblástica y la formación y mineralización de los cristales de hidroxiapatita, principal componente del esmalte dental **Objetivo.** Identificar la asociación entre los polimorfismos en el gen AMBN con la presencia de caries en adultos. **Material y métodos.** Se utilizaron las muestras de ADN de 124 estudiantes de la facultad de odontología, y 71 muestras de sangre extraídas a pacientes y alumnos que acuden a la clínica de la Universidad Latina de América, se amplificó una región del gen AMBN. Los productos amplificados fueron secuenciados y dichas secuencias fueron analizadas para la detección de polimorfismos los cuales fueron asociados a la presencia de caries por medio de Regresión Lineal. **Resultados.** El índice CPO-D de la población analizada (194 muestras) es moderado. Se detectó la presencia de SNP's en regiones intrónicas y exónicas del gen AMBN, siendo 4 los más frecuentes y encontrándose una asociación positiva entre la presencia de SNP's y un aumento del índice CPO-D. **Conclusión.** La presencia de polimorfismos en el gen AMBN se relaciona positivamente con la prevalencia de caries en una muestra de adultos que residen en Morelia.

ABSTRACT

Polymorphisms in the AMBN gene associated with the development of dental enamel and its association with caries in a population of adults.

Keywords: Caries, population, SNP's, AMBN, DMFT

Dental caries is one of the main infectious diseases worldwide, which is characterized by the destruction of dental tissues, among the factors that cause it, are the microbiota of the oral cavity, dental anatomy, hygienic habits and the susceptibility or genetic resistance of the host. Studies have been conducted on genes involved in salivary composition, immune response and genes involved in the development of enamel to determine if there is an association between susceptibility to caries and the presence of polymorphisms in these to assess the susceptibility of caries in adults. The AMBN gene is responsible for coding for ameloblastin, a protein that intervenes in ameloblastic differentiation and the formation and mineralization of hydroxyapatite crystals, the main component of dental enamel. **Objective.** To identify the association between polymorphisms in the AMBN genes involved in the formation of enamel and its association with the susceptibility to caries in adults. **Material and methods.** DNA samples from 124 students of the dental school were used, in addition to 71 samples taken from patients and students attending the clinic of the Universidad Latina de America. A region of the AMBN gene was amplified, associated with the synthesis route of the enamel. The amplified products were sequenced and these sequences were analyzed for the detection of polymorphisms, which were associated with the presence of caries by linear regression. **Results** We analyzed 194 samples, where we found that the CPO-D of the analyzed population is moderate according to the WHO classification, as well as the presence of SNP's in intronic and exonic regions, being 4 the most frequent. A positive association was found between the presence of SNP's and an increase in the DMFT index. **Conclusion.** The presence of a greater number of SNP's is a higher DMFT index compared to the samples analyzed that have a lower number of SNP's, which shows a positive association in the genetic conditioning of the study subjects to suffer caries.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Tejidos dentales	1
1.1.1 Odontogénesis.....	3
1.1.2 Amelogénesis.....	5
1.1.3 Ameloblastina	10
1.2 Fisiopatología	11
1.2.1 Caries	12
1.3 Polimorfismos genéticos	16
1.3.1 Polimorfismos genéticos relacionados con caries	17
1.4 Gen AMBN	18
1.5 Índice CPO-D	19
1.6 Prevalencia de caries dental	20
1.7 Antecedentes locales	21
2. JUSTIFICACION	23
3. HIPÓTESIS	24
4. OBJETIVOS	24
4.1 Objetivo general.....	24
4.2 Objetivos específicos.....	24
5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS	26
6.1 Tipo de estudio.....	26
6.2 Universo de estudio.....	26
6.3 Muestreo	26
6.3.1 Criterios de inclusión.....	26
6.3.2 Criterios de exclusión	27
6.3.3 Criterios de eliminación.....	27
6.4 Consideraciones éticas.....	27
6.5 Llenado de encuestas.....	28
6.6. Cálculo del CPO-D	29
6.7 Toma de muestra sanguínea.....	29
6.8 Extracción de ADN.....	29
6.9 Amplificación por PCR.....	30
6.10 Secuenciación.....	30
6.11 Alineamiento.....	31
6.12. Análisis de datos.....	31
6.12.1 Tratamiento estadístico.....	33
7. RESULTADOS	34

7.1 Variables demográficas	34
7.2 Variables culturales	35
7.3 Variables clínicas	38
7.4 Correlación entre las variables epidemiológicas	40
7.5 Pruebas de normalidad de datos	47
7.6 Análisis genético molecular	47
VIII. DISCUSIÓN	51
IX REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	58
X. ANEXOS	62

RELACION DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de la estructura dentaria.....	1
Figura 2. Esquema representativo del proceso de odontogénesis humana.....	4
Figura 3. Ciclo vital de un ameloblasto.....	9
Figura 4. Estrategia experimental.....	24
Figura 5. Fórmula utilizada para realizar la N muestral del presente estudio.....	26
Figura 6. Grupos etarios de la muestra de estudio de acuerdo a la clasificación de la OMS	33
Figura 7. Frecuencia de cepillado dental en la población de estudio.....	34
Figura 8. Uso de auxiliares dentales en la población analizada.....	35
Figura 9. Frecuencia de consumo de tabaco y alcohol en la población analizada.....	36
Figura 10. Datos de Frecuencia de cepillado dental obtenidos en los sujetos de estudio.....	36
Figura 11. Estado del esmalte dental en la población analizada.....	37
Figura 12. Presencia de fluorosis en la población analizada.....	38
Figura 13. Asociación entre el índice CPO-D y los grupos etarios.....	39
Figura 14. Hábito de cepillado dental.....	40
Figura 15. Correlación entre el hábito de cepillado y el índice de CPO- D.....	41
Figura 16. Correlación entre la atención odontológica por año y el índice CPO-D.....	42
Figura 17. Correlación entre el consumo de alimentos entre comidas y el índice de CPO-D3.....	43
Figura 18. Diagrama de Venn del consumo de alcohol y tabaco en la población analizada.....	44
Figura 19. Asociación entre en consumo de alcohol y tabaco con el índice de CPO-D en la población analizada.....	45
Figura 20. Análisis del estado del esmalte dental.....	46
Figura 21. Ejemplo del análisis de los picos del electroferograma para determinar el genotipo de la muestra.....	47
Figura 22. Polimorfismos más comunes en la población y su frecuencia.....	48

RELACIÓN DE TABLAS

I.	Proteínas secretadas durante la maduración del esmalte dental	7
II.	Principales bacterias asociadas a caries, presentes en la cavidad oral	13
III.	Índice de CPO-D según los criterios establecidos por la OMS.	20
IV.	Descripción de las variables de estudio.	31
V.	Frecuencia de atención dental por año.	37
VI.	Análisis de estado de dentición, en cuanto al número de piezas perdidas y obturadas.	39
VII.	Resumen de los resultados de la correlación entre las variables consideradas en este estudio y el índice de CPO- D.	50

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Tejidos dentales

Los tejidos que conforman las piezas dentarias son el esmalte y la dentina dental, los cuales conforman la corona. En la parte radicular se encuentra el cemento dental que recubre la dentina y mantiene al diente enclavado en el proceso maxilar mediante una articulación llamada gonfosis o ligamento periodontal. Dentro de la pieza dentaria se encuentra un paquete vásculo-nervioso llamado pulpa (Fig. 1), el cual se encarga de la inervación e irrigación del diente (Teruel *et al.*, 2015).



Figura 1. Representación gráfica de la estructura dentaria.
(Recuperada de <http://mundodont.es/blog/anatomia-diente-humano/> Febrero 2018)

El esmalte dental es el tejido con mayor dureza en el humano, es un tejido acelular, no vascularizado, que se encuentra cubriendo la dentina en la corona dental del diente, su color es translúcido, lo cual varía dependiendo de su nivel de mineralización, pero al ojo humano se percibe

como blanco- amarillento, aunque este color no es propio ya que depende del color de la dentina. Se compone en un 96% de material inorgánico, el cual está conformado principalmente por un fosfato cálcico llamado hidroxiapatita, que se presenta en forma de cristales compactados en un arreglo hexagonal. Otros componentes del esmalte dental son potasio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cloro y cobre, y el 4% restante lo compone materia orgánica y agua (Tame, 2013).

La dentina es el tejido más abundante en el diente, conformando la mayoría de este. Dicha estructura está compuesta por alrededor de un 50 % de minerales, siendo los cristales de hidroxiapatita ricos en carbonato y pobres en calcio los más abundantes. Un 30 % de su volumen está compuesto por matriz orgánica, en su mayoría conformada por colágeno tipo 1 y un 20% restante de plasma sanguíneo. Su microestructura está dominada por la presencia de túbulos dentinarios. Presenta un color amarillento y posee una característica reparadora (Fuentes, 2004). La dentina mineralizada es relativamente rígida, pero posee una capacidad amortiguadora que permite compensar la rigidez del esmalte y evitar la fractura del esmalte ante los impactos masticatorios y su elasticidad dependerá del porcentaje de sustancia orgánica y el agua que contenga (Kinney *et al.*, 1996).

El cemento dental es un tejido conectivo, mineralizado, compuesto en un 65% de materia inorgánica, formado principalmente por cristales de hidroxiapatita y fosfatos de calcio, un 12 % de agua y un 23 % de fibras colágenas. Al igual que el esmalte, cubre a la dentina, pero en su porción radicular; contiene una porción de materia orgánica la cual está formada por fibras de colágeno tipo I y por proteoglicanos, glucosaminoglucanos y glicoproteínas (Diekwisch, 2001). Su función principal es mantener al diente enclavado en el maxilar, anclando las fibras del ligamento periodontal a la raíz del diente. Se encuentra formado por células especializadas como son los cementocitos y los cementoblastos (Manisagian *et al.*, 2012).

1.1.1 Odontogénesis

Los dientes son órganos mineralizados que se encuentran en la cavidad oral, cuya función principal es la masticación, que comienzan su formación en un proceso embrionario llamado Odontogénesis (Fig. 2). Este comienza a partir de la sexta semana de vida intrauterina y tiene un origen mixto, ya que su formación está compuesta por tejido ectodérmico procedente del primer arco braquial y tejido mesenquimal procedente de la cresta neural, la señalización recíproca entre estos tejidos inicia su formación (Kero *et al.*, 2016). Después de que se han determinado los sitios de formación dentaria, comienzan a aparecer áreas de engrosamiento epitelial, las cuales invaginan la mesénquima subyacente, formando 20 brotes; a esta etapa se le conoce con el nombre de etapa de brote o yema (Gómez *et al.*, 2009).

La siguiente etapa se denomina de casquete. En esta etapa el mesénquima localizado en la periferia de los brotes se condensa y las células epiteliales gradualmente dejan de proliferar, haciéndose evidentes estructuras como el epitelio dental interno y el epitelio dental externo. A la unión de estos en sus extremos vestibular y lingual se le conoce con el nombre de asa cervical, la cual es una estructura importante para el posterior desarrollo de la raíz dentaria. En el centro, por acción de la presión del líquido intercelular, rico en glucógeno, se localiza el retículo estrellado, del que se desarrollara el esmalte dental. Aproximadamente en la octava semana de vida intrauterina, es posible observar los principios de la papila dental formada por tejido conjuntivo condensado. Esta dará origen a la pulpa dental, y simultáneamente el mesénquima que rodea el órgano dentario se condensa y se torna fibroso; a esta estructura se le conoce como saco dental, que dará origen posteriormente a la gonfosis, cemento y hueso alveolar (Gómez *et al.*, 2009).

El último y más dramático paso de la formación de la corona dentaria, es la etapa de campana. En su fase temprana se realiza el diseño de la interfaz entre

el órgano del esmalte y la papila dental, adquiriéndose la forma de la corona dental futura. Progresivamente, el crecimiento de los bucles cervicales se ve más limitado al final de esta etapa y se elimina el órgano del esmalte mediante apoptosis programada. Sin embargo, en las piezas posteriores (premolares y molares) se forman nudos de esmalte secundarios, generándose un sitio de plegamiento epitelial adicional para la formación de las futuras cúspides (Kero *et al.*, 2016). En esta etapa se profundiza la invaginación y se origina la diferenciación de las células del epitelio dental interno en ameloblastos, células encargadas de la formación del esmalte. Las células de la papila dental, que se encuentran debajo de los ameloblastos, se diferencian en odontoblastos, encargados de la formación de dentina (Gómez *et al.*, 2009). Al finalizar estos procesos, en donde los órganos dentarios son sometidos a varias etapas histológicamente diferenciadas, los dientes se encuentran completamente preparados para la formación de los tejidos duros de la corona y posteriormente de la raíz.

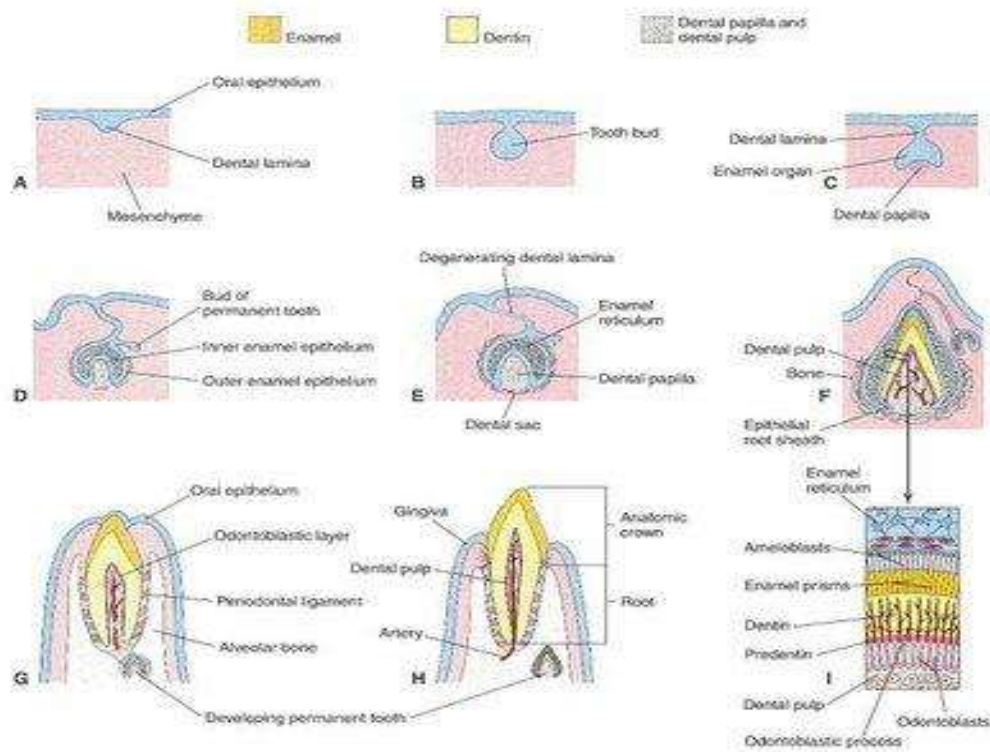


Figura 2. Esquema representativo del proceso de odontogénesis humana.

(Recuperada de <http://embriopam.blogspot.mx/2012/02/que-es-la-embriologia-bucodental.html>)

Posterior al proceso de odontogénesis existen procesos especializados para la formación y mineralización de los tejidos que conforman el diente propiamente dicho, los cuales son (Lacruz *et al.*, 2009):

Dentinogénesis. Proceso por el cual se forma la dentina, la célula encargada de su secreción es el odontoblasto.

Cementogénesis. Proceso para la formación y mineralización del cemento dental, cuya célula encargada es el cementoblasto.

Amelogénesis. Proceso en el cual se forma el esmalte dental, la célula especializada es el ameloblasto. Por ser de interés para este trabajo a continuación se describe de forma detallada el proceso de amelogénesis.

1.1.2 Amelogénesis.

La amelogénesis es el proceso embrionario que forma el esmalte como tejido mineralizado, el cual es llevado a cabo por una célula especializada llamada ameloblasto. Estas células sintetizan y secretan una gran cantidad de proteínas de la matriz del esmalte dentro de dominios espaciales (Lacruz *et al.*, 2009).

Los procesos químicos que están implicados en la formación del esmalte son regulados por los ameloblastos. El crecimiento de los cristales y la secreción de proteínas, ocurre de manera continua y sincronizada; una vez que se ha completado el crecimiento posicional del esmalte, los componentes orgánicos se eliminan enzimáticamente y los espacios que contenían agua y proteínas son reemplazados por cristales de hidroxiapatita (Bartlett *et al.*, 2000).

El proceso de amelogénesis consta de dos etapas en las cuales se realiza la elaboración de la matriz orgánica y la mineralización de la matriz, requiere un estricto control del pH y de la concentración de bicarbonato. Este proceso se subdivide tres fases principales:

- a) **Pre-secretora.** Los ameloblastos se diferencian y desarrollan un complejo de unión en su nuevo ápice, ensamblando un complejo de síntesis de proteínas secretora y de maduración (Lacruz *et al.*, 2009). En esta etapa hay periodos de elaboración y reposo, y comienza a observarse la formación del proceso de Tomes. En esta fase el esmalte está conformado por un 65% de agua, un 20% de proteínas y 15% de material inorgánico formación del esmalte (Becerik *et al.*, 2009)
- b) **Secretora.** Los ameloblastos se diferencian en células columnares, y el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi se ubican cerca del polo apical o polo secretor, el cual se caracteriza por un proceso de células alargadas. Conocido con el nombre de proceso de Tomes, este desempeña un papel importante en la organización de los cristales de hidroxiapatita. Durante esta etapa los ameloblastos crean el espesor completo del esmalte por medio de aposición matricial, la cual permanecerá parcialmente mineralizada hasta la etapa de maduración (Lacruz *et al.*, 2009). Al final de esta fase los ameloblastos disminuyen su altura, hay una reducción en los orgánulos encargados de la síntesis de proteínas y se pierde el proceso de Tomes (Moradian-Oldak, 2012).
- c) **Maduración.** Durante esta etapa los ameloblastos cambian de morfología adquiriendo una forma de colmena. Dichas células se caracterizan por membranas plasmáticas en el extremo apical, y proteínas extracelulares son secretadas por los ameloblastos para su formación. Al mismo tiempo algunas de ellas son enzimas proteolíticas cuya función es eliminar la matriz orgánica (Lacruz *et al.*, 2009; Kero *et al.*, 2016) (Tabla 1). En esta fase se da el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita, lo cual iniciará ya que se haya secretado el total del espesor de la matriz. El proceso comenzará en los bordes más externos de la corona dental y se eliminará la mayor cantidad de agua y matriz orgánica (Zelada Silva, 2009). Mientras se produce un crecimiento aposicional del tejido del esmalte en ese punto, los ameloblastos siguen siendo células secretoras activas.

Tabla 1. Proteínas secretadas durante la maduración.

Proteína	Generalidades
Amelogeninas	Moléculas hidrófobas y fosforiladas, se denominan proteínas del esmalte inmaduro. Se localizan entre los cristales, sin estar ligados, es la proteína presente en mayor cantidad. Es una proteína pequeña, globular. Codificada por el gen AMELX AN y AMELX.
Enamelinas	Moléculas hidrófobas, representan el 2.3 % de la matriz orgánica, resultan de la degradación de amelogeninas. Se localizan en la periferia de los cristales, es la segunda proteína más abundante en el esmalte. Sus funciones no son del todo conocidas, pero se cree influyen en la función de ameloblastos. También inhibe la proliferación y es codificada por el gen ENAM.
Enamelisina	Es una metaloproteinasas de matriz que está asociada con la formación del esmalte dental, codificada por el gen MMP-20. Está caracterizada por un dominio común que incluye un péptido señal, un propéptido y un dominio catalítico conteniendo un sitio para unión a zinc. Juegan un papel importante en la remodelación y desarrollo del tejido normal.
Ameloblastinas o amelinas	Se encuentran en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales, representando el 5% de los cristales. Es formada por los ameloblastos durante la etapa temprana de secreción hasta las etapas tardías de la amelogénesis. Algunos estudios han mostrado que la ameloblastina regula la diferenciación ameloblástica y se cree que controla y promueve la mineralización y elongación de los cristales de hidroxiapatita en el esmalte durante el desarrollo dental. Codificada por el gen AMBN.
Tuftelinas	Se localizan en la zona de unión amelodentinaria al comienzo de la formación del esmalte. Representan el 1-2 % del componente orgánico, actuando como un punto focal para la formación inicial de los cristales. Son causantes de la hipomineralización del esmalte. El gen responsable de codificarla es el TUFT1.
Calicreína-4	Proteína que participa en la degradación de proteínas del esmalte, degradando los restos de enmílina y los restos de amelogenina dejados

por las metaloproteinasas, en la parte superior del cristal. Es codificada por el gen KLK4.

Durante la etapa de maduración, los ameloblastos cambian de morfología, aunque no se tiene un conocimiento exacto de que desencadena el cambio en los ameloblastos para cambiar entre las etapas funcionales. Lo que si se conoce bien es el ciclo vital del ameloblasto (Fig. 3). El ciclo vital del ameloblasto puede diferenciarse en etapas, las cuales son:

- i. Etapa Morfogénica.** Llamado preameloblasto, presenta una forma cilíndrica con un núcleo ovalado. En esta etapa se determina la forma de la corona dental del diente.
- ii. Etapa de organización.** Llamado ameloblasto joven, en esta etapa los ameloblastos cambian de forma y se alargan, cambian su polaridad y los organelos y el núcleo se dirigen hacia su porción distal. Los ameloblastos jóvenes se encuentran alineados y unidos estrechamente. En esta etapa los ameloblastos quedan separados de la papila dental, su principal fuente de nutrientes, por acción de los odontoblastos, por lo que invierten su nutrición la cual a partir de este momento procederá del saco dentario. En esta etapa ya se detecta la presencia de amelogenina.
- iii. Etapa formativa.** Ameloblasto activo, secretor y maduro, el cual ya ha perdido la capacidad de dividirse por mitosis. Esta etapa está caracterizada por la presencia del proceso de Tomes, considerado el precursor intracelular de la matriz orgánica del esmalte.
- iv. Etapa de maduración.** La etapa comienza una vez que se ha formado la mayor parte del espesor de la matriz del esmalte. En esta etapa el ameloblasto se reduce de tamaño, aumenta su diámetro transversal y el complejo de Golgi y el proceso de Tomes desaparecen. Las células tienen capacidad absorptiva, lo que les permite eliminar agua y matriz orgánica del esmalte, generando así el espacio para el componente inorgánico. En la

transición a esta etapa se reporta la disminución del 50% de la población ameloblástica por apoptosis.

- v. **Etapa de protección.** Una vez que el esmalte se ha mineralizado en su totalidad, el ameloblasto entra en estado de regresión, dejan de organizarse y los organelos disminuyen su volumen. Estos elementos celulares y los ameloblastos no pueden ser diferenciados y se fusionan con el resto de las capas del órgano del esmalte; así mismo, constituyen una capa estratificada llamada epitelio reducido cuya función es proteger el esmalte maduro. El último producto de secreción del ameloblasto es la cutícula primaria.
- vi. **Etapa desmolítica.** En esta etapa, el epitelio reducido del esmalte prolifera y atrofia el tejido conectivo que lo separa del epitelio bucal para fusionar ambos epitelios.

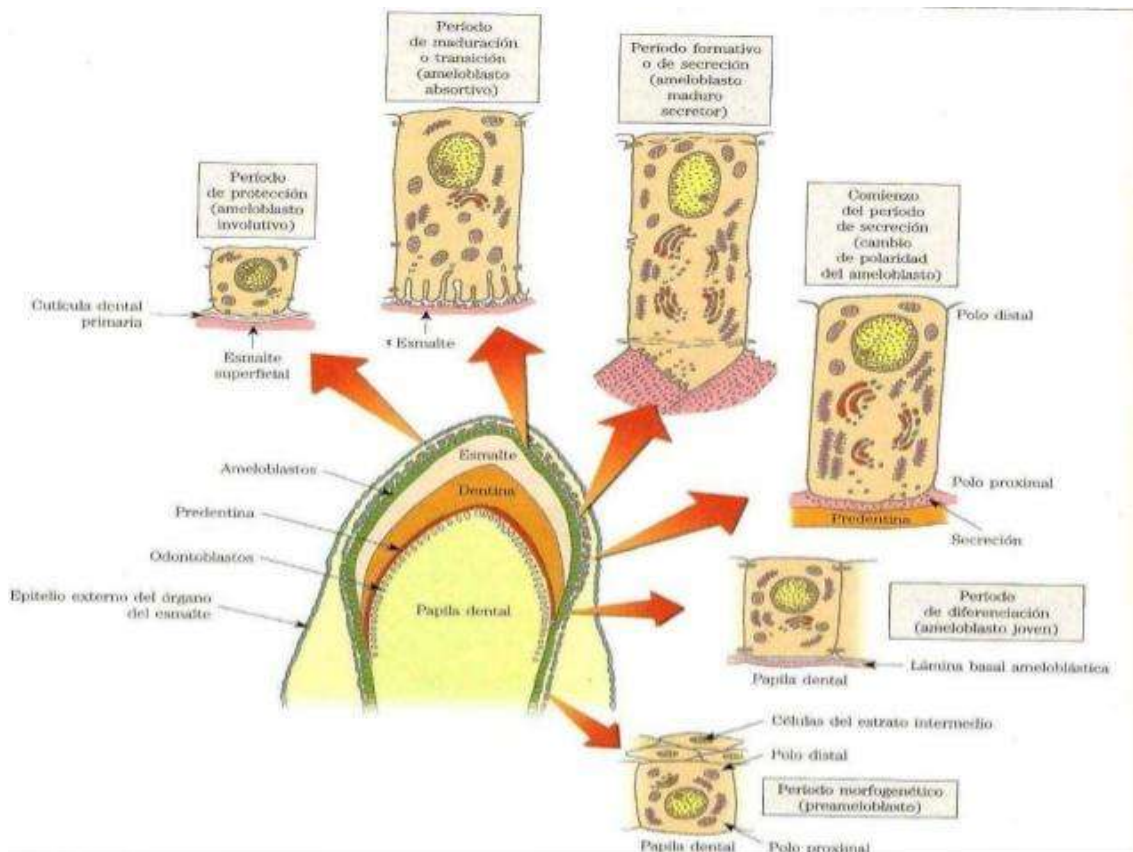


Figura 3. Ciclo vital de un ameloblasto.

Recuperada de <https://es.slideshare.net/danidelpilar93/amelogenesis>

El desarrollo de los ameloblastos, tiene un progreso que comienza en los bordes incisales o en las cúspides, en dirección al asa cervical, lo que le proporciona la forma a la corona del futuro diente (Gómez et al., 2012).

1.1.3 Ameloblastina.

La ameloblastina, es la nanomelogenina más abundante del esmalte en desarrollo y desempeña un papel fundamental en la formación del esmalte (Wald *et al.*, 2013). La amelogenina es una proteína fosforilada, rica en prolina y glutamina, intrínsecamente no estructurada. Se sugiere que juega un papel en el mantenimiento de la estructura prismática del crecimiento de los cristales en los límites de este y está involucrada en la adhesión de los ameloblastos, desempeñando un papel como factor de crecimiento o molécula de señalización (Fukumoto *et al.*, 2004). Posee dos dominios de unión a calcio que interactúa con los iones de Ca^{2+} después de que han sido liberados por la proteólisis.

Es codificada por el gen AMBN que contiene 13 exones, el cual se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 4 (4q13.3). El sitio de inicio de transcripción y la región promotora del gen AMBN contienen elementos que actúan en *cis* potenciando o suprimiendo la transcripción. Algunos de estos elementos regulan la actividad de la transcripción en células mesenquimatosas *in vitro*, y el factor de transcripción es esencial en la diferenciación de los osteoblastos (Delsuc *et al.*, 2015).

La mayoría de las proteínas que están relacionadas con la formación de control de crecimiento y orientación de los cristales de hidroxiapatita son intrínsecamente desordenadas. La amelogenina está involucrada no solo en la biomineralización y promoción de la elongación de los cristales, también participa en la respuesta inflamatoria en los huesos y dientes. Se ha sugerido que esta proteína tiene un componente proteína-proteína específico, que participa en auto-interacciones y co-interacciones para realizar el ensamblaje organizado de la matriz orgánica (Delsuc *et al.*, 2015).

1.2 Fisiopatología

Una vez que los dientes se han formado, comienzan un proceso de erupción el cual en los humanos consta de dos etapas. La primera etapa comienza a partir de los 6 meses de vida, con la erupción del primer incisivo central inferior y termina aproximadamente a los 32 meses de vida con el segundo molar superior; a esta dentición se le conoce con el nombre de dentición primara. Su reemplazo posterior por una dentición secundaria o permanente comienza a partir de los 6 años de vida con la erupción del incisivo central inferior para terminar a los 12 años, aunque en algunas personas se puede presentar la aparición de terceros molares con edades comprendidas entre los 17 a 21 años (ADA, 2018).

Una vez que los dientes han erupcionado, se presenta un constante proceso de desmineralización y re-mineralización, que en conjunto con la ingesta de hidratos de carbono propios de la dieta que, al ser metabolizados por la microbiota de la cavidad oral, desciende el pH por debajo de 5.5. Esto ocasiona que el diente pierda minerales, ya que se ha demostrado que existe un intercambio iónico activo y permanente entre el esmalte y el medio bucal. Así, cuando el pH de la saliva es superior a 5.5 el diente se mantiene sano y la concentración de calcio y fostato es mayor que el producto de solubilidad de la hidroxiapatita (Monterde *et al.*, 2002).

Cuando no se tienen las condiciones necesarias para que el diente se mantenga sano, se produce una lesión incipiente en el esmalte dental, caracterizada por aparecer como una mancha blanca. Dicha lesión puede revertir después de 30-45 minutos, si el pH aumenta y el medio bucal se neutraliza, ya que se produce un depósito de minerales (fosfatos y sales) provenientes de la saliva en la superficie del diente (Monterde *et al.*, 2002). Dependiendo de la capacidad de buffer de la saliva y de algunas proteínas salivales, las cuales tiene propiedades antibacteriales y efectos mineralizantes,

se pueden influir o detener el proceso carioso, pero si esta lesión progresa se forma una cavidad (Hakuei *et al.*, 2010).

1.2.1 Caries

Los dientes en la cavidad oral están sujetos a la erosión cuando se produce una lesión en el esmalte, lo que origina una enfermedad llamada caries. La caries es definida como la desintegración gradual de los tejidos mineralizados del diente, que puede tener o no afectación de la pulpa. A medida que el proceso de desmineralización del esmalte continúa y llega a la dentina, la destrucción es mucho más rápida y comienzan a percibirse las molestias características (dolor, sensibilidad al calor y al frío, etc.). Es una enfermedad de carácter infeccioso y multifactorial (Tapia *et al.*, 2009).

a) Etiología

La caries es una enfermedad multifactorial, y dentro de los factores que favorecen su desarrollo se incluyen:

- **Tiempo.** La placa dental es capaz de producir caries por su capacidad acidogénica y acidúrica, de manera que los carbohidratos fermentables en la dieta no son suficientes. Éstos deben actuar durante un tiempo prolongado para mantener un pH ácido constante, inferior a 7, para generar con el tiempo una desmineralización dentaria (Negroni, 2009). Un órgano dental es capaz de resistir 2 h por día de desmineralización sin sufrir lesión en su esmalte, por la capacidad buffer de la saliva (Gati & Vieira, 2011).
- **Dieta.** Los alimentos ricos en azúcares simples facilitan la formación de ácidos orgánicos, que disuelven las sales de calcio del diente y provocan caries; sin embargo, no todos los azúcares simples tienen la misma capacidad cariogénica (Tapia *et al.*, 2009). Los almidones no la producen, pero una enzima presente en la saliva, denominada alfa amilasa salival o ptialina, es capaz de degradar el almidón hasta maltosa, y de acuerdo al tiempo que permanezca el bolo en la boca podría escindirlos hasta glucosa

(Soames & Southern, 2005). Los azúcares simples son administrados bajo formas adherentes, como el chocolate, los bombones o los caramelos masticables. Dado que la fermentación ácida depende más de la duración, ya que la presencia de azúcar en la dieta produce 18 horas de desmineralización asociada a la destrucción química dental, los azúcares en la cavidad bucal al ser metabolizados producen una disminución en el pH salival que favorece la desmineralización del esmalte (Tapia *et al.*, 2009)

- **Biofilm.** La formación de la caries requiere la implantación y el sobrecrecimiento de una serie de microorganismos, pero su presencia no implica necesariamente que llegue a formarse caries. La cavidad oral posee una microbiota propia, firmemente adherida entre sí, que recubre tanto tejidos blandos como superficies duras y se encuentra rodeada y entremezclada con material abiótico extracelular (Tapia *et al.*, 2009). La microbiota normal de la cavidad oral contiene una gran cantidad de microorganismos, aproximadamente de 700 especies bacterianas (Belda-Ferre *et al.*, 2012). En condiciones fisiológicas, la presencia de esta microbiota no es el origen de la enfermedad, pero el desequilibrio de este ecosistema microbiano es la base etiopatogénica de la caries dental y las enfermedades periodontales, ya que la microbiota al adherirse a la superficie dental se nutre de los residuos alimenticios de la boca, principalmente carbohidratos, los fermenta y produce el ácido láctico que ataca el componente inorgánico del esmalte dental, desmineralizándolo y favoreciendo su destrucción (Negroni, 2004). En particular, las especies bacterianas más frecuentemente relacionadas con la inducción de caries se presentan en la Tabla II. De todas ellas, el principal agente etiológico de la destrucción del esmalte son las cepas de *Streptococcus mutans* serotipo C (Tapia *et al.*, 2009), seguido por *Haemophilus* en la mucosa oral, *Actinomyces* en la placa supragingival, y *Prevotella* en el surco gingival (Belda-Ferre *et al.*, 2012).

Tabla II. Principales bacterias asociadas a caries, presentes en la cavidad oral.

<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Streptococcus sobrinus</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Neisseria flava</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>
<i>Rothias</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Propionibacterium</i>

- **Anatomía dental.** La propia morfología de las piezas dentarias, la composición de su superficie y su localización hacen que los dientes retengan más o menos placa dental. Los dientes de superficie lisa son menos susceptibles que los molares y premolares, considerados las piezas más susceptibles a padecer caries, por la presencia de fosetas, puntos y fisuras. La presencia de abundantes surcos en una cara oclusal, hacen más difícil la autoclisis. Las piezas dentales con defectos de mineralización son muy susceptibles a desarrollar caries (Messer *et al.*, 2006).
- **Hábitos:** El consumo de hidratos de carbono, especialmente entre comidas, sin una higiene dental adecuada, provoca que las bacterias de la placa dental desarrollen un efecto cariígeno continuo. Entre las medidas de higiene oral o bucal más importantes y accesibles se encuentra el cepillado dental, con o sin uso adicional de auxiliares.

El uso de chicle, siempre que no contenga azúcares hidrolizables, tiene un efecto beneficioso en la prevención de las caries, ya que estimula la producción de saliva la cual es de naturaleza alcalina, por lo que neutraliza a los ácidos procedentes del hidrólisis microbiana de los azúcares simples.

El uso de fluoruros previene hasta en un 60% la incidencia de caries. Su efecto anticariígeno se debe a la incorporación del ión flúor (F) a la hidroxiapatita del esmalte, sustituyendo a restos hidroxilo (HO⁻) y

formando fluorapatita, mucho más duro y resistente que la hidroxiapatita. La presencia de fluoruros en la saliva favorece el depósito de calcio y fosfato y por tanto la remineralización del esmalte (Tapia *et al.*, 2009).

El consumo de tabaco duplica la probabilidad de padecer caries, así como el uso de algunos medicamentos, ya que disminuyen el pH salival, condicionando a las piezas dentarias a padecer caries. El uso de tabaco puede disminuir la respuesta inmune del hospedero (De la cruz *et al.*, 2017).

- **Susceptibilidad genética.** Los factores genéticos y ambientales pueden contribuir a incrementar el riesgo y susceptibilidad a la caries (Gutiérrez *et al.*, 2013). La fase de amelogénesis del desarrollo del esmalte está controlada por los genes de formación del esmalte (Fincham *et al.*, 1999). El tamaño, la forma, la estructura y la composición del esmalte se ven afectados por variaciones genéticas, ya que la caries se inicia por la desmineralización (Simmer y Hu, 2001). Los estudios de asociación genética de caries dental han sugerido que la caries puede estar influenciada por variaciones en los genes de la formación del esmalte, como ameloblastina (AMBN), amelogenina (AMELX), enamulina (ENAM), metaloproteinasa de la matriz 20 (MMP20) y tuftelina (TUFT1) (Shimizu *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Gasse *et al.*, 2013; Shaffer *et al.*, 2015; Gerreth *et al.*, 2016).

Estudios previos han tratado de explicar cómo los genes de la formación del esmalte influyen en la susceptibilidad a la caries (Shimizu *et al.*, 2012; Daubert *et al.*, 2016; Uhlen *et al.*, 2016). Una hipótesis es que la variación en estos genes da como resultado la formación de esmalte más susceptible al desafío cariogénico (Shimizu *et al.*, 2012). Otra hipótesis establece que el huésped puede o no tener una mayor incidencia de caries, dependiendo de los antecedentes genéticos (Wang *et al.*, 2012). Sin embargo, los hábitos orales de un individuo pueden actuar como moderadores del factor genético a una mayor o menor susceptibilidad a padecer caries (Tannure *et al.*, 2012).

1.3 Polimorfismos genéticos

Se han hecho numerosos esfuerzos en el mapeo de genes para identificar *loci* genéticos específicos que contribuyen a la susceptibilidad de caries (Werneck *et al.*, 2011). Estos estudios incluyen el análisis de genes relacionados con la formación y composición salival, genes que participen en la respuesta inmune y genes que participen en el desarrollo del esmalte. La mayoría de estos estudios son basados en el análisis de polimorfismos. Existen millones de alteraciones genéticas denominadas polimorfismos, los cuales son una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población y tiene que estar presentes en el 1 % de la población humana, de no ser así, serán denominados como una mutación puntual (Chorley *et al.*, 2008). La mayoría de los estudios se basan en el análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's, por sus siglas en inglés).

Un polimorfismo de un solo nucleótido es la forma más común de variación génica. Se clasifica como el cambio de un nucleótido único por otro en un lugar determinado del ADN, que puede afectar la manera en que un individuo responde a su ambiente y modificar el riesgo de padecer alguna enfermedad. La mayoría de los millones de SNP's presentes en el genoma humano tienen poco efecto sobre la regulación génica o la actividad proteica, pero hay circunstancias en donde el cambio de base puede tener efectos negativos (Chorley *et al.*, 2008). Los SNP's que se encuentran en regiones codificantes pueden modificar la cadena de aminoácidos, afectando la proteína (mutaciones sinónimas o no sinónimas). Los SNP's que se encuentran en regiones no codificantes son de pronóstico más difícil, aunque ya se tienen reportes en la literatura, de las consecuencias en el proceso de maduración del mensaje (*splicing*), la unión de factores de transcripción y la modificación de la secuencia de ARN no codificante. Así mismo, pueden afectar secuencias reguladoras de los genes, incluyendo promotores, silenciadores, potenciadores y sitios de unión a factores de transcripción. Todo esto conlleva a

cambios en la expresión génica y el fenotipo, afectando así la susceptibilidad a enfermedades y a la exposición ambiental de un individuo o población (Chorley *et al.*, 2008).

Otro tipo de polimorfismos son los polimorfismos en tándem o VNTR por sus siglas en inglés. Estos son repeticiones de secuencias de 9 a 100 pares de bases, que pueden ser deleciones grandes o pequeñas, inserciones o duplicaciones segmentarias. Son comunes y representan aproximadamente el 90% de la variación génica de la secuencia conocida. Estos polimorfismos pueden utilizarse como un marcador molecular.

Por último, están polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP's), los cuales son secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción o endonucleasas que varían entre individuos. Las secuencias de restricción presentan usualmente patrones de distancia, longitud y disposición diferentes en el ADN de diferentes individuos de una población, por lo que se dice que la población es polimórfica para estos fragmentos de restricción. Los RFLP's son marcadores génicos del ADN y se pueden encontrar en regiones que codifican proteínas o exones, en los intrones o en el ADN que separa un gen de otro (Adel Abuzenadah, 2017).

La secuenciación de genes es la manera más directa para detectar una mutación o un polimorfismo, siendo este último el más óptimo para el diagnóstico de una enfermedad antes de que se desarrolle o la predisposición genética de la misma cuya causa no sea única. Al ir caracterizando un número mayor de polimorfismos, se hace posible la construcción de un mapa de SNP's, lo que los hace de utilidad para utilizarlos como determinantes de enfermedades (Luque & Hérreaez, 2012).

1.3.1 Polimorfismos genéticos relacionados con caries

El enfoque que se ha dado en relación a los genes asociados con caries incluye tres grupos principales, los genes involucrados en la formación y

composición salival, los que intervienen en la respuesta inmune y los genes participantes del desarrollo del esmalte dental (Vieira, 2012).

1.4 Gen AMBN

El gen AMBN codifica para la proteína de la matriz del esmalte llamada ameloblastina, que como se mencionó anteriormente es importante para la formación y mineralización de la matriz del esmalte dental, y se encuentra dentro del grupo de genes de fosfoproteína de unión al calcio. Está localizado en el brazo corto del cromosoma 4 (13.3) y cuenta con 13 exones. Mutaciones en este gen se han asociado con la dentinogénesis imperfecta y la amelogénesis imperfecta autosómica dominante (Ref Seq, 2011). Se cree que el gen AMBN controla el alargamiento de los cristales del esmalte y generalmente dirige la mineralización del esmalte durante el proceso de formación del mismo (Ergöz *et al.*, 2014).

El gen AMBN posee posiciones que han sido sometidas a fuertes presiones a lo largo de 200 millones de años. Estas posiciones corresponden a sitios de escisión y residuos hidroxilados, glucosilados y fosforilados, y se presume que estas posiciones conservadas serían potencialmente responsables de desórdenes en el esmalte si fuesen sustituidos (Delsuc *et al.*, 2015). Se tiene el reporte de 1301 SNP's localizados en el gen AMBN. Varios SNP's ya se han reportado con asociaciones a caries con otras enfermedades (Ergöz *et al.*, 2014). Los estudios de análisis de todo el genoma sugieren que aproximadamente 30 SNP's se asocian con susceptibilidad a caries en niños con asma (Ramasamy *et al.*, 2012). Se ha reportado asociación con caries a partir de la interacción con flúor en pacientes pediátricos, a mayor ingesta de flúor menor presencia de la enfermedad, reportándose SNP's asociados a caries en diferentes poblaciones. El polimorfismo rs7439186 presente en el gen AMBN, es el polimorfismo asociado a esta condición (Wang *et al.*, 2012; Shaffer *et al.*, 2014).

El gen AMBN está relacionado también con el desarrollo de la amelogénesis imperfecta (AI). En ratones se ha confirmado que SNP's en este gen, están estrechamente relacionados con en el fracaso de la amelogénesis normal. Mediante la secuenciación del exoma, se han identificado deleciones en el exón número 6 del gen AMBN en familias consanguíneas, lo cual resulta en el acortamiento de la proteína, generando un esmalte aprismático y más delgado. Por lo anterior también se sugirió que el gen AMBN puede funcionar en el desarrollo óseo (Poulter *et al.*, 2014).

Estudios estructurales y funcionales que detallen las funciones de AMBN, se han visto sustancialmente limitados por la escasez de la proteína no degradada. Pero se ha reportado el procedimiento para la producción de una proteína altamente purificada de AMBN humano, en cantidades que permitieron realizar su caracterización estructural. En dicho estudio se demostró que AMBN se auto asocia, y el análisis de deleciones reveló que un segmento N-terminal codificado por el exón 5 comprende dos regiones cortas, independientemente estructuradas y que desempeñan un papel clave en el auto ensamblaje de AMBN (Walt *et al.*, 2013). Por lo que, al encontrar todas las posibilidades de estudio del gen AMBN y su participación en la formación del esmalte, es de suma importancia el análisis del mismo para mejorar la comprensión del papel de la ameloblastina en el proceso de amelogénesis y sus consecuencias al encontrarnos con un polimorfismo en el gen.

1.5 Índice CPO-D

El índice de piezas cariadas, perdidas y obturadas o índice CPO, fue desarrollado en 1935 por Klein, Palmer y Knutson, durante un estudio del estado dental de niños de escuelas primarias en Hagerstown, Maryland, EUA. Se ha convertido en el principal índice en los estudios odontológicos, en los cuales se cuantifica la prevalencia de caries dental. Este estudio señala la experiencia de caries presente y la experiencia de caries pasada, pues toma en cuenta piezas con lesión cariosa y con tratamiento realizado. El índice se

obtiene de la sumatoria de los dientes obturados y perdidos, incluyendo las extracciones indicadas, divididos entre el total de los individuos examinados (Aguilar *et al.*, 2009).

Se utiliza una d en el caso de que la población analizada sea infantil y una D en el caso de una población de adultos, se calcula con base en 28 dientes permanentes, excluyendo los terceros molares (Piedro gil, 2003). La organización mundial de la salud, lo clasifica de acuerdo a la severidad (Tabla III).

Tabla III. Índice de CPO-D según los criterios establecidos por la OMS.

Índice	
Valor	
Muy bajo	0.0 a 1.1
Bajo	1.2 a 2.6
Moderado	2.7 a 4.4
Alto	4.5 a >6.5

1.6 Prevalencia de caries dental

La caries dental es una de las enfermedades bucales de mayor prevalencia en el mundo al afectar hasta el 90-95% de la población. En los últimos años se ha reducido su frecuencia en países desarrollados, aunque no sucede lo mismo en países en vías de desarrollo, lo cual ha motivado a los investigadores a estudiar el perfil epidemiológico y clínico de la caries dental, como su prevalencia y los factores de riesgo asociados (Rivera *et al.*, 2017). Se estima que del 60 al 90 % de los pacientes en edad escolar y el 95 % de los adultos padecen caries alrededor del mundo y alrededor del 30% de la población mundial con edades comprendidas entre los 65 y 74 años no tienen dientes naturales (OMS 2017).

Los factores causales que producen caries están identificados, sin embargo, factores como las condiciones en la vida de una población pueden predisponer a su padecimiento, lo que origina que las estrategias planteadas por las organizaciones de salud sean insuficientes para erradicar la enfermedad (Rivera *et al.*, 2017). Determinar la prevalencia de caries y sus factores de riesgo asociados es importante para el diseño y aplicación de estrategias de intervención que modifiquen estos factores en grupos vulnerables, y para el cálculo de las necesidades materiales y los recursos humanos necesarios para enfrentar este problema de salud a nivel regional y nacional (Rivera *et al.*, 2017).

En el caso de México, el Sistema de Vigilancia epidemiológica de patologías bucales (SIVEPAD), mediante la encuesta nacional de caries realizadas a pacientes que acuden a la clínica del IMSS, ISSSTE y clínica de la Secretaria de Salud Pública, se determinó que en la población analizada el 93.2% presenta caries dental. Mientras que el índice de CPO-D fue de 12.7, considerado un índice muy elevado. La edad en donde se concentró el mayor número de pacientes con caries fue de 25 años, siendo las mujeres las que presentaron mayormente dicho padecimiento (SIVEPAD, 2015).

Para el estado de Michoacán la prevalencia de caries es del 62 % en niños de 6 años; teniendo en cuenta que un niño con caries será un adulto con caries, el pronóstico para la edad adulta, es que más de la mitad de la población presentará caries en la edad adulta. El índice de CPO-D en el estado de Michoacán es de 3.09, un índice moderado de acuerdo a los criterios de la OMS, aunque comparando el índice de CPO-D con años anteriores, el índice ha aumentado en los últimos años.

1.7 Antecedentes locales

En el laboratorio de Genética Molecular Microbiana de la UMSNH, se realizó la tipificación genético molecular de aislados bacterianos obtenidos de la cavidad oral de niños de ambos sexos, con edades comprendidas entre 1 y

12 años, de la ciudad de Morelia. Se obtuvieron 516 aislados, de los cuales solo 12 pertenecían a *Streptococcus mutans*, por lo que se llegó a la conclusión que otros microorganismos o factores estaban mayormente implicados en el proceso carioso y pueden ser el común denominador de la caries en esta población (López-Torres, 2009).

En otro estudio realizado también en el estado de Michoacán a 125 estudiantes inscritos en la UMSNH, con edades entre 18 y 44 años, siendo la mayoría del sexo femenino, se encontró una prevalencia de caries en esta población de estudio del 71.8% y un índice de CPO-D de 3.07, lo cual concuerda con lo reportado por el SIVEPAD, en este estudio, se reportó una relación entre el CPO-D y la edad, además de una asociación positiva entre la caries con ciertos polimorfismos en el gen AMELX (De la Vega, 2015).

2. JUSTIFICACIÓN

La caries en México y a nivel mundial ocupa el primer lugar en enfermedades de la cavidad oral, y la mayoría de los estudios se enfocan en población infantil en edades comprendidas entre los 6 y 15 años de edad, por lo que existen pocos datos referentes a sujetos de mayor edad. Ya se ha reportado que los polimorfismos en los genes asociados con el desarrollo del esmalte tienen relación con la susceptibilidad a padecer caries en diferentes poblaciones (caucásicas, afro americanas y brasileñas). No obstante, en México y específicamente en el caso de Michoacán, solo existe un estudio en el que se encontró una asociación positiva entre el índice CPO-D con ciertos polimorfismos en el gen AMELX (De la Vega, 2015), por lo que son necesarios estudios adicionales que permitan evaluar la asociación entre dicho índice y los polimorfismos de otros genes asociados al proceso de dentición.

En el presente estudio se incluyeron muestras de 124 estudiantes de la Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo analizadas en el estudio de De la Vega, 2015 y de 72 pacientes que acuden a la clínica de odontología de la Universidad Latina de América (UNLA). Todos los sujetos de estudio son residentes de la ciudad de Morelia, por lo que el presente análisis contribuye a comprender mejor la etiología de la caries en adultos residentes en una subpoblación del centro de México. La información aquí generada será pionera en el análisis de polimorfismos relacionados con caries en México y podrá ser utilizada para el desarrollo de mejores técnicas de prevención por parte del sector salud, adecuadas a esta población. Estudios posteriores en otras regiones del país utilizarán los datos del presente trabajo para ir generando un panorama sobre la distribución de polimorfismos en genes asociados a dentición y su relación con el proceso de caries.

3. HIPÓTESIS

La presencia de polimorfismos en el gen AMBN que codifica para la ruta de síntesis del esmalte dental, se relaciona con la prevalencia de caries en una muestra de adultos que residen en Morelia.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Identificar la asociación entre polimorfismos del gen AMBN involucrado en la formación de esmalte dental, con la presencia de caries en una muestra de adultos.

4.2 Objetivos específicos.

- Buscar polimorfismos en el gen AMBN de la población de estudio.
- Determinar la correlación entre el índice CPO-D y los polimorfismos genéticos detectados en el gen AMBN.

5. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

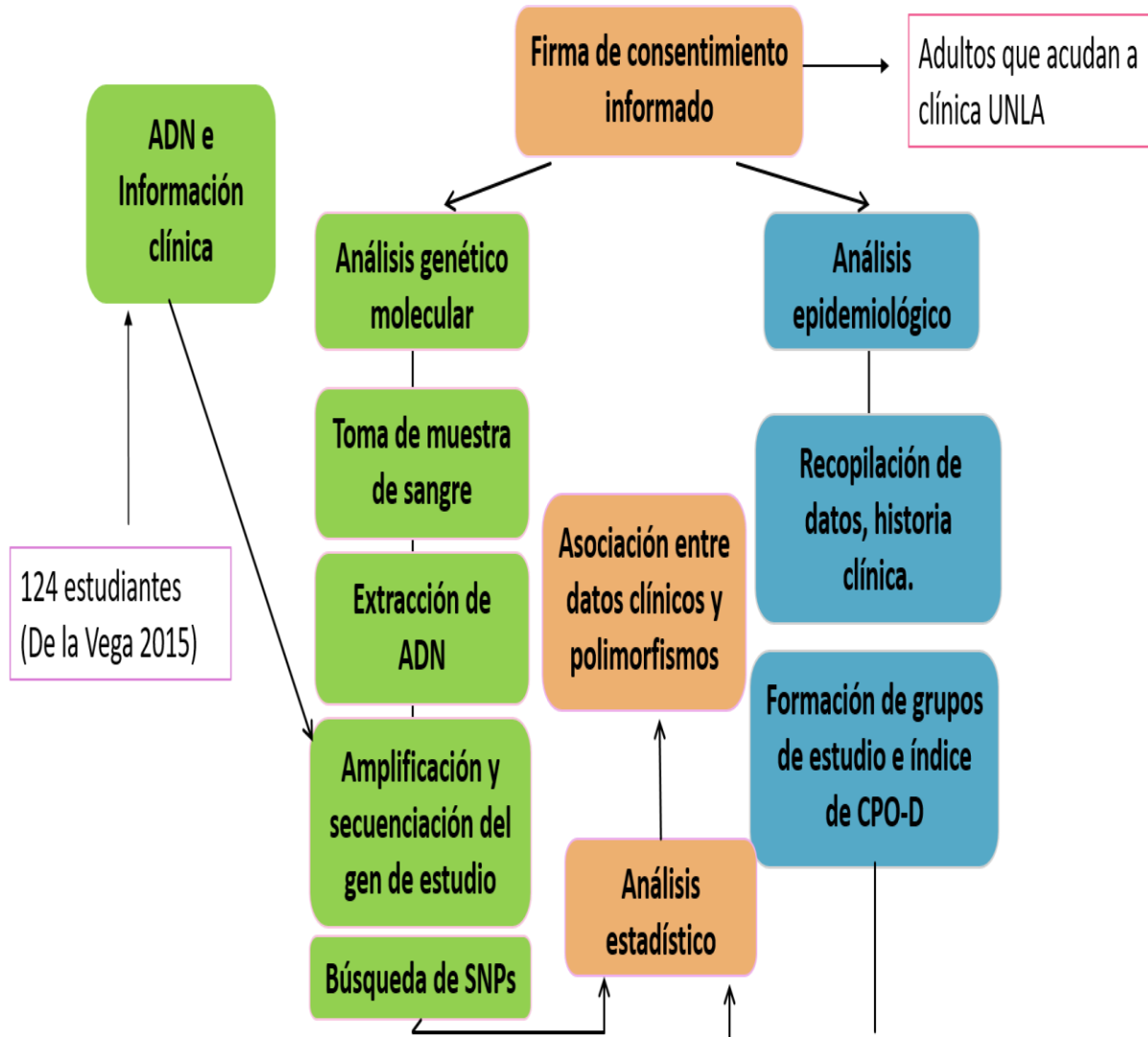


Figura 4. Estrategia experimental.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo transversal.

6.2 Universo de estudio

Estudiantes inscritos en la Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, UMSNH (De la Vega, 2015) además de pacientes y estudiantes que acuden a la clínica de odontología de la Universidad Latina de América (UNLA).

6.3 Muestreo

Se contó con las muestras existentes en el Laboratorio de Genética Molecular Microbiana, de la División de Estudios de Posgrado perteneciente a la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”. Las muestras provienen de 124 estudiantes inscritos en la Facultad de Odontología de la UMSNH (De la Vega, 2015), además de 71 muestras de sangre obtenidas de pacientes y estudiantes que acuden a la clínica de odontología de la Universidad Latina de América (UNLA). De cada uno de los sujetos que participaron en este estudio se llenaron historias clínicas (Anexo A) y se realizó la firma del conocimiento informado (Anexo B), después de haber recibido una explicación acerca del motivo del estudio y la relevancia de su participación en el mismo.

6.3.1 Criterios de inclusión

- Sujetos de ambos sexos.
- Sujetos mayores de 18 años de edad.
- Sujetos que hayan firmado su consentimiento informado.

- Sujeto con el expediente completo.

6.3.2 Criterios de exclusión

- Sujetos menores de 18 años de edad.
- Sujetos que no hayan firmado la carta de consentimiento informado.

6.3.3 Criterios de eliminación

- Sujetos que no tengan debidamente integrado su expediente.
- Sujetos que no finalizaron la etapa de muestreo.
- Sujetos que decidieron por voluntad propia dejar de participar en el estudio, con la correspondiente Carta de revocación de consentimiento

Se realizó el cálculo de la N muestral (Díaz *et al.*, 2002) para la clínica de la Universidad Latina de América, para asegurar que el estudio tuviera una muestra significativa de los pacientes que acuden a la misma. Este cálculo fue hecho mediante la fórmula presentada en la fig. 5, dándonos un total de 47 sujetos de estudio, con un índice de confiabilidad del 95% y un valor estadístico del 80%.

$$n = \left(\frac{z_{1-\alpha} + z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right)^2 + 3$$

Figura 5. Fórmula utilizada para realizar la N muestral del presente estudio.

6.4 Consideraciones éticas

Este proyecto se llevó a cabo bajo los principios éticos y bioéticos para la Investigación en Seres Humanos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (WMA, 2000), del Informe Belmont. También se consideró el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de

Investigación para la Salud, en su Título Quinto, Capítulo Único, Artículo 100; con base en ella, el presente estudio se considera una investigación de riesgo mínimo para el paciente.

Además, se aplicó la Reglamentación, Misión y Visión de las Facultades de Odontología y Medicina de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y de la Universidad Latina de América, en relación a la investigación. Fueron consideradas todas las posibles eventualidades que pudiesen presentarse en el presente estudio en el Consentimiento Informado del Anexo B (De la Vega, 2015).

Se cuenta con la autorización al Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) para las muestras ya existentes en el Laboratorio de Genética Molecular Microbiana, de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la UMSNH. Se obtuvo la aprobación del Comité de Bioética de la Universidad Latina de América para poder obtener datos clínicos y la muestra sanguínea de los sujetos de estudio que acudían a las clínicas de odontología de la UNLA, edificio F.

En este estudio la Candidata a Maestra en Ciencias de la Salud Claudia Ivett Guillen Reyes, fue la responsable de la recolección de información clínica, el manejo de los datos y tratamiento de las muestras, así como del manejo final de los resultados.

La información obtenida se trató con absoluta confidencialidad, conforme a la Ley Federal de Protección de Datos personales en Posesión de los Particulares, y por ningún motivo se compartió con terceros.

6.5 Llenado de encuestas

Una vez obtenida la autorización del Comité de Bioética de la Universidad Latina de América, se procedió a la recolección de datos de las historias clínicas de la UNLA, la cual cumple con todos los requisitos impuestos

en la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-004-SSA3-2012, del expediente clínico (Anexo C).

Se excluyó del estudio la valoración del tercer molar, ya que por las edades de los estudiantes más jóvenes o por razones evolutivas podría ya no presentarse en cavidad oral, lo que ocasionaría un sesgo a la hora de evaluar los resultados.

6.6. Cálculo del CPO-D

El índice CPO-D se calculó mediante la sumatoria de todos los índices de CPO-D de nuestra población de estudio, dividida entre la n muestral, para obtener una variable de carácter cuantitativo.

$$\text{Índice CPO-D} = \frac{\sum \text{CPO-D individuales}}{n}$$

6.7 Toma de muestra sanguínea

Se extrajeron 5 mL de sangre venosa de cada uno de los sujetos de estudio en la enfermería de la UNLA por punción venosa, la cual fue recolectada en un tubo con EDTA para su posterior almacenamiento a -20°C .

6.8 Extracción de ADN

Se colocaron 2 mL de muestra sanguínea en un tubo con resina marca ED Vacutainer. Se agregaron 2 mL de regulador de lisis (Tris-HCL 100 mM, pH 8.0, SDS 2%, NaCl 100 mM, EDTA 50mM) y 1 mL de solución fenol-cloroformo (1:1 v/v) pH 8.0. Posteriormente, las muestras se agitaron en vórtex durante 5 min y se centrifugaron durante 10 min a $5000\times g$. Del sobrenadante (fase acuosa) se tomaron 5 alícuotas de 400 μL y se colocaron en micro tubos de 1.5 mL. Este tratamiento con fenol-cloroformo se repitió nuevamente. El sobrenadante se transfirió a otro microtubo y el ADN se precipitó con el mismo volumen de isopropanol frío durante 2 h a -20°C . Transcurrido ese tiempo se

centrifugó durante 10 min a 9.4G, se desechó el sobrenadante y la pastilla de ADN se lavó dos veces con 200 µL de etanol a 70%. Se dejó secar a temperatura ambiente y se re-suspendió en 30 µL de agua desionizada esterilizada.

La integridad del ADN extraído fue evaluada mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio (BrEt). El gel se visualizó en un fotodocumentador Chemi Doc (Bio Rad®, USA). El ADN extraído se cuantificó en un espectrofotómetro 2000c, marca Thermo Scientific (NanoDrop).

6.9 Amplificación por PCR

Se realizó una PCR *in silico* en NCBI con los iniciadores: 5'TTGGGTCATACCTCCCAAAA3'/5'GATGGACCTTGTGGATCAGC3' (Kim *et al.*, 2006), para asegurar el éxito en la amplificación *in vitro*. La amplificación de una región intrónica-exónica de 225 pb del gen AMBN, se realizó en un volumen de 25 µL que contenían solución reguladora (Tris-HCl 20mM, pH 8.4; KCl 5mM), MgCl₂ 2.5mM, dNTP's 0.2mM, 1µM de cada iniciador, 70 ng de ADN y 1 U de *Taq* DNA Polimerasa Platinum® (Invitrogen, USA).

Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Corbet RESEACH, modelo CG1-96. El programa de amplificación utilizado fue: un ciclo a 94 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 53 °C por 30 s y 68°C por 1 min, con una extensión final a 72°C por 5 min.

Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis, en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio, usando un fotodocumentador Chemi Doc de BioRad.

6.10 Secuenciación

Los amplicones obtenidos se secuenciaron en ambos sentidos por Elim Biopharmaceuticals (Hayward, CA, USA). Las secuencias fueron editadas con el programa Bioedit versión 3.03.

Las secuencias directa y reversa se editaron por separado para eliminar las zonas que presentaron errores. Para cada una de las secuencias reversas se obtuvo la secuencia complementaria por medio del programa Bioedit versión 3.03. A continuación, se unieron ambas secuencias, para obtener la secuencia completa, para realizar su análisis.

6.11 Alineamiento

La presencia de polimorfismos se detectó mediante alineamientos múltiples de secuencias, utilizando el paquete Clustal X versión 2.0 y el programa Mega 7.0 (Kumar *et al.*, 2016).

Las secuencias se examinaron con base al algoritmo BLAT y de la observación directa de los diferentes picos presentes en cada electroferograma para cada una de las variaciones en la secuencia del segmento amplificado, para establecer el genotipo de homocigoto silvestre, mutante o heterocigoto para cada sujeto de estudio.

6.12. Análisis de datos

Los datos obtenidos de la base de datos de las muestras existentes en el Laboratorio de Genética Molecular Microbiana (De la Vega, 2015) y de las historias clínicas obtenidas en la Universidad Latina de América, se organizaron y clasificaron de acuerdo al tipo de variable y su unidad de medida (Tabla IV). Se consideraron las siguientes variables:

- a) Variables Demográficas: género, edad, lugar de origen.
- b) Variables Culturales: frecuencia de cepillado bucal y de atención odontológica, uso de auxiliares en la higiene bucodental, consumo de colaciones, adicciones.
- c) Variables Clínicas: estado de la dentición, que incluye piezas cariadas, perdidas y obturadas.
- d) Variables Moleculares: genotipo y SNP's.

Tabla IV. Descripción de las variables de estudio.

Variable Determinada	Fuente	Tipo de variable	Escala de medición (Unidades)
VARIABLES DEMOGRÁFICAS			
1. Género	Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal dicotómica
2. Edad	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cuantitativa	Numérica continua Grupos etarios de la OMS
3. Lugar de Origen	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal policotómica
VARIABLES CULTURALES			
1. Cepillado dental	Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal policotómica,
2. Atención Odontológica	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Ordinal, independiente
3. Auxiliares de higiene bucal	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal dicotómica, independiente
4. Consumo de colaciones	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal dicotómica, independiente
5. Adicciones	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal dicotómica independiente.
VARIABLES CLÍNICAS			
1. Estado de la dentición	Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal policotómica, dependiente
2. Opacidad/ Hipoplasia Del esmalte	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal policotómica, dependiente
3. Fluorosis	Base de datos (De la Vega, 2015) Historia clínica Estomatológica UNLA	Cualitativa	Nominal policotómica, dependiente
VARIABLES MOLECULARES			
1. Genotipo	Alineamiento en BLAT y visualización del electroferograma.	Cualitativa	Nominal dicotómica independiente
2. SNP	En base a las secuencias depositadas en el GenBank	Cualitativa	Nominal policotómica independiente

6.12.1 Tratamiento estadístico

Los datos tanto clínicos como genético-moleculares recolectados, fueron vaciados en una base de datos elaborada en el programa SPSS Statistics. Se empleó el análisis de frecuencias y porcentajes de todas las variables para realizar la correlación epidemiológica y molecular, mediante Regresión lineal simple y múltiple, tomando en cuenta la significancia estadística considerada para este estudio de un valor de $R < 1$.

Se utilizó la prueba de Regresión lineal para determinar la distribución específica de los datos de la muestra.

7. RESULTADOS

7.1 Variables demográficas

Se contó con los datos obtenidos de las historias clínicas de 194 sujetos, de los cuales 116 pacientes fueron del género femenino (59.5 %) y 79 del género masculino (40.5%). Se formaron grupos etarios de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS, encontrándose que la mayoría de los pacientes muestreados caían en el grupo de 20-24 años, seguidos por el grupo de 25-29 años. En tercer lugar, los pacientes más representados se encontraron en el grupo de 15-19 años, seguidos por el grupo de 30-34 años y por último el grupo de 35 o más años, el cual fue el grupo con el menor número de pacientes (Figura 6).

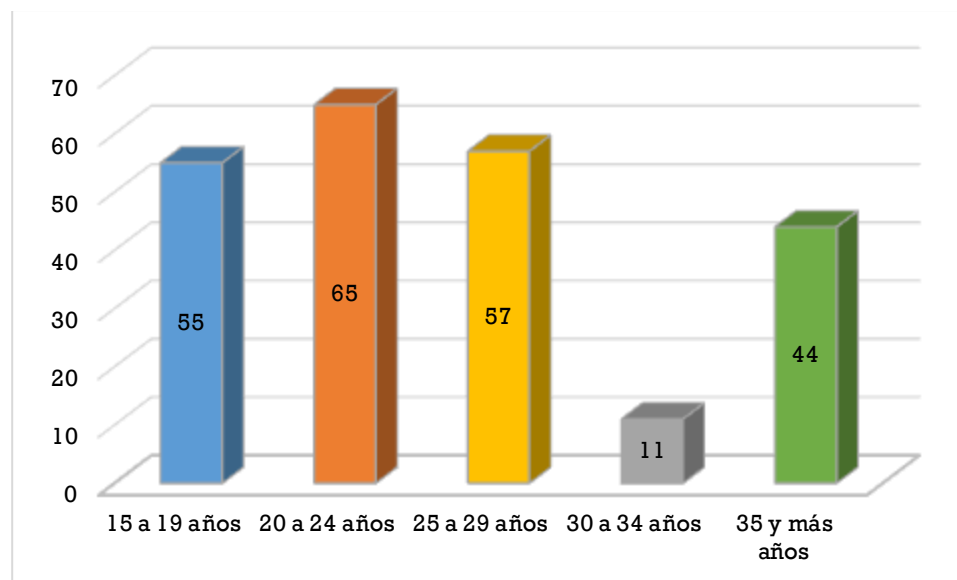


Figura 6. Grupos etarios de la muestra de estudio de acuerdo a la clasificación de la OMS.

Los sujetos de estudio fueron en su mayoría provenientes del estado de Michoacán de Ocampo, con 167 participantes (86.08%), siendo alumnos de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, y pacientes de la clínica de odontología de la Universidad Latina de América. En menor cantidad se obtuvo

una participación de 25 pacientes (12.88%) provenientes de otros estados de México y dos participantes (1.03%) de países diferentes a México.

7.2 Variables culturales

En este apartado se obtuvo el porcentaje de frecuencia de cepillado dental de los sujetos evaluados. La frecuencia alta se atribuyó al cepillado de 3 o más veces al día, frecuencia media al cepillado dos veces al día y, por último, la frecuencia baja, para aquellos casos en donde se reportó el cepillado una vez al día o ninguna vez. Se obtuvo como resultado que la mayor frecuencia fue la media, con un 62.37 % del total de sujetos de estudio, la cual corresponde a cepillar sus piezas dentales dos veces al día. Esto fue seguido por la frecuencia alta con un 28.35%, y un restante 9.27% de frecuencia baja (Fig. 7).

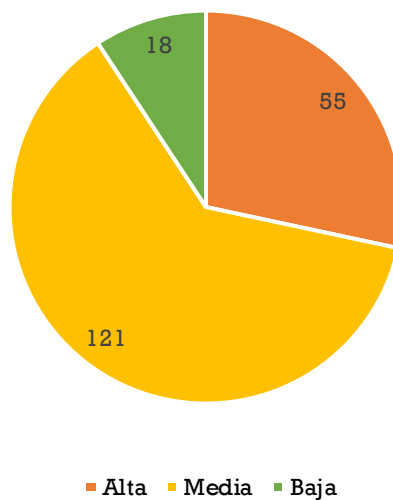


Figura 7. Frecuencia de cepillado dental en la población de estudio.

Otra variable analizada fue el uso de auxiliares en la limpieza dental, como el enjuague bucal y el hilo dental. En este apartado se encontró que, de los 194 sujetos de estudio analizados, 78 pacientes de la población de estudio no emplean ningún auxiliar de higiene, mientras que 46 emplean ambos

auxiliares, 20 pacientes emplean hilo dental y 50 emplean únicamente enjuague bucal (Fig. 8).

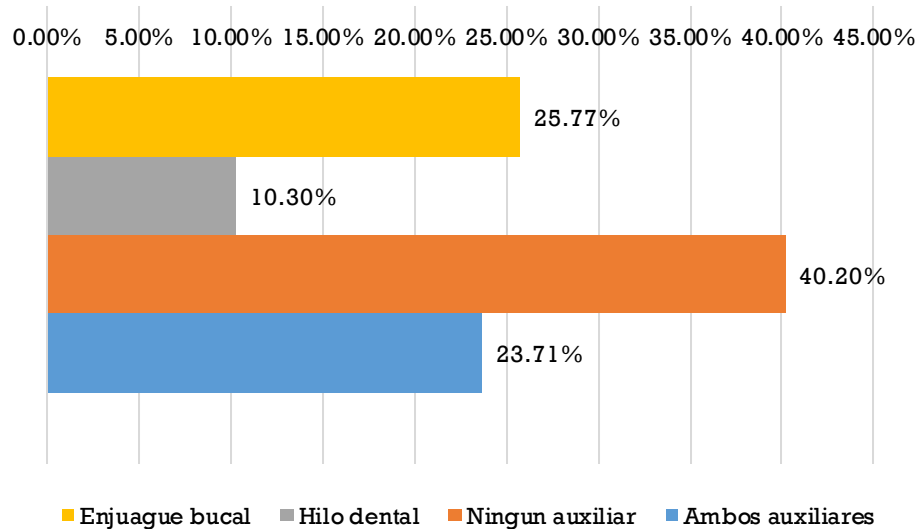


Figura 8. Uso de auxiliares dentales en la población analizada.

También se recabó la información acerca del consumo de alimentos entre comidas (colaciones). Se encontró que un 76.80% de los sujetos de estudio tienen el hábito de consumir alimentos entre comidas, como golosinas, galletas, refrescos o algún otro tipo de alimentos; el 23.19% restante reportó que no consumen colaciones. Así mismo, se evaluó el consumo de alcohol y tabaco entre los encuestados (Fig. 9), observándose que 85 (43.81%) sujetos de estudio no consumían ninguna de las dos sustancias, 42 (21.64%) reportaron el consumo de alcohol, 26 (13.40%) reportaron el consumo solamente de tabaco y, por último, 41 (21.13%) reportaron consumir tanto tabaco como alcohol.

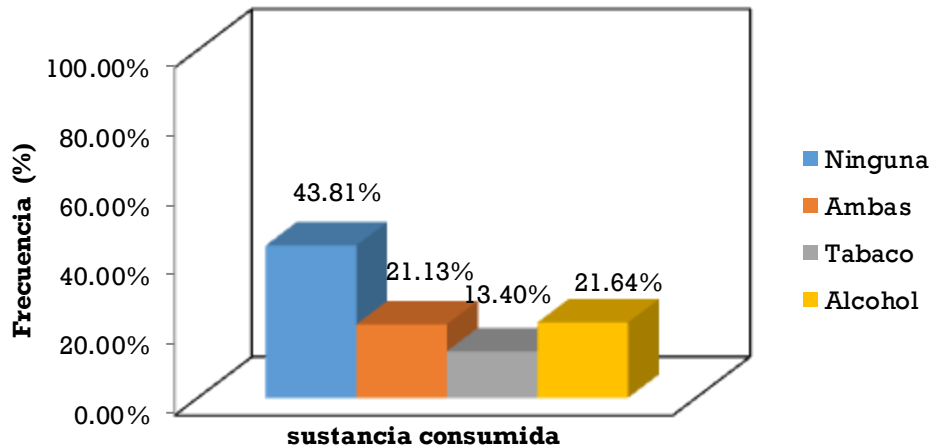


Figura 9. Frecuencia de consumo de tabaco y alcohol en la población analizada.

Se determinó la frecuencia con que los sujetos de estudio asistían a consulta odontológica (Fig. 10). El 50.51% de la población analizada reportó un nivel bajo en atención odontológica, es decir, no acuden a consulta dental de forma preventiva, reportando que solo acuden bajo una emergencia dental o signo de dolor. En el caso de los sujetos de estudio que tienen una frecuencia alta (20.10%), declararon acudir dos o más veces al año a revisión dental, mientras que los que reportan acudir en frecuencia media, de una vez al año a atención dental odontológica, fueron el 29.38% restante (Tabla V).

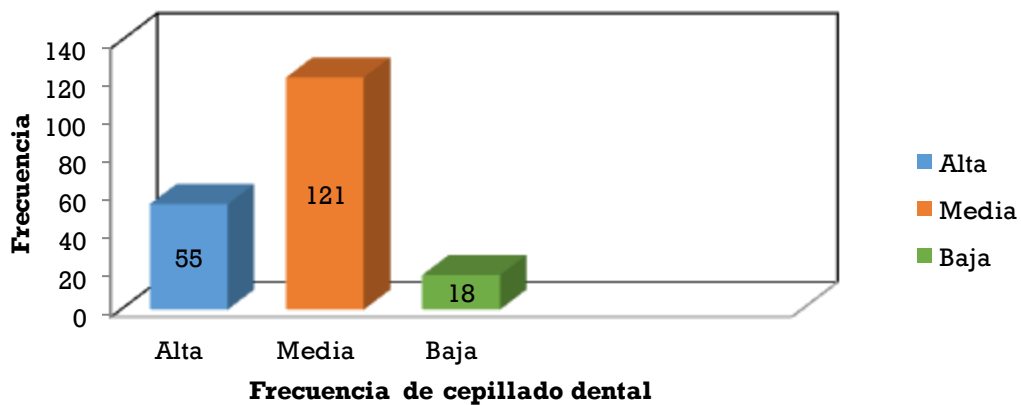


Figura 10. Frecuencia de cepillado dental.

Tabla V. Frecuencia de atención dental por año.

		Frecuencia	Porcentaje Válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Alta	39	20.10%	20.10%
	Regular	57	29.38%	29.38%
	Baja	98	50.51%	50.59%
Total		194	99.99%	100%

7.3 Variables clínicas

Se recolectaron los datos del estudio realizado en la cavidad oral de cada uno de los individuos. Para esto se tomaron en cuenta los datos solamente hasta el segundo molar, descartando los cordales o terceros molares, ya que estos podrían o no, presentarse en la cavidad oral. Así que se determinó el número de piezas dentales tomando como número máximo 28 piezas dentales.

Para determinar la calidad del esmalte dental se analizaron los datos de la base de datos elaborada por De la Vega (2015) y de la base de datos de historias clínicas de la Universidad Latina de América. Este análisis arrojó que el 71.13% presentaba un esmalte normal, sin alteración en su estructura, color y formación, un 13.40% tuvo opacidad delimitada y 13.40% presentó opacidad difusa (Fig. 11).

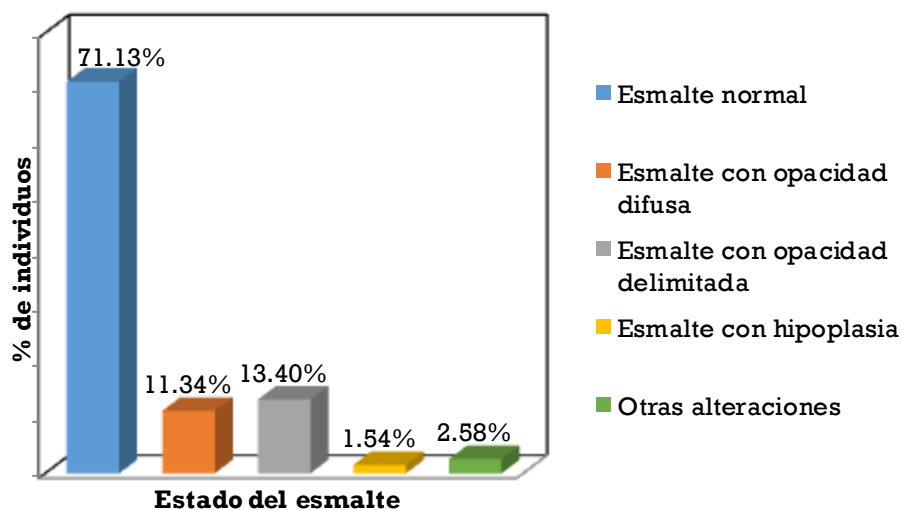


Figura 11. Estado del esmalte dental en la población analizada.

El análisis de fluorosis se realizó en el maxilar superior, tomando como referencia desde el primer premolar derecho, hasta el primer premolar derecho, en base a los parámetros establecidos por la OMS. Al analizar la presencia de fluorosis se encontró que 171 pacientes no presentaron fluorosis, 20 presentaron fluorosis escasa y 3 probablemente presentan fluorosis (Fig. 12).

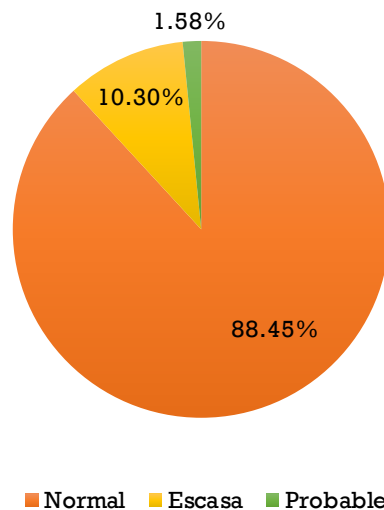


Figura 12. Presencia de fluorosis en la población analizada.

El análisis de la prevalencia de caries en la población de estudio fue de 69.07% (134 sujetos). Del grupo con caries, 83 sujetos son del género femenino (61.94 %) siendo el grupo con mayor prevalencia de caries en este estudio, a diferencia de 51 sujetos de estudio del género masculino (38.05%).

La búsqueda de presencia de caries se extendió hasta las piezas perdidas a causa de caries, lo cual representa 7.7% del total de piezas perdidas, en contraposición de un 14.37% de piezas perdidas por otras causas, generalmente por tratamientos de ortodoncia, traumatismos o fracturas. Así como el total de piezas obturadas con presencia de caries recidivante, las cuales representan el 2.03%, así como el total de piezas obturadas sin presencia de caries, que nos da un 12.78% (Tabla VI).

Tabla VI. Análisis de estado de dentición, en cuanto al número de piezas perdidas y obturadas.

Piezas perdidas	Por caries	Otras razones	Porcentaje acumulado
	7.70%	14.37%	
Piezas obturadas	Con caries	Sin caries	14.82%
	2.03%	12.78%	

El índice de CPO-D de la población analizada fue de 3.64, considerado un índice moderado de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS.

7.4 Correlación entre las variables epidemiológicas

Para establecer en qué grupo se presenta mayor prevalencia de caries, se determinó la relación entre el índice de CPO-D y los grupos etarios, dando como resultado que el grupo de adultos jóvenes de 30 -34 años es en el que se presenta el índice CPO-D más alto, con un valor de $R_{.086}$ (Fig. 13).

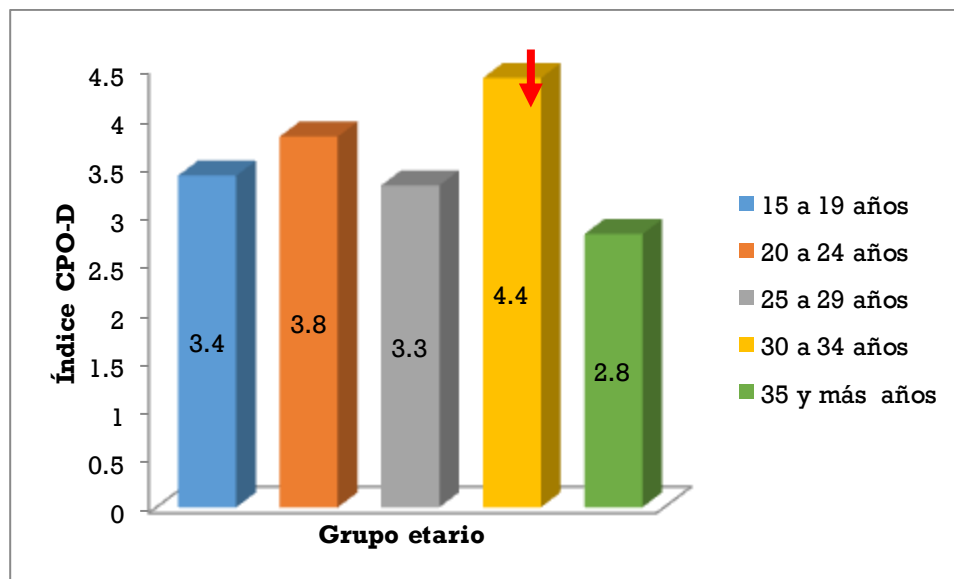


Figura 13. Asociación entre el índice CPO-D y los grupos etarios. En donde se muestra que la mayoría de los sujetos de estudio se encuentran en el grupo de 30 a 34 años marcados con la flecha.

Se asoció el índice de CPO-D con el uso de auxiliares en el proceso de higiene dental, observándose que los individuos que no utilizan ningún tipo de auxiliar (enjuague bucal/hilo dental) presentan un índice de CPO-D mayor, en comparación con los individuos que reportaron apoyarse en la utilización de estos.

El análisis de la asociación de hábito de cepillado en los sujetos de estudio, mostró que un 28.35% de pacientes practicaban un buen hábito cepillando sus dientes tres veces o más al día. Como hábito moderado se incluyó a aquellos pacientes que cepillan sus dientes dos veces por semana, siendo este el hábito que presentó el mayor porcentaje de individuos, con un 62.88% del total de la muestra. Por último, se tomó como deficiente a aquellos sujetos que reportaron cepillarse los dientes una vez al día o ninguna, representando un 8.77% (Fig. 14). Se encontró una relación entre los individuos que presentaban un buen hábito de cepillado y los que presentaron el menor índice de CPO-D, así como una asociación entre los individuos que cepillan sus dientes una vez al día o ninguna con los que presentan el índice de CPO-D más alto, dando un valor de R de 0.001 (Fig. 15). Por lo anterior, se encontró que sí existe una correlación entre la frecuencia de cepillado con el índice de CPO-D, a mayor frecuencia de cepillado, menor índice de CPO-D en el paciente.

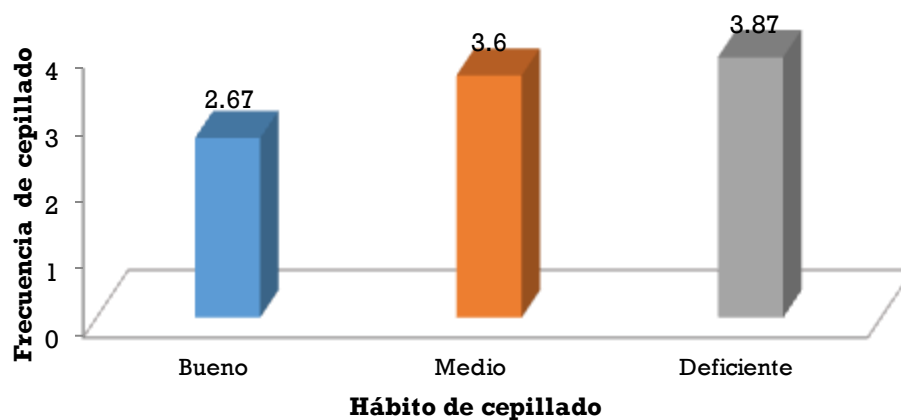


Figura 14. Porcentaje de frecuencia de cepillado dental de la población analizada.

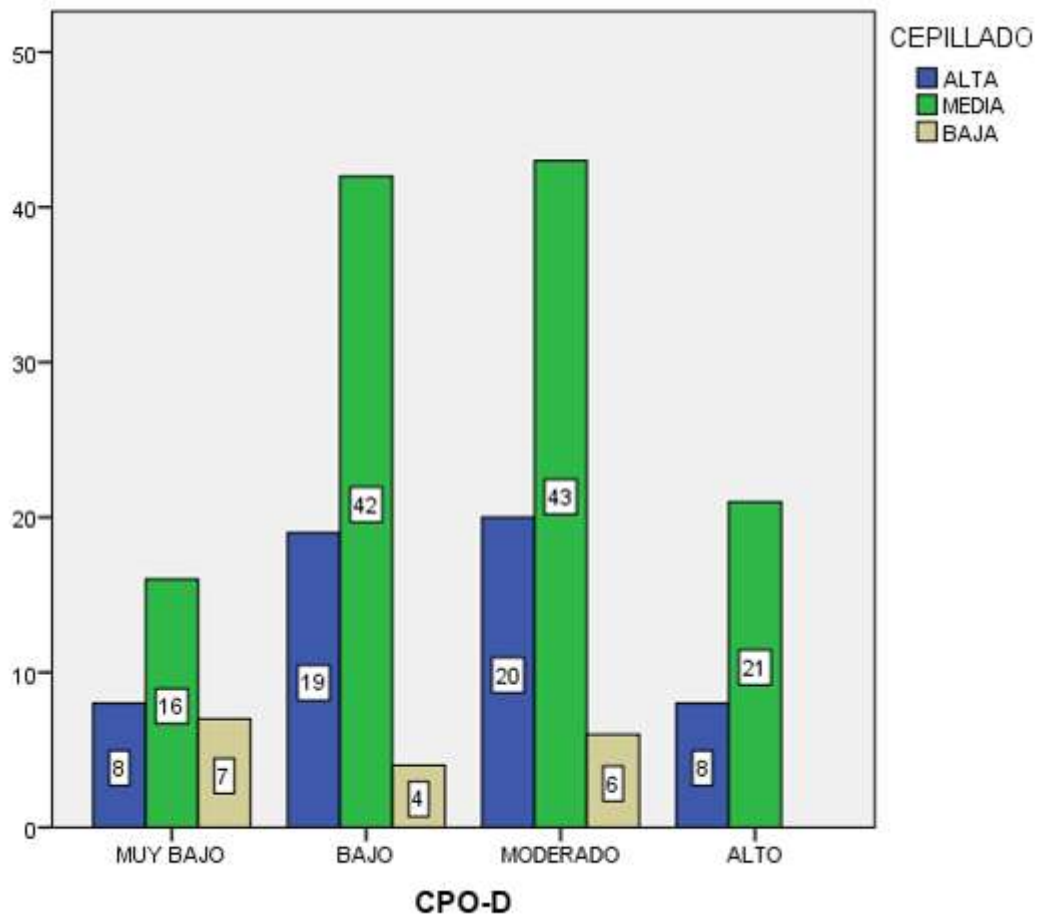


Figura 15. Correlación entre el hábito de cepillado y el índice de CPO- D. Significancia de 0.311.

Otra variable que se consideró fue la frecuencia con la que los sujetos de estudio acuden a la atención odontológica en el lapso de un año (AOPA). Aquí, el 50.51% de la población analizada reportó tener una atención odontológica deficiente, menor a una vez por año. El 29.38% de los sujetos de estudio reportó una atención odontológica regular, asociada a un índice moderado de CPO-D. y el 20.11% reportó tener una buena atención odontológica, acudiendo tres veces mínimo por año a un consultorio privado o centro de salud pública. Se encontró una asociación significativa entre la atención dentaria con el índice de CPO-D (Fig. 16), con una R de 0.757. Esto nos indica la correlación entre la

frecuencia de atención odontológica alta a presentar un menor índice de CPO-D.

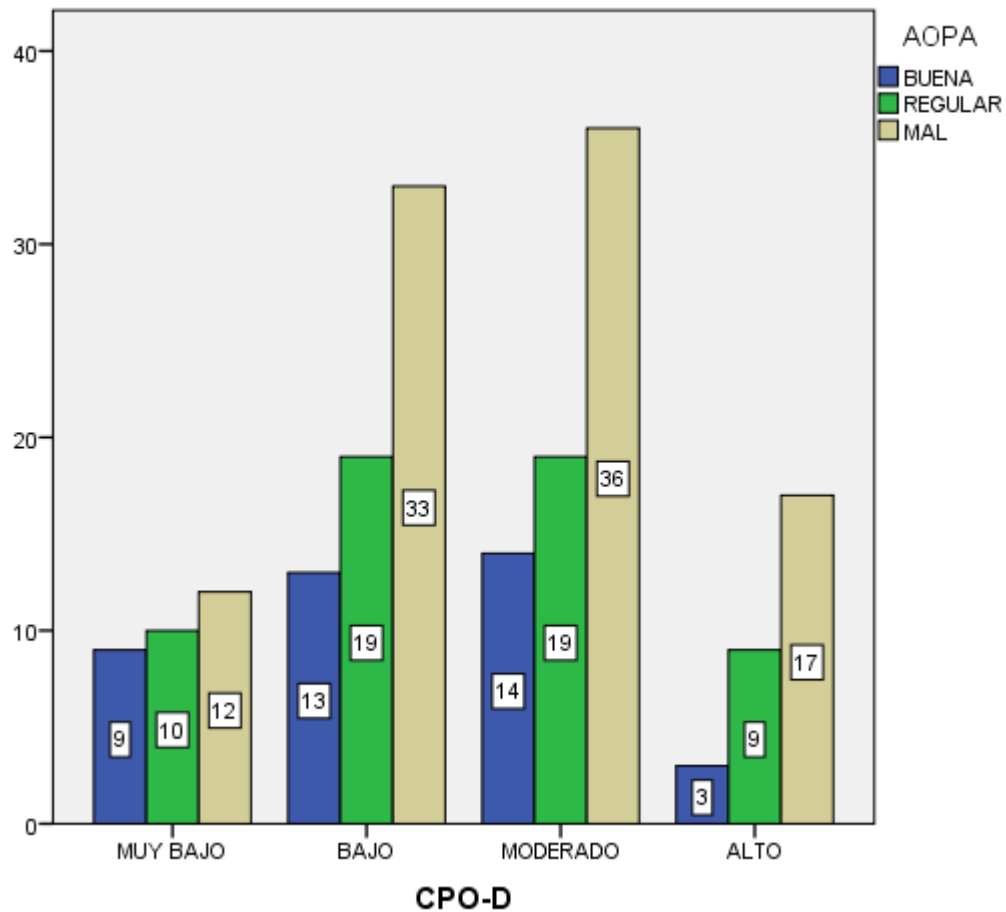


Figura 16. Correlación entre la atención odontológica por año y el índice CPO-D.

Dentro de los datos recolectados de las historias clínicas se analizó el consumo de colaciones, obteniendo que el 76.80% consumía porciones pequeñas de alimentos entre comidas. Se encontró una asociación positiva entre el consumo de alimentos y el índice de CPO-D más elevado en estos pacientes obteniendo una R de 0.078 (Fig. 17), en contraste con quienes reportaron no tener este hábito (23.2%). La mayoría de los encuestados refirió

el consumo de alimentos ricos en azúcares, como alimentos de mayor elección entre comidas.

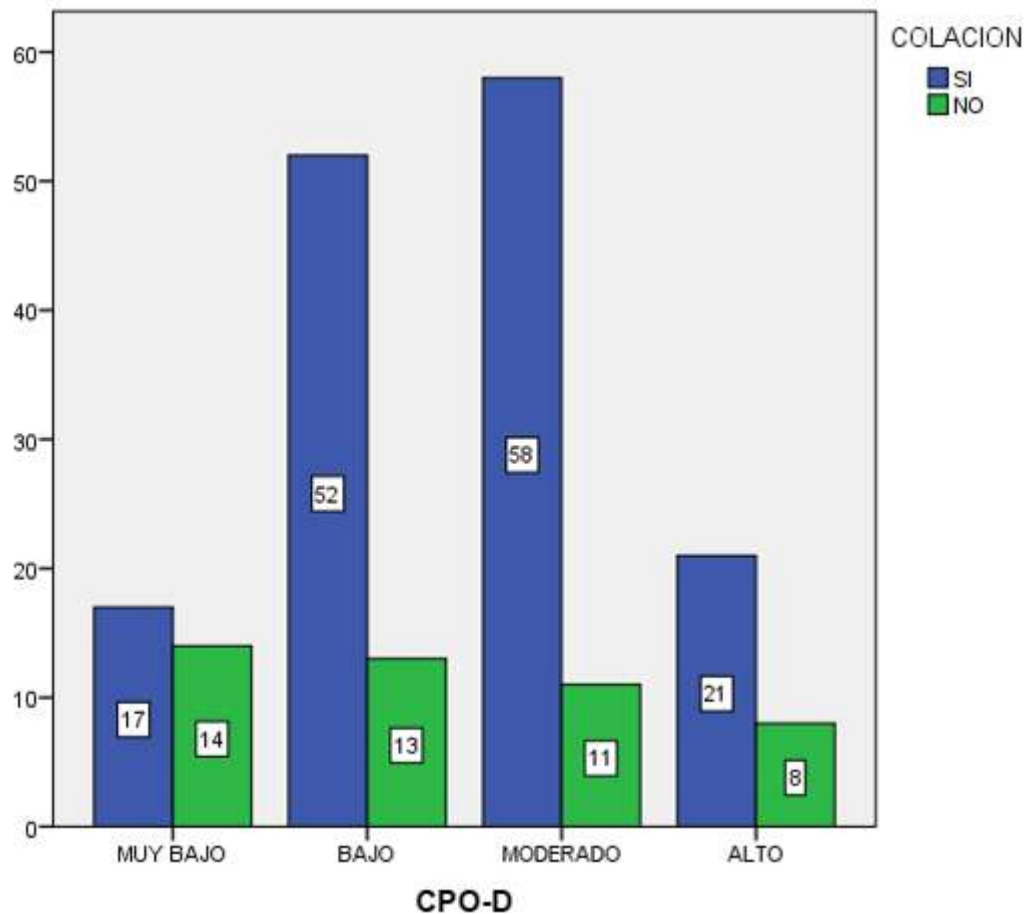


Figura 17. Correlación entre el consumo de alimentos entre comidas y el índice de CPO-D. Significancia de 0.342.

Se analizaron las adicciones en los sujetos de estudio (Fig. 23) y se relacionó el índice CPO-D con las adicciones, tomando en cuenta el consumo de tabaco y alcohol como drogas de consumo en los sujetos analizados. Se encontró que los pacientes fumadores y que consumen alcohol (21.13%) presentan un índice mayor de CPO-D en relación con los pacientes que solo consumen alcohol (21.64%) o los pacientes fumadores (34.53%). Los sujetos de estudio que reportaron no tener adicciones presentaron un índice de CPO-D Moderado (Fig. 18).

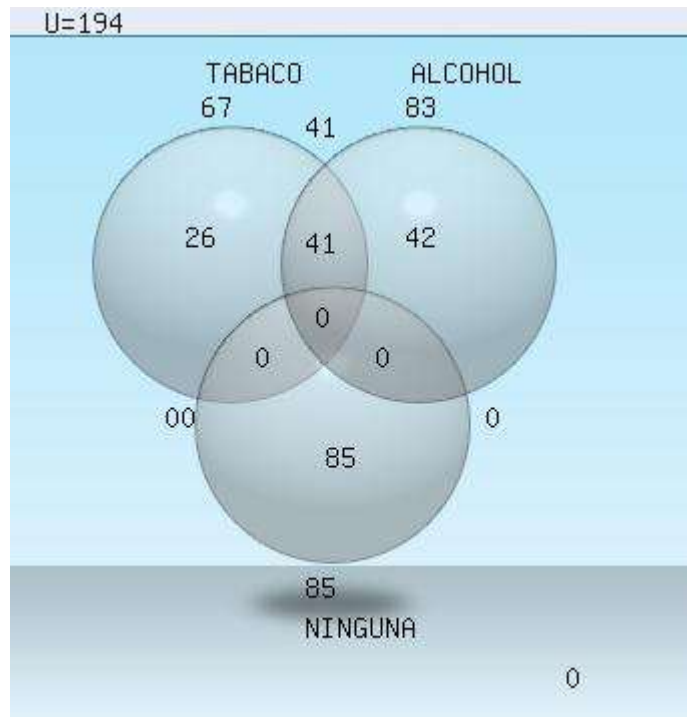


Figura 18. Diagrama de Venn del consumo de alcohol y tabaco en la población analizada.

Se encontró que existe una correlación positiva ($R=0.27$) entre las adicciones y el índice CPO-D (Fig. 19). Además, el análisis de la intersección entre el consumo del alcohol y tabaco simultáneamente mostró una relación positiva entre un CPO-D mayor en pacientes que refirieron tener ambos hábitos de consumo en comparación con quienes no refieren tener ninguno.

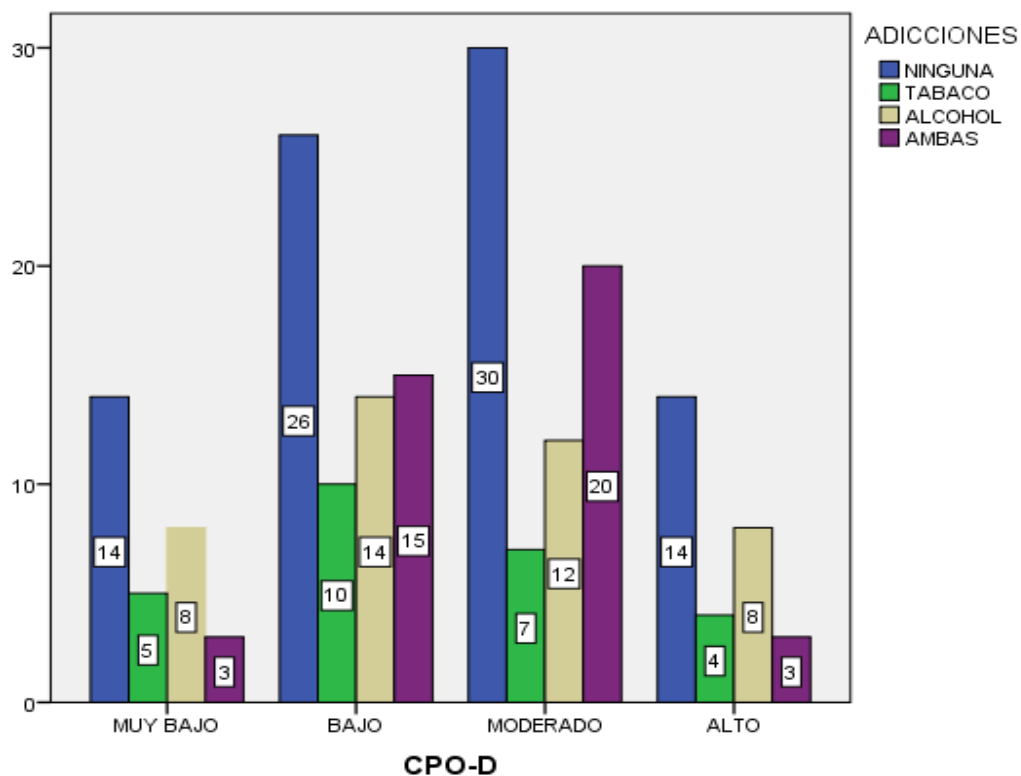


Figura 19. Asociación entre en consumo de alcohol y tabaco con el índice de CPO-D en la población analizada. Significancia de 0.941.

Por ser una de las variables más importantes para este estudio, se evaluó el estado del esmalte dental en la población analizada, encontrándose que el 71.13% presentan un esmalte normal, el 27.31% presentó opacidades, y el 1.6% presentó hipoplasias en el esmalte (Figura 20).

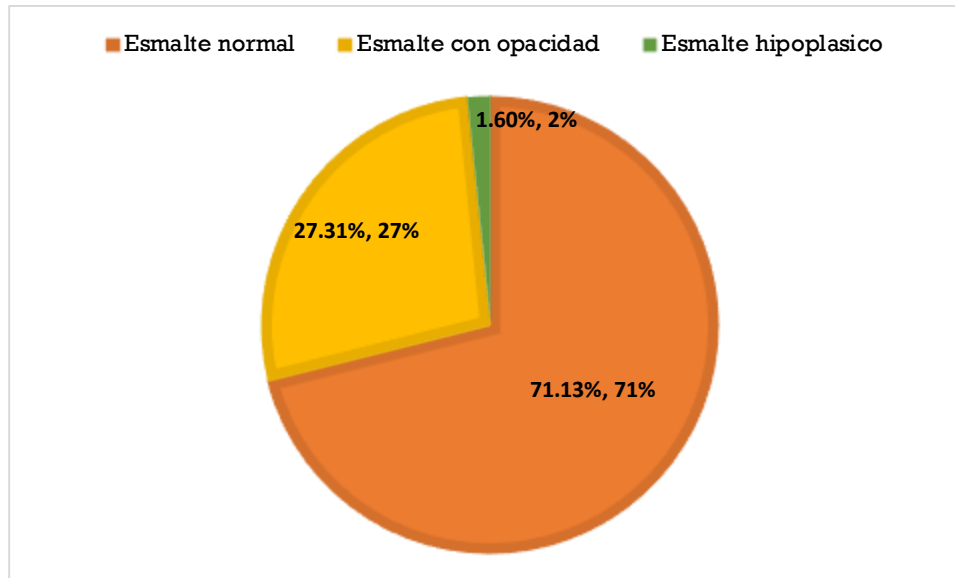


Figura 20. Análisis del estado del esmalte dental.

7.5 Pruebas de normalidad de datos

La normalidad de los datos fue determinada en cada una de las pruebas de regresión lineal, obteniendo que todos los datos presentan una distribución normal.

7.6 Análisis genético molecular

Para determinar el genotipo presente en cada uno de los diferentes SNPs se analizaron los electroferogramas de cada una de las muestras, con base en el patrón de picos y de los alineamientos arrojados por el algoritmo Blat. Se descartaron 17 secuencias por presentar una baja calidad en la secuenciación o diferente posición (ANEXO D). Como resultado del análisis se encontró que el 50.56% de los sujetos de estudio presentan homocigosis y el 49.43% presentan un genotipo heterocigoto. Para este análisis se elaboró un alineamiento en Blat Anexo D.

Para corroborar la información obtenida en el alineamiento, se analizaron los picos en el electroferograma para cada una de las mutaciones encontradas en el alineamiento inicial (Fig. 21).

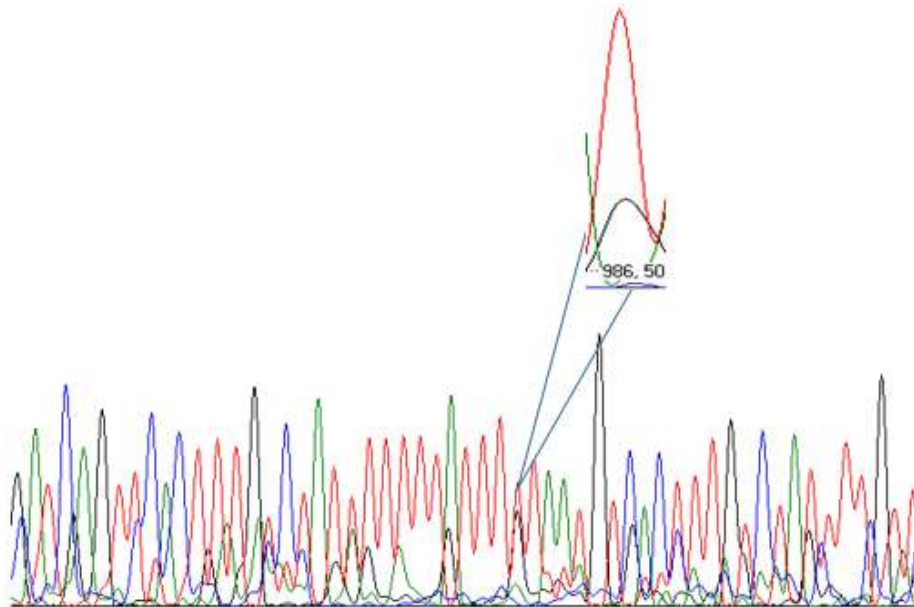


Figura 21. Ejemplo del análisis de los picos del electroferograma para determinar el genotipo de la muestra.

Se encontraron 57 polimorfismos (Anexo E) de los cuales los polimorfismos rs549158960, rs898905781, rs35870385 y rs959600370, fueron los polimorfismos más frecuentes en la población de estudio (Fig. 22).

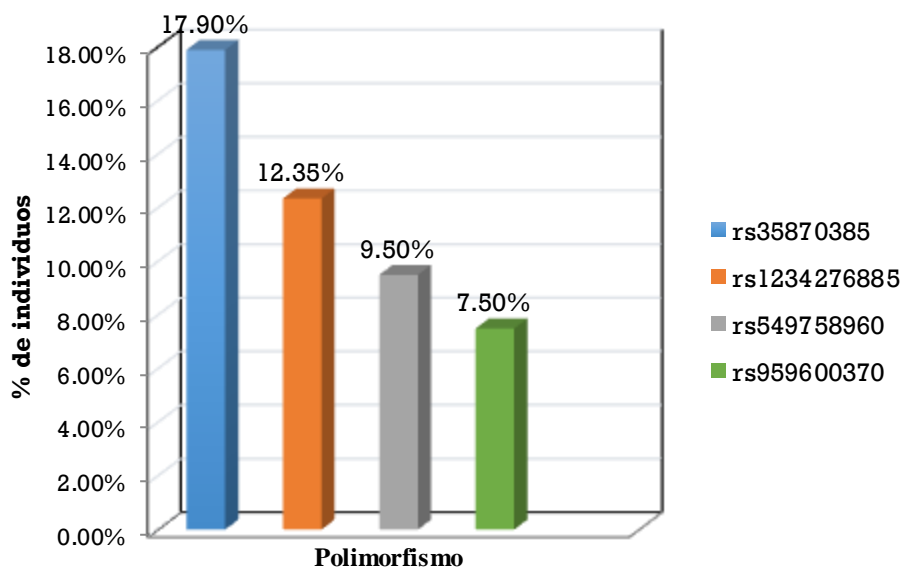


Figura 22. Polimorfismos más comunes en la población y su frecuencia.

La relación entre el índice de CPO-D se realizó usando el análisis de Regresión lineal simple, obteniendo un valor de R de 0.433 para los polimorfismos presentes en la población. Los pacientes que presentaron un índice de CPO-D moderado y alto, presentaban mayor cantidad de polimorfismos. Por lo que se encontró una relación positiva entre la presencia de polimorfismos y el índice de CPO-D (Fig. 23).

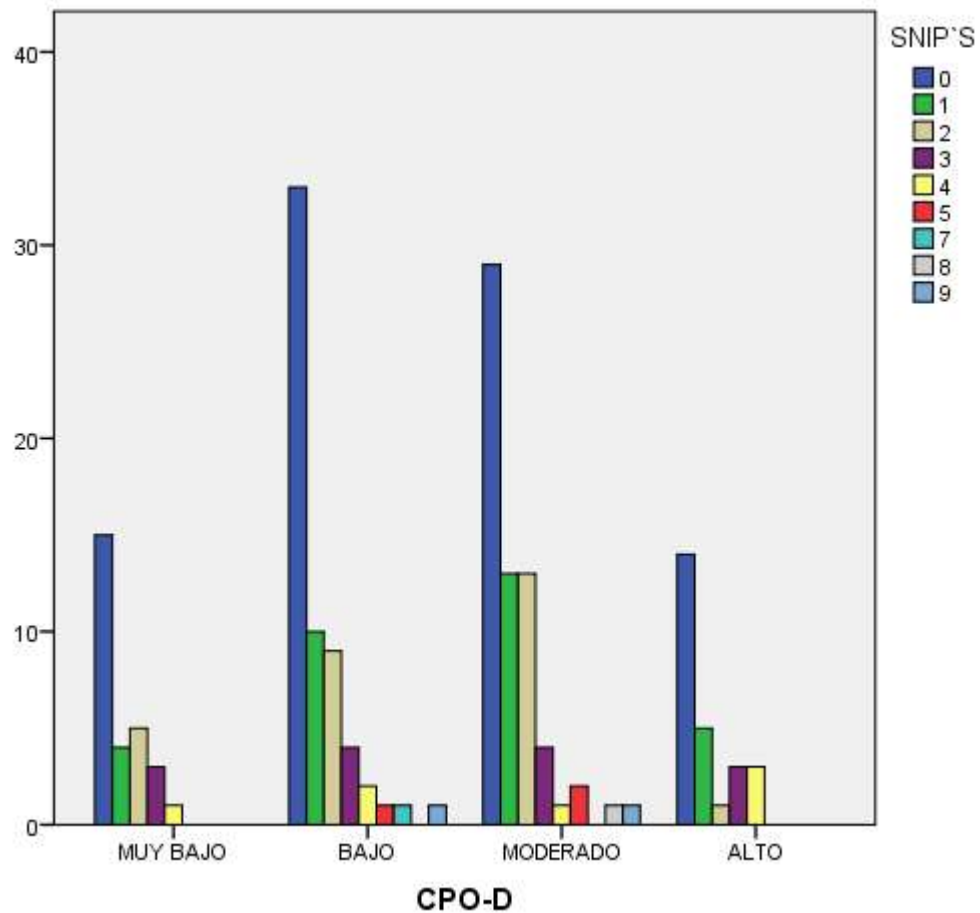


Figura 23. Correlación entre el índice de CPO-D y la presencia de SNP's en la población analizada. Significancia de 0.619

En la Tabla VII se resumen los resultados de correlación obtenidos entre las diferentes variables analizadas y el índice CPO-D.

Tabla VII. Resumen de los resultados de la correlación entre las variables consideradas en este estudio y el índice de CPO-D.

Modelo		Coeficientes				Sig.
		Coeficientes no estandarizados		estandarizados		
		B	Error estándar	Beta	t	
1	(Constante)	2.562	0.436		5.879	0.000
	ADICCIONES	0.004	0.058	0.006	0.074	0.941
	AOPA	0.136	0.093	0.114	1.454	0.148
	COLACIÓN	-0.156	0.164	-0.073	-0.952	0.342
	CEPILLADO	-0.122	0.120	-0.077	-1.016	0.311
	U. AUXILIAR	0.003	0.065	0.003	0.040	0.968
	SNP's en AMBN	0.021	0.042	0.038	0.498	0.619

a. Variable dependiente: CPO-D

VIII. DISCUSIÓN

La caries es considerada como una de las principales enfermedades infecciosas a nivel mundial (OMS 2017), por lo cual representa un grave problema de salud pública, no solo en México si no a nivel mundial. Dicho padecimiento causa un gran costo a los servicios de salud pública y a la economía de los individuos que acuden a la consulta privada (OMS, 2012). No obstante, en México no existen estudios sobre la presencia de polimorfismos asociados al desarrollo de caries y su posible relación con el índice CPO-D, un indicador mundial de salud dental de una población. Por lo anterior, en este trabajo se analizó la información recabada de la base de datos de 124 estudiantes incritos en la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo (De la Vega, 2015) y de 71 pacientes que acuden a la clínica de Odontología de la Universidad Latina de América. A cada uno de los individuos se les evaluó el estado de salud dental y se les realizó una toma de muestra de sangre, para establecer la relación entre el índice de CPO-D y los polimorfismos asociados a la aparición de caries.

Dentro de las enfermedades de la cavidad oral, la caries representa la enfermedad de mayor prevalencia. A nivel mundial, entre el 60% y el 90 % de pacientes infantiles presentan caries acompañada de dolor, lo que repercute directamente en su calidad de vida (OMS 2017). En México, según las cifras del SIVEPAD, de acuerdo a la encuesta nacional de caries, el número de pacientes afectados por caries es alto, por lo que para alcanzar las metas de salud establecidas por la OMS es necesario cambiar la perspectiva en cuestión de prevención. Con tal fin, es necesario realizar un estudio que permita establecer las causas sociales e individuales asociadas al desarrollo de caries en diferentes grupos poblacionales. Los resultados de dicho estudio permitirán establecer medidas preventivas que ayuden de una manera eficaz a la población local y regional (Martínez Gino, 2012), lo cual puede sentar las bases para estudios posteriores a una mayor escala geográfica y temporal.

El índice CPO-D, según cifras tomadas del SIVEPAD (2016), ha aumentado desde el año 2010 en la población del estado de Michoacán. Esta tendencia coincide con el presente trabajo, y contrastan con los resultados obtenidos por De la Vega (2015) para población de la ciudad de Morelia. Los datos en nuestro estudio refieren un aumento en el índice de CPO-D, probablemente por el aumento en el tamaño de la muestra, además de que en nuestro estudio la mayoría de los pacientes caen en el grupo etario de 30 a 34 años a diferencia del estudio De la Vega en donde la mayoría entran en el grupo de 20 a 24 años. Los datos recabados de la muestra siguieron una distribución normal en el índice de CPO-D, y se comparó la relación que existe entre el índice presente en la población con las variables en sus hábitos, estado del esmalte y la presencia de SNP's en el gen AMBN codificante para ameloblastinas.

Los datos epidemiológicos se analizaron con estadística descriptiva y utilizando Regresión Lineal para establecer la relación entre la asociación y la distribución de los datos, por ser ésta una prueba no paramétrica. Las ventajas de dicha aproximación son que esta prueba se puede aplicar a cualquier distribución, para lograr una mejor calidad de aproximación a través de la distribución asintótica; además, esta prueba analiza al sujeto de estudio en un parámetro de uno a uno y no en conjunto (Landa 2011).

Es importante conocer el perfil epidemiológico de una población, ya que la información obtenida acerca de los problemas o alteraciones que se presenten de esta, permite el planteamiento de proyectos que estén enfocados a atender estos problemas. El desarrollo de caries en una población es un proceso multifactorial cuyas causas principales se van modificando a lo largo de la vida de un individuo (Patrick *et al.*, 2006; Casamassimo *et al.*, 2009). Es por eso que un estudio como el aquí conducido, con población adulta joven, puede establecer la diferencias en los determinantes de caries con población infantil, que es la más comúnmente estudiada. Por otro lado, aunque pueden existir causas comunes para el desarrollo de caries en poblaciones geográfica,

social y culturalmente diferentes (Naghbi Sistani *et al.*, 2013), diversos trabajos documentan diferencias significativas en los factores asociados al desarrollo de caries entre individuos de distintas poblaciones de estudio (Huang *et al.*, 2015; Rohnbogner y Lewis, 2016). Por lo anterior, no se pueden extrapolar las causas asociadas a caries de una población a otra; de ahí la relevancia nacional del presente trabajo.

La muestra poblacional de este estudio fue de 194 sujetos con edades comprendidas entre los 18 a 44 años, con una media de edad de 23 años, siendo la mayoría de los participantes del género femenino. Está documentado que, en México, el género femenino presenta un mayor índice de presencia de caries (Guerra *et al.*, 2010; SIVESPAD, 2016), en comparación con los pacientes del género masculino. Lo anterior concuerda con nuestros datos, sin embargo, la mayor parte de nuestros participantes son mujeres, por lo cual representan la mayoría de N muestral y dando por consiguiente en un índice mayor de caries. No obstante, al realizar las pruebas estadísticas, analizando la correlación entre cada sujeto y su índice de CPO-D, se encontró que los sujetos de estudio de género femenino, presentaban un índice más alto. Esto concuerda con estudios previos, en donde se mencionan cambios hormonales, hábitos como los principales factores para el aumento del índice de CPO-D (Guerra *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2011).

La población se dividió en grupos etarios para facilitar el análisis, con base en los criterios establecidos por la OMS. El grupo de 30 a 34 años fue el que presentó el mayor índice de CPO-D en nuestro estudio, lo cual contradice lo reportado por el SIVEPAD (2016), que menciona a la población de 19 años como aquella que presenta el índice CPO-D más alto a nivel nacional. Además, la misma fuente ubica al grupo de 20 a 24 años, como la población en la que se presenta mayor incidencia de caries (SIVEPAD 2016). La incidencia de caries en nuestra población fue de 69.07 %, donde se muestra un aumento del índice de caries en la población con respecto a un estudio anterior realizado en el laboratorio de biología molecular de la UMSNH, en donde se obtuvo un índice

menor de caries en la población con respecto a lo obtenido en nuestro estudio (De la Vega, 2015). Lo cual coincide con estudios comparativos, acerca del aumento en la incidencia de caries en varias entidades del país, en los cuales se ha visto un aumento en el número de dientes cariados, reportando que Michoacán ha aumentado su promedio en el 2014 en comparación con el año 2010 (Navarrete 2016). El índice reportado en nuestra población es un índice moderado, coincidiendo con lo reportado en el estudio anterior (De la Vega, 2015) así como con el reporte del SIVEPAD 2016, el cual reporta un índice moderado para el estado de Michoacán.

Por otra parte, se analizó el estado del esmalte dental, en cual se reportó como normal en la mayoría de los pacientes, con lo cual podemos citar que la mayor parte de la muestra poblacional analizada tenía el esmalte en condiciones óptimas, pues no presentaba anormalidades que pudiesen condicionar a las piezas a presentar un índice de caries mayor. En estudios anteriores se ha reportado que la presencia de deformidades en el esmalte como son, las hipoplasias u opacidades (Alay *et al.*, 2007) aumentan la presencia de caries en un individuo (Acosta de Camargo, 2010). En nuestro estudio no se encontró una asociación con caries, por la cantidad de pacientes que presentaron esmalte normal, además las anormalidades mayormente encontradas como lo fue la fluorosis no condicionan a padecer caries.

En el caso del uso de auxiliares dentales, en el presente trabajo se encontró que el uso de cepillo dental y pasta fueron los de mayor elección. Esto concuerda con lo reportado en otros países como Brasil, Canadá y USA, que es diferente de lo documentado en países como Tailandia y Nueva Zelanda, en donde el uso del cepillo dental es menor al 30% (Hernández *et al.*, 2014). En nuestro estudio se encontró una relación significativa entre los pacientes que reportaron utilizar auxiliares dentales en contraste con los que reportaron no utilizar ninguno. Para el caso específico de México, la variabilidad en la frecuencia de uso de auxiliares dentales puede ir desde 56.3% en el caso de Sinaloa, hasta 82% en el caso de Campeche (Hernández *et al.*, 2014). Este

estudio muestra que la mayoría de los pacientes reportaron utilizar por lo menos un auxiliar dental. Algunas de las inconsistencias en el uso de auxiliares dentales pueden deberse a la edad de los sujetos de estudio y a las condiciones socioeconómicas de cada región, como ha sido reportado para otros países y en estudios de meta-análisis con datos globales (Patrick *et al.*, 2006; Lee y Divaris, 2014; Schwendicke *et al.*, 2015).

Así mismo, el presente trabajo mostró que, a mayor frecuencia de cepillado, menor índice de CPO-D. Estos datos contrastan con lo reportado por Frechero *et al.* (2015), en donde reportan que la frecuencia no tiene gran relevancia, sino la forma en la que se realice la técnica de cepillado, es decir, mientras no se tenga una buena técnica de higiene no importará las veces que se realice. Esta diferencia en los resultados puede deberse a otras variables, como son el uso de auxiliares, ya que muchos de ellos contienen bactericidas, y regulan el pH, lo que puede contribuir a que, aunque se presente una técnica deficiente, la frecuencia y el uso de auxiliares pueden controlar la incidencia de caries. Así, algunos adyuvantes a base de flúor o sin dicho elemento son recomendados para inhibir la incidencia de caries y limitar las lesiones de las caries ya establecidas, como el barniz de clorhexidina-timol (Cervitec), la goma de mascar sin sacarosa (con combinaciones de xilitol o poliol) o pastillas de xilitol, (Rethman *et al.*, 2011; Weyant *et al.*, 2013). El estudio que no concuerda con el presente trabajo, realizado en el año 2015 a niños en zonas marginadas en el Estado de México, nos indica que no existe una correlación positiva (Frechero *et al.*, 2015), lo que por la edad de los sujetos de estudio, podemos inferir que muchos no son capaces de realizar la técnica de forma correcta, a diferencia de nuestros sujetos de estudio que son adultos.

Otra variable considerada en nuestro estudio fue el consumo de colaciones, encontrándose que los alimentos de mayor elección son aquellos ricos en carbohidratos y que los sujetos de estudio presentan una correlación positiva entre el consumo de colaciones y un mayor índice de CPO-D (Gonzales *et al.*, 2014). En nuestro estudio se encontró la misma correlación positiva, pero

cabe resaltar que el índice de CPO-D en nuestra población es un índice moderado. Se encontró que los pacientes que consumen colaciones presentan un índice más alto que los que no tiene este hábito, pero siguen manteniéndose dentro del límite de índice moderado.

Como tema central de nuestro estudio, se llevó a cabo el análisis genético a las muestras obtenidas de los sujetos de estudio, para el gen AMBN, el cual ya se ha reportado que el SNP's rs 4694075 presenta una asociación positiva entre él y la presencia de caries (Ergöz et al., 2014). En nuestro estudio encontramos que 4 SNP's son los más prevalentes en nuestros sujetos de estudio, localizándose en regiones intrónicas. (Kim et al., 2006) No se encontraron estudios realizados con dichos SNP's, en donde se relacione la presencia de dichos SNP's con el índice de CPO-D en pacientes adultos, pero en nuestro estudio se encontró que los pacientes que presentaban mayor número de SNP's, entraban en el grupo de pacientes con CPO-D más altos, en contraste con pacientes que presentaban menor número de SNP's. Esto coincide con lo reportado por (Gerreth et al., 2017) en donde se mostró que SNP's presentes en el gen AMBN pueden ser variantes genéticas que contribuyan a la presencia de defectos en el desarrollo del esmalte en dentición primaria.

Aun así, la mayoría de los pacientes de nuestro grupo de estudio, caen en el grupo de índice moderado de acuerdo al tabulador de la OMS, lo cual coincide con lo reportado por el SIVEPAD 2016, en donde nos reporta que en estado de Michoacán reporta un índice moderado.

La presencia de nuestros SNP's nos mostró un aumento en el CPO-D a mayor presencia de SNP's, por lo que condicionó a nuestra población a aumentar el índice de CPO-D, pero aunado a las diferentes variables que se han descrito en este trabajo, lograron mantener a nuestra población dentro de un índice de CPO-D moderado.

Por lo que concluimos de acuerdo a lo reportado y a lo que nosotros analizamos en los resultados obtenidos en esta investigación, la presencia de SNP's en el gen AMBN, el cual participa directamente en el desarrollo del esmalte dental, tiene una relación directa con el aumento o descenso del índice de CPO-D que se presentó en nuestra población, ya que al analizar los datos se encontró que los pacientes que presentaban un mayor número de SNP's presentaban un índice más alto, pero dentro de un margen moderado, por lo que la hipótesis formulada se acepta. Sin embargo, observamos también que este índice se modifica de acuerdo a los hábitos de cada paciente, lo que concuerda con lo mencionado en la literatura, en donde un paciente puede estar genéticamente condicionado a ser más susceptible a padecer caries, pero puede modificar la susceptibilidad genética con hábitos adecuados de higiene oral, menor consumo de alimentos ricos en carbohidratos, atención odontológica y métodos de prevención. Ya que al ser la caries una enfermedad multifactorial, (Mathur et al., 2018) no depende solamente de una variable, si no de la integración de varias de las variables negativas para presentar la enfermedad, así como al evitarlas se puede tener una mejora en la salud oral del paciente en cuanto a caries nos referimos, Por lo que, la presencia de SNP's puede condicionar a un paciente a padecer caries, pero serán sus hábitos higiénicos, adicciones y atención odontológica lo que conjuntamente contribuirá al índice de cada paciente y de una población.

IX REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- **Barrancos M.** (1999). Cariología. P. 239-279. En: *Operatoria Dental*. (Tercera edición. Editorial Médica Panamericana). Buenos Aires, Argentina. ISBN 950-06-0233-4.
- **Bartlett JD, Simmer JP** (1999) Proteinases in developing dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 10:425–441
- **Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, Mira A.** (2012). The oral metagenome in health and disease. *The ISME Journal*. 6:46-56.
- **Casamassimo, P. S., Thikkurissy, S., Edelstein, B. L., Maiorini, E.** (2009). Beyond the dmft: the human and economic cost of early childhood caries. *The Journal of the American Dental Association*. 140(6): 650-657.
- **Cuellar Rivas E, Pustovrh Ramos M C.** (2015). El papel de la enamelinina (MMP-20) en el desarrollo dentario. revisión sistemática. 2015, de revista Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia
- **Ergöz, N., Seymen, F., Gencay, K., Tamay, Z., Deeley, K., Vinski, S., & Vieira, A. R.** (2014). Genetic variation in Ameloblastin is associated with caries in asthmatic children. *European archives of paediatric dentistry: official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*, 15(3), 211–216. doi:10.1007/s40368-013-0096-6
- **Frechero Molina N, Duràn Merino D, Castañeda Castaneira E, Juárez López M L,** La caries y su relación con la higiene oral en preescolares mexicanos. *Gac Med Mex*. 2015;151:485-90
- **Gati D, Vieira AR.** (2011). Elderly at Greater Risk for Root Caries: A Look at the Multifactorial Risks with Emphasis on Genetics Susceptibility. *International Journal of Dentistry*. 647168:6
- **Gerreth, K., Zaorska, K., Zabel, M., Nowicki, M., & Borysewicz-Lewicka, M.** (2018). Significance of genetic variations in developmental enamel defects of primary dentition in Polish children. *Clinical oral investigations*, 22(1), 321–329. doi:10.1007/s00784-017-2115-1
- **Hobdell M, Petersen PE, Clarkson J.** (2003). Goals for Oral Health 2020. *International Dentistry Journal*. 53: 285-288.

- **Huang**, D. L., Park, M. (2015). Socioeconomic and racial/ethnic oral health disparities among US older adults: oral health quality of life and dentition. *Journal of Public Health Dentistry*. 75(2): 85-92.
- **Infante Contreras**, Clementina (2009) Fundamentos para la evaluación del crecimiento, desarrollo y función craneofacial. *Universidad Nacional de Colombia*, Bogotá. ISBN 9789584442864.
- **Jastaniyah** N., Al-Majed I., Alqahtani A., (2019). The relationship between overweight/obesity and dental erosion among a group of Saudi children and adolescents: *Indian J Dent Res*. 019 Mar-Apr;30(2):200-206. doi: 10.4103/ijdr.IJDR_774_17.
- **Kinney** JH, Salooch M, Marshall SJ, Marshall GW, Weih TM. Atomic Force Microscope measurements of the hardness and elasticity of peritubular and intertubular human dentin. *J Biomechanical Engineering*, 1996; 118: 133-5.
- **Kumar**, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7): 1870-1874.
- **Lee**, J. Y., Divaris, K. (2014). The ethical imperative of addressing oral health disparities: a unifying framework. *Journal of Dental Research*. 93(3): 224-230.
- **López Torres**, G. (2009). *Detección Genético Molecular y Diversidad Genética de Streptococcus mutans de la cavidad oral en niños con caries*. Tesis (Maestría en Ciencias de la Salud). Morelia, Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas, División de Estudios de Posgrado.
- **Luque** J, Herráez A. (2002). Diversidad del genoma: polimorfismos. En: Elsevier Science. *Biología Molecular e Ingeniería Genética*. Madrid:Ed. Harcourt; p.365-379.
- **Mathur** VP., Dhillon JK., (2018) Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr*. 2018 Mar;85(3):202-206. doi: 10.1007/s12098-017-2381-6. Epub 2017 Jun 23.
- **Monterde** C.M.E., Delgado R.J., Guzmán F.C., Espejel M.M. (2002). Desmineralización-Remineralización del Esmalte Dental. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 6: 220-222
- **Naghbi** Sistani, M. M., Yazdani, R., Virtanen, J., Pakdaman, A., Murtomaa, H. (2013). Determinants of oral health: does oral health literacy matter? *ISRN Dentistry*. 2013: ID 249591. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/249591>.

- **Patrick**, D. L., Lee, R. S. Y., Nucci, M., Grembowski, D., Jolles, C. Z., Milgrom, P. (2006). Reducing oral health disparities: a focus on social and cultural determinants. *BMC Oral Health*. 6: Suppl 1. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-6-S1-S4>.
- **Rethman**, M. P., Beltrán-Aguilar, E. D., Billings, R. J., Burne, R. A., Clark, M., Donly, K. J., et al. (2011). Nonfluoride caries-preventive agents: executive summary of evidence-based clinical recommendations. *The Journal of the American Dental Association*. 142(9): 1065-1071.
- **Rivas J**, Salas MA, Treviño M. (2005). Diagnóstico situacional de las afecciones bucodentales en la población de la Ciudad de Zacatecas, México. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 52(6):218-221.
- **Rivera G**, Martínez J, Hernández E. (2006). Caries dental e higiene bucal en adolescentes. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 52(6):231-234.
- **Rohnbogner**, A., Lewis, M. (2016). Dental caries as a measure of diet, health, and difference in non-adults from urban and rural Roman Britain. *Dental Anthropology*. 29(1): 16-31.
- **Santos M**, Hart S, Ramaswami M, Kanno C, Hart T, Line S. (2007). Exclusion of know gene for enamel development in two Brazilian families with amelogenesis imperfecta. *Head & Face Medicine*. 3:8.
- **Schwendicke**, F., Dörfer, C. E., Schlattmann, P., Page, L. F., Thomson, W. M., Paris, S. (2015). Socioeconomic inequality and caries: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dental Research*. 94(1): 10-18.
- **Shaffer**, J. R., Carlson, J. C., Stanley, B. O., Feingold, E., Cooper, M., Vanyukov, M. M., ... Marazita, M. L. (2015). Effects of enamel matrix genes on dental caries are moderated by fluoride exposures. *Human genetics*, 134(2), 159–167. doi:10.1007/s00439-014-1504-7
- **Shimizu T**, Ho B, Deeley K, Briseño-Ruiz J, Faraco Jr., IM, Schupack BI, Brancher JA, Pecharki GD, Kuchler EC, Tannure PN, Lips A, Vieira T, Patir A, Yildirim M, oletta FA, Mereb JC, Resick JM, Brandon CA, Orioli IM, Castilla EE, Marazita ML, Seymen F, Costa MC, Granjeiro JM, Trevilatto PC, Vieira AR. Enamel Formation Genes Influence Enamel Microhardness Before and After Cariogenic Challenge. *PLoS ONE* 7(9): e45022. doi:10.1371/journal.pone.0045022
- **Soames JV**, Southam JC. (2005). Dental Caries. En: Oxford Medical Publications. *Oral Pathology*. 4^o ed. Oxford University Press. p.19-32.

- **Tannure** PN, Kuchler EC, Lips A, Costa M de C, Luiz RR, Granjeiro JM, Vieira AR. (2012). Genetic Variation in MMP20 Contributes to Higher Caries Experience. *Journal of Dentistry* .40 (5):381-386.
- **Thompson** JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F and, Higgins DG. (1997). The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 25: 4876-4882.
- **Urzúa** B, Ortega A, Rodríguez L, Morales I. (2005). Genetic, clinical and molecular analysis of a family affected by amelogenesis imperfecta. *Revista Médica de Chile*. 133:1331-1340.
- **Vieira**, AR. (2012). Genetics and Caries - Perspectives. *Brazilian Oral Research*. 26(Suppl 1): 7-9.
- **Wang** Mengchen, Qin Man, Xia Bin. The association of Enamelin, Lactoferrin, and Tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms with high caries susceptibility in Chinese children under 4 years old. *Archives of Oral Biology*
- **Wang** X, Shaffer JR, Zeng Z, Begum F, Vieira AR, Noel J, Anjomshoa, I, Cuenco KT, Lee MK, Beck J, Boerwinkle E, Cornelis MC, Hu FB, Crosslin DR, Laurie CC, Nelson SC, Doheny KF, Pugh EW, Polk DE, Weyant RJ, Crout R, McNeil DW, Weeks D.E; Feingold E, Marazita, ML. (2012). Genome-wide association Scan of dental caries in the permanent dentition. *BMC Oral Health*. 12:57.
- **Wang** X, Willing MC, Marazita ML, Wendell S, Warren JJ, Broffitt B, Smith B, Busch T, Lidral AC, Levy SM. (2012). Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: The Iowa Fluoride Study. 2012, de US National Library of Medicine National Institutes of Health.
- **Weyant**, R. J., Tracy, S. L., Anselmo, T. T., Beltrán-Aguilar, E. D., Donly, K. J., Frese, W. A., et al. (2013). Topical fluoride for caries prevention. *The Journal of the American Dental Association*. 144(11): 1279-1291.

X. ANEXOS

Anexo A. Historia Clínica Universidad Latina de América.



UNIVERSIDAD LATINA DE AMERICA

Licenciatura en odontología

HISTORIA CLINICA

ESTOMATOLOGICA

I. INTERROGATORIO.

Nombre: _____	Edad: _____	
_____ años _____ meses		
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)
Género: Masculino () Femenino () Lugar y fecha de nacimiento: _____		
Ocupación: _____	Escolaridad: _____	Edo. Civil: _____
Domicilio: _____		
Teléfono: _____		Nombre del médico familiar: _____
_____ Especialidad: _____		
Fecha de la última visita: _____		Motivo: _____

II. ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES.

Madre: V () F () _____
Padre: V () F () _____
Hermanos: V () F () _____
Abuelos: V () F () _____
Otros: V () F () _____

III. ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS.

Vestuario: _____ Frecuencia de cepillado dental _____ Alimentación al día _____
Colaciones: Si () No () Gpo. Sanguíneo: _____ Factor Rh: _____ Cartilla de Vacunación: Si () No ()
Esquema completo: Si () No () _____ Vacuna contra hepatitis: Si () No ()
Consumo de alcohol: Si () No () _____ Drogas: Si () No () _____
Alergias: Alimentos () Antibióticos () Analgésicos () Anestésicos () Otro: _____

IV. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.

Enfermedades propias de la infancia: _____
Enfermedades infecciosas no transmisibles: _____
Enfermedades de transmisión sexual: _____
Enfermedades degenerativas: _____
Antecedentes hospitalarios: _____
Antecedentes quirúrgicos: _____
Antecedentes transfuncionales: _____
Enfermedad sistémica: _____
Tratamiento médico: _____

V. PADECIMIENTO ACTUAL.

Motivo de consulta: _____
Fecha de inicio y síntomas: _____
Signos y síntomas referidos: _____

VI- INTERROGATORIO POR APARATOS Y SISTEMAS.

Aparato digestivo.

Disfagia () Náusea () Vómito () Diarrea crónica () Pirosis () Hematemesis () Gastritis () Ictericia ()

Aparato respiratorio.

Obstrucción nasal () Tos () Rinorrea () Expectoración () Disnea () Cianosis () Epistaxis () Hemoptisis ()

Aparato cardiovascular:

Dolor precordial () Fosfenos () Lipotimia () Taquicardia () Bradicardia () Hipotensión () Hipertensión ()

Acufenos () Disnea () Cefalea () Mareos ()

Aparato genitourinario.

Incontinencia urinaria () Dolor lumbar () Disuria () Hematuria () Edema () Nicturia () Poliuria ()

Sistema endocrino.

Polidipsia () Polifagia () Exoftalmos () Nerviosismo () Temblores () Insomnio () Perdida o aumento de peso () intolerancia al frío o al calor ()

Sistema hematopoyético.

Hemorragia () Epistaxis () Hematuria () Hematemesis () Petequias () Adenopatías ()

Sistema Nervioso.

Convulsiones () Cefalea () Lipotimia () Parestesia () Vértigo () Temblor () Espasmos () Migraña ()

Sistema musculo-esquelético.

Deformidad articular () Dolor articular () Limitación de movimiento () Fracturas () Dolor muscular ()

Aparato tegumentario.

Cambios de coloración en la piel () Erupciones () Prurito () Pérdida de cabello o vello () Cutis seco ()

Peso: _____ Talla: _____ Tipo corporal: _____

Frecuencia cardiaca: _____ Presión arterial: _____ Frecuencia respiratoria: _____

VII EXPLORACIÓN DE CABEZA Y CUELLO.

Cabeza: Exostosis () Endostosis () Cráneo: Dolicocefalo () Normocéfalo () Braquicéfalo ()

Inserción: Orejas: _____ Cabello: _____ Pestañas: _____ Cejas: _____

Asimetrías: Transversales () Verticales () Ojos: _____ Perfil: Recto () Cóncavo () Convexo ()

Piel: Normal () Pálida () Cianótica () Enrojecida () Adenomegalias: Si () No ()

Músculos: Hipotónicos () Hipertónicos () Espásticos () Tráquea: _____ Tiroides: _____

ARTICULACIÓN TEMPOROMANDIBULAR Lateralidad () Apertura ()

Ruidos: () Chasquidos () Crepitación () Dificultad en la apertura () Dolor () Fatiga () Desviación a la apertura y cierre ()

Labios. Forma: _____ Integridad: _____ Hidratación: _____ Coloración: _____

Mucosas: _____

Borde lateral de lengua: _____ Frenillos: _____ Inserción: _____

Palada duro: _____ Paladar blando: _____ Glándulas: _____

Saliva coloración: _____ Saliva consistencia: _____

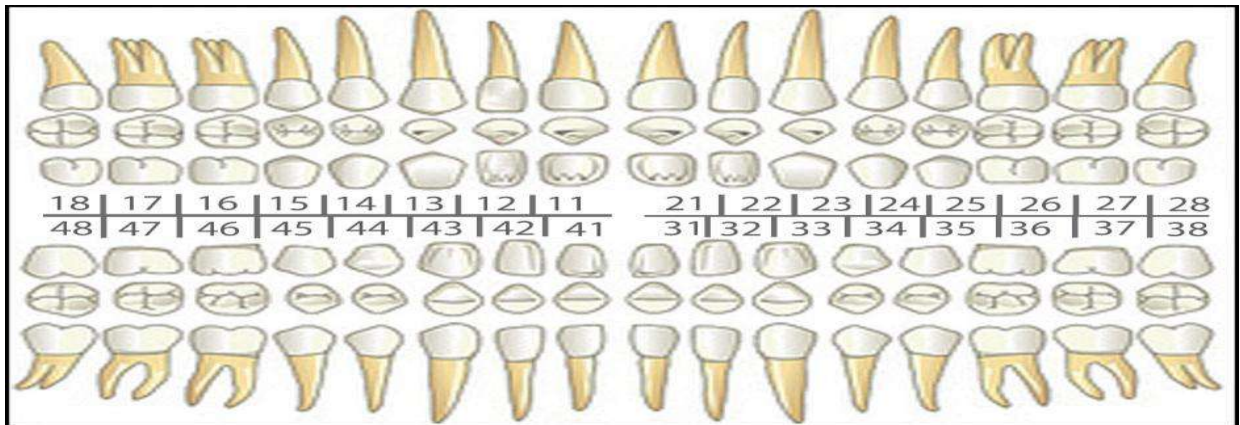
Gingivitis: Si () No () _____

Periodontitis: Si () No () _____

Bolsa periodontal: Si () No () _____

Calculo dental: Si () No () _____

Movilidad dental: Si () No () _____



No. pieza	Clave	No. pieza	Clave
18		28	
17		27	
16		26	
15/55		25/65	
14/54		24/64	
13/53		23/63	
12/52		22/62	
11/51		21/61	
Condición	Clave	Condición	Clave
Sano	S	Soporte de puente, corona o	PPP

48		28	
_____ Nombre y firma del paciente		_____ Nombre y firma del representante legal, familiar, tutor, padre o madre.	
Sobre la veracidad de los datos aportados			
43/83			
42/82		22/72	
41/81			

Nombre y firma del Alumno

		provisional	
Lesión cariosa	C	Diente sin erupcionar	NE
Obturado con lesión cariosa	OB	Traumatizado	T
Obturado sin lesión cariosa	O	Tratamiento de conductos	E
Perdida a causa de lesión cariosa	PC	Instrumento separado en un conducto	EI
Perdida por algún otro motivo	P	Pigmentación	PG
Fisura obturada	FO	Anomalía dental	AD

VIII. PLAN DE TRATAMIENTO.

Odontología preventiva:

Operatoria:

Periodoncia:

Endodoncia:

Prótesis fija y removible

Con esta fecha el personal médico odontológico realizo a

_____, una historia clínica en la cual respondí en forma libre, voluntaria y verídica, se me informó de los posibles riesgos y complicaciones que los tratamientos dentales conllevan y estoy consciente de:

1.- las condiciones físicas en las que se encuentra entendido todo el alcance y consecuencia que llevan consigo los procedimientos dentales propuestos para su atención, así como los riesgos que implica reacciones alérgicas, hemorragias, infecciones, reacciones secundarias al empleo de medicamentos, hasta la pérdida de funciones o de la vida.

De igual forma me doy cuenta de que existen otros riesgos, en particular asociados con los procedimientos propuestos para el (ella) y que estos aumentan en casos de enfermedades sistémicas o en caso de traumatismos.

2.- Estoy consciente que durante el (los) procedimiento (s) que se realizarán, puede haber otros riesgos y complicaciones no discutidos con anterioridad. También entiendo que durante el diagnóstico o procedimiento propuesto pueden presentarse condiciones imprevistas, que a su vez requieran de procedimientos adicionales, por lo que autorizo, en caso necesario, a que se realicen. Admito que no se me han ofrecido promesas, ni garantías acerca de los resultados esperando por el tratamiento a efectuarse.

Entendiendo el alcance y consecuencias que llevan consigo los procedimientos y tratamientos y una vez leída esta forma: AUTORIZO al médico odontólogo que realice los procedimientos necesarios para la atención odontológica de _____

_____.

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma del padre o tutor.

TIENTO INFOR

Fecha.

Título del protocolo: Asociación entre la presencia de caries y polimorfismos en el gen AMBN, de una población de adultos residentes en Morelia, Michoacán

Investigador principal: D. en C. MA. SOLEDAD VÁZQUEZ GARCIDUEÑAS

Sede donde se realizará el estudio: Laboratorio de genética molecular microbiana. División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez".

Fecha: _____

Nombre del paciente:

A usted se le está invitando a participar de forma voluntaria, en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

La caries dental es un grave problema de salud pública, que ocasiona alteraciones no sólo a nivel local como destrucción del diente y dolor, también a nivel general como trastornos digestivos e incluso cardíacos.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO.

La finalidad es identificar los genes que puedan estar participando en el desarrollo de la caries en la población michoacana.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO.

Este estudio permitirá conocer el estado de salud oral de los pacientes y su susceptibilidad a padecer caries, para que con el conocimiento obtenido se puedan elaborar estrategias que ayuden a disminuir esta enfermedad y beneficiar al resto de la población.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO.

- En caso de aceptar participar en el estudio se le aplicará una encuesta donde se le preguntará sobre usted, sus hábitos de higiene y alimentación, nivel socio económico y antecedentes odontológicos y médicos.
- Se hará una inspección de la cavidad oral, para establecer el número de piezas cariadas, perdidas y obturadas, con espejo y sonda de exploración estériles.
- Se le realizará toma de muestra de sangre (3 a 5 ml), con una jeringa estéril, a partir de la vena de uno de los brazos.
- Esto con las correspondientes medidas de prevención de la infección, para garantizar que el acceso a la vena sea con seguridad.
- Una vez extraída la muestra de sangre se colocará un apósito sobre el lugar de punción, para facilitar la coagulación.
- Por otra parte se realizará un raspado de la mucosa de cavidad oral con un hisopo estéril.
- Las muestras se llevarán al laboratorio para el proceso de análisis.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Los riesgos predecibles que pueden surgir después que se realizó la toma de la muestra sanguínea son complicaciones leves y localizadas como dolor, inflamación, enrojecimiento, moretones, o incluso infección. En caso de haber utilizado catéter puede haber irritación, dolor y en casos graves ulceración en el sitio donde se colocó.

- Pueden presentarse efectos secundarios como mareos, desvanecimientos, y en situaciones más graves, el embolismo.
- Pudieran existir riesgos impredecibles que escapen al conocimiento del investigador.
- En caso de que usted presente algún efecto que requiera otro tipo de atención, ésta se brindará en tiempo oportuno.
- Los riesgos consecuentes al raspado de mucosa de cavidad oral son leves o nulos.

6. ACLARACIONES

* Su decisión de participar en el estudio es absolutamente voluntaria.

* No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

* Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada.

* No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

- * No recibirá remuneración económica por su participación.
- * Durante el estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre los avances, al investigador responsable.
- * La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será estrictamente confidencial y resguardada por el grupo de investigadores.
- * En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.
- * Usted también tiene acceso a las Comisiones de Investigación y Bioética de la UMSNH en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante del estudio.
- * Si considera que no tiene dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

(Derechos Reservados, Comisiones de Investigación y Ética, Facultad de Medicina, UNAM, 2007).

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación, o en estudios futuros que puedan realizarse a partir de la toma de mis muestras. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

La siguiente parte debe ser completada por el investigador (o su representante):

He explicado al C. _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación y he contestado a las preguntas en la medida de lo posible. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

c.c.p. El paciente. (Se elaborará por duplicado quedando una copia en poder del paciente); (UNAM, 2007).

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo: **Asociación entre la presencia de caries y polimorfismos en el gen AMBN, de una población de adultos residentes en Morelia, Michoacán**

Investigador principal: **D. en C. MA. SOLEDAD VÁZQUEZ GARCIDUEÑAS**

Sede donde se realizará el estudio: **División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez".**

Fecha: _____

Nombre del paciente:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Este apartado es opcional y puede dejarse en blanco si así lo desea el paciente)

Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.

Firma del participante

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

c.c.p. El paciente.

(Se elaborará por duplicado quedando una copia en poder del paciente)

(UNAM, 2007).

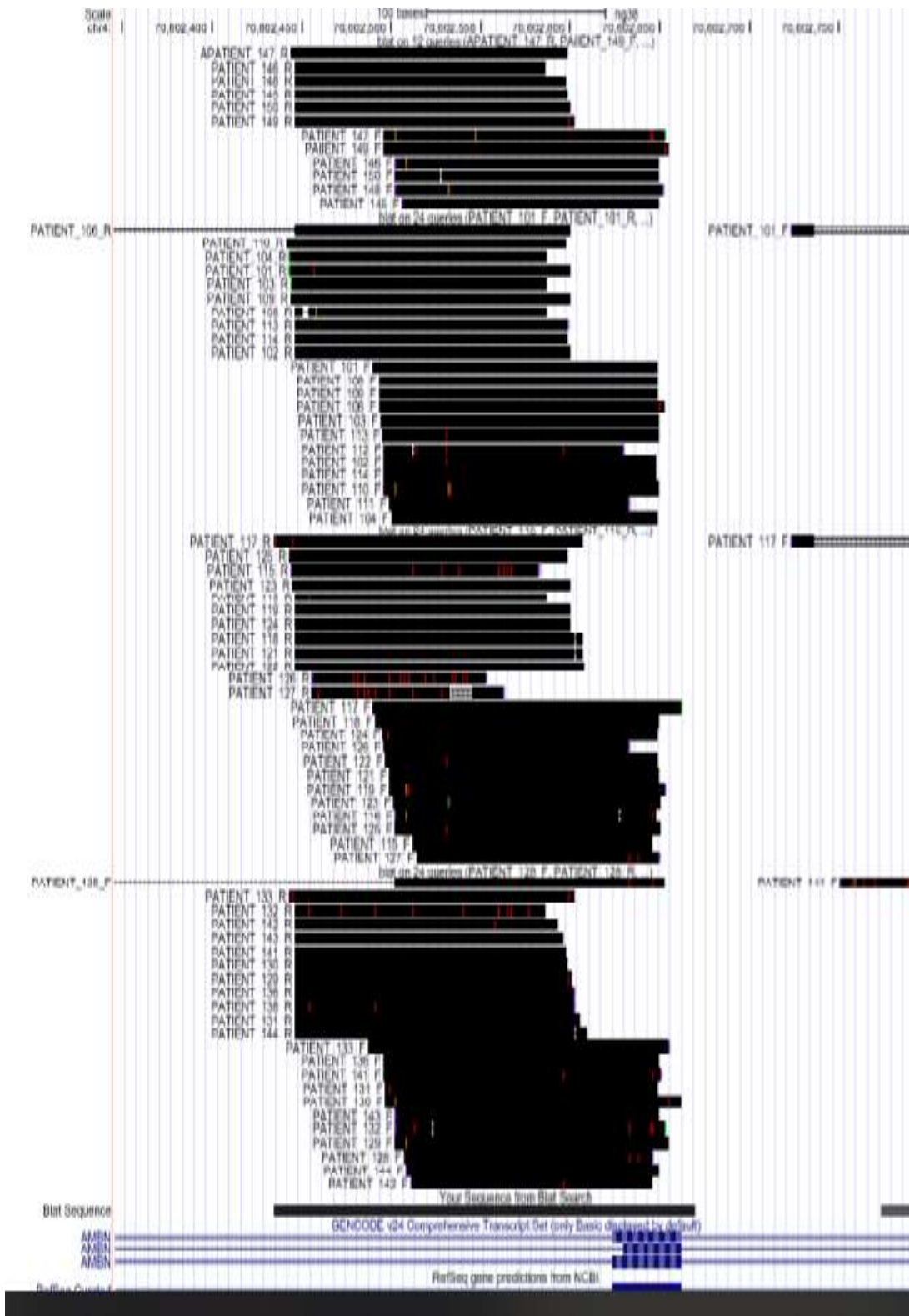
ANEXO C. ALINEAMIENTO EN BLAT



Alineamiento en BLAT paciente 1 al 50.



Alineamiento en BLAT paciente 51 al 100



Alineamiento en BLAT paciente 101 al 150

ANEXO D. RELACIÓN DE POLIMORFISMOS.

Núm. de paciente	Ubicación	Mutación	Tipo
44	F:70602648 - 70602334	G/G- A/T	SOLO HAY FOWARD
46	F:70602446- 70602447 70602639 70602634	T/G - A/T A/C- A/T	SOLO HAY FOWARD
52	F:70602634	A/T	SOLO HAY FOWARD
77	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
15		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	ALIN DIF. POSICION
105		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	ALIN DIF. POSICION
107		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	ALIN DIF. POSICION
2		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
4		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
10		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
40		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
68		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
120		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
134		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
135		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
140		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
165		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
170		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
179		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
190		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	BAJA CALIDAD
7	F:70602652 - 70602496 R:70602599 -70602446	T/G - A/C A/T -T/A	HETEROCIGOTO
8	F:70602597 -70602496	A/C - A/C	HETEROCIGOTO
9	F:70602513 -70602610 - 70602603	DELECIÓN - DELECIÓN - DELECIÓN	HETEROCIGOTO
11	F: 70602591-586-578-547- 527	C/A - A/C - A/G - A/T - A/G	HETEROCIGOTO
12	F:70602597 - 70602496 R:70602602	A/C - A/C A/T	HETEROCIGOTO
19	F:70602492 -497 - 521 R:70602611 - 428	T/A - A/T - C/. .A - A/T	HETEROCIGOTO
20	F:70602532 R:70602599	T/A - A/,	HETEROCIGOTO
21	F:70602662 R:70602601	A/C ---- A/T	HETEROCIGOTO

22	F:70602662 -70602664 R:70602600	C/A - A/T A/T	HETEROCIGOTO
24	R:70602446	A/T	HETEROCIGOTO
25	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
26	F:70602447	A/T	HETEROCIGOTO
29	F:70602497 - 70602505	T/A - A/T	HETEROCIGOTO
35	R:70602438	DELECCION	HETEROCIGOTO
36	F:70602511 - 505	DELECCION - DELECCION	HETEROCIGOTO
37	F:70602403	A/T	HETEROCIGOTO
39	F:70602496 - 70602495	A/C - C/A	HETEROCIGOTO
42	F:70602334	DELECCION	HETEROCIGOTO
47	R:70602446		HETEROCIGOTO
53	R:70602446	T/A	HETEROCIGOTO
55	R:70602446	T/A	HETEROCIGOTO
56	F:70602597-70602543 -547 R:7060259093-7060277 AL 81	A/C - A/G - A/G DELECCION - DELECCION	HETEROCIGOTO
57	R:70602446 - 70602543	T/A - G/A	HETEROCIGOTO
60	R:70602604- 70602605	DELECCION- DELECCION	HETEROCIGOTO
65	F:70602569- 570-547-541- 539-500-492 R:70602543- 70602525	DELECCION- A/G- A/G- A/G- T/G- T/A- T/A A/T- A/C	HETEROCIGOTO
69	F:70602619- 612- 601- 547 R:70602542- 492 -446- 444	A/C- A/G- A/C- A/G A/G- T/A- T/A -T/A	HETEROCIGOTO
71	R:70602446 - 70602436	T/A - G/A	HETEROCIGOTO
73	F:70602497 R:70602446	A/T T/A	HETEROCIGOTO
76	F:70602649 R:70602452	T/G DELECCION	HETEROCIGOTO
79	R:70602600	A/T	HETEROCIGOTO
94	F:70602654 R:70602607	DELECCION DELECCION	HETEROCIGOTO
96	R:70602453	DELECCION	HETEROCIGOTO
97	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
98	R: 70602461	T/G	HETEROCIGOTO
101	R:70602458	T/G	HETEROCIGOTO

102	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
108	R:70602445-70602453-454	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
110	F:706024580	T/G	HETEROCIGOTO
113	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
115	R:70602539 - 70602529*	A/G - T/C	HETEROCIGOTO
116	F:70602628	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
117	R:70602446 - 70602436	T/A - G/A	HETEROCIGOTO
118	R:70602602- 70602603	DELECIÓN- DELECIÓN	HETEROCIGOTO
119	F:70602511	T/C	HETEROCIGOTO
121	R:70602602- 70602603	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
122	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
124	F:70602498	A/C	HETEROCIGOTO
125	F:70602535	T/A	HETEROCIGOTO
126	R:70602525-70602535- 7060537-70602541- 70602543	T/C- A/C- A/G- T/A- A/G- A/T	HETEROCIGOTO
127	F:70602634 -70602639 R:70602534-513-500-496- 486	A/T - A/C T/C- T/A- T/A- T/A -A/G	HETEROCIGOTO
128	F:70602639- 70602633	A/C- A/T	HETEROCIGOTO
131	F:70602500	T/A	HETEROCIGOTO
132	F:70602634- 70602524 - 70602514	A/T - DELECIÓN - G/C	HETEROCIGOTO
133	R:70602605	A/T	HETEROCIGOTO
139	F:70602601- 70602547 R:70602547- 70602488	A/C - A/G A/G - A/G	HETEROCIGOTO
141	F:70602597	A/T	HETEROCIGOTO
142	R:70602605	A/T	HETEROCIGOTO
147	F:70602646 - 70602647 R:70602591	T/G - A/T DELECIÓN	HETEROCIGOTO
149	F:70602654 R:70602601	C/T - A/T	HETEROCIGOTO
150	F:70602528	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
151	F:70602652 - 70602496 R:70602599 -70602446	T/G - A/C A/T-T/A	HETEROCIGOTO

152	F:70602513 -70602610 - 70602603	DELECIÓN - DELECIÓN - DELECIÓN	HETEROCIGOTO
155	F:70602597 - 70602496 R:70602602	A/C - A/C A/T	HETEROCIGOTO
156	F:70602662 -70602664 R:70602600	C/A - A/T A/T	HETEROCIGOTO
157	F:70602597 -70602496	A/C - A/C	HETEROCIGOTO
158	R:70602446	A/T	HETEROCIGOTO
159	F:70602496 - 70602495	A/C - C/A	HETEROCIGOTO
164	R:70602453	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
171	F:70602652 - 70602496 R:70602599 -70602446	T/G - A/C A/T -T/A	HETEROCIGOTO
174	F:70602634- 70602524 - 70602514	A/T - DELECIÓN - G/C	HETEROCIGOTO
175	F:70602597 - 70602496 R:70602602	A/C - A/C A/T	HETEROCIGOTO
176	F:70602646 - 70602647 R:70602591	T/G - A/T DELECIÓN	HETEROCIGOTO
177	F:70602652 - 70602496 R:70602599 -70602446	T/G - A/C A/T -T/A	HETEROCIGOTO
178	F:70602535	T/A	HETEROCIGOTO
180	F:70602654 R:70602601	C/T - A/T	HETEROCIGOTO
184	R:70602446 - 70602436	T/A - G/A	HETEROCIGOTO
185	F:70602532	T/A	HETEROCIGOTO
188	F:70602639- 70602633	A/C- A/T	HETEROCIGOTO
189	F:70602497 R:70602446	A/T T/A	HETEROCIGOTO
191	F:70602649 R:70602452	T/G DELECIÓN	HETEROCIGOTO
192	F:70602634- 70602524 - 70602514	A/T - DELECIÓN - G/C	HETEROCIGOTO
194	F:70602334	DELECIÓN	HETEROCIGOTO
195	F:70602662 -70602664 R:70602600	C/A - A/T A/T	HETEROCIGOTO
1	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
3	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
5	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
6	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
13	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
16	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
17	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
23	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO

27	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
30	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
31	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
32	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
33	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
34	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
38	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
43	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
45	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
48	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
49	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
50	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
51	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
58	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
59	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
61	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
62	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
66	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
70	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
72	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
75	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
78	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
80	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
81	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
82	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
83	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
85	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
86	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
87	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
88	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
89	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
90	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
91	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
92	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
93	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
95	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
99	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
100	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
103	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
104	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
106	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO

109	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
111	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
112	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
114	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
123	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
129	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
130	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
136	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
137	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
138	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
143	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
144	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
145	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
146	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
148	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
153	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
154	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
160	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
161	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
162	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
163	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
166	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
167	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
168	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
169	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
172	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
173	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
181	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
182	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
183	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
186	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
187	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
193	*	NO HAY MUTACION	HOMOCIGOTO
63		EXCLUIDA DEL ESTUDIO	SIN MUESTRA
64	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
67	F:70602364	A/T	SOLO HAY FOWARD
14	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
18	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
28	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
41	F:70602334 - 70602639 -640-641	A/T DELECIION	SOLO HAY FOWARD

54	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
84	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY FOWARD
74	*	NO HAY MUTACION	SOLO HAY REVERSE