



SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA A CARIES

JULIETA DE LA VEGA CALDERON¹, Gerardo Vázquez Marrufo², Carlos Gómez Alonso³, Sergio Gutiérrez Castellanos¹, Gabriela López Torres⁴ y Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas¹

1 Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez, UMSNH, 2 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UMSNH, 3 Centro de Investigación Biomédica de Michoacán, IMSS, 4 Facultad de Odontología, UMSNH. marisolvaz@yahoo.com

RESUMEN. Entre los factores que causan la caries están la microbiota de la cavidad oral, la anatomía dental, los hábitos higiénico-dietéticos y la susceptibilidad del huésped. Los estudios de la contribución genética a la caries incluyen genes que participan en el desarrollo del esmalte, como el gen AMELX que codifica para la amelogenina. Se han reportado en distintos países excepto en México, asociaciones entre una mayor prevalencia de caries y mutaciones en dicho gen. **OBJETIVO:** Detectar polimorfismos presentes en el gen AMELX y evaluar los factores clínicos que modulan la caries en estudiantes universitarios. **METODOLOGÍA:** Se incluyeron 125 alumnos inscritos en la UMSNH a quienes se les extrajo 10 mL de sangre venosa, y se les determinó el número de piezas cariadas. Con el ADN obtenido de la sangre venosa, se amplificó por PCR un fragmento del gen AMELX, que se secuenció y comparó por el algoritmo Blast con secuencias depositadas en el GenBank. **RESULTADOS:** Se determinó una prevalencia del 71.8% de caries. Se encontró una relación entre el índice CPOD y la edad con una significancia de 0.009; así como asociación positiva entre la caries y la presencia de los polimorfismos rs5933871 y rs17878486, con índices CPOD de 20 y 15 respectivamente. También se encontró una relación significativa (0.004) entre el índice CPOD de cero y la ausencia de polimorfismos genéticos. **CONCLUSIONES:** Existe una asociación significativa entre la presencia de caries y los polimorfismos rs5933871 y rs17878486 en el gen AMELX de la población estudiada.

1. INTRODUCCIÓN. La caries es una enfermedad infecciosa multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente como consecuencia de una desmineralización provocada por los ácidos que genera la placa bacteriana, a partir de los hidratos de carbono de la dieta (López, 2009).

En la caries como enfermedad multifactorial, concurren diversos factores para su desarrollo, como son: tiempo, dieta, bacterias, anatomía dental, situación cultural y socioeconómica así como la susceptibilidad genética.

El Índice CPO-D señala la experiencia de caries presente y pasada, pues se obtiene de la sumatoria de los dientes permanentes cariados perdidos y obturados, entre el total de individuos examinados (OMS, 1997).

La identificación de genes por secuenciación es la manera más sencilla y directa de analizar un gen y detectar una mutación o un polimorfismo, siendo el análisis de polimorfismos un método óptimo para el diagnóstico, en especial por la posibilidad de detectar la enfermedad antes de que se desarrolle, o la predisposición genética a ciertas enfermedades cuya causa no es única (Luque y Herráez, 2002).



El enfoque en genes candidatos relacionados con caries incluye tres grupos principales: genes participantes en el desarrollo del esmalte, los involucrados en la formación y composición salival, y los que intervienen en la respuesta inmune (Vieira, 2012).

Se ha dado mayor importancia a los genes que codifican para proteínas involucradas en la ruta de síntesis del esmalte, o bien, la ausencia de ellas, lo que redundaría en la susceptibilidad del diente a la enfermedad. Entre los que destaca el gen AMELX, cuyo locus es Xp22.3-p22.1 y que codifica para la amelogenina, proteína esencial en la síntesis del esmalte dental (Urzúa *et al.*, 2005; Tannure *et al.*, 2012).

2. HIPÓTESIS. La presencia de polimorfismos en el gen AMELX que codifica para la ruta de síntesis del esmalte dental, son un factor de riesgo que se relaciona con la prevalencia de caries en estudiantes universitarios michoacanos.

3. PARTE EXPERIMENTAL

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, del Informe Belmont, así como del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, en su Título Quinto, Capítulo Único, Artículo 100.

Se incluyeron 125 alumnos inscritos en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), que acudieron a examen dental a la Facultad de Odontología dependiente de la misma. Previo consentimiento informado de cada individuo, se procedió al llenado de encuestas para establecer el nivel socioeconómico y la historia clínica odontológica; además se utilizó el método visual-táctil mediante el uso de espejo dental y sonda de exploración, para establecer el número de piezas cariadas. Se tomaron 10mL de sangre venosa en tubos con EDTA como anticoagulante, para extraer el ADN por el método del fenol cloroformo, obteniéndose un ADN de alto peso molecular (Fig. 1).

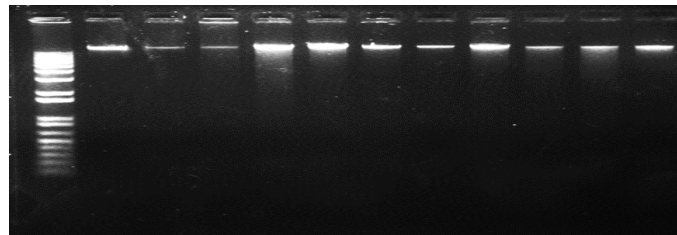


Figura 1. ADN extraído de sangre venosa humana. Gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Carriles: M, marcador de peso molecular 1 kb plus ADN ladder (invitrogen, USA); 1-11 ADN de diferentes pacientes.

Posteriormente se amplificó por PCR un fragmento del gen AMELX y se mandó secuenciar a ELIMBIOPHARM para compararlo con secuencias en el GenBank por el algoritmo Blast. Se



realizaron alineamientos con los programas Clustal X y CLC Bio, para detectar los posibles polimorfismos (Fig. 2).

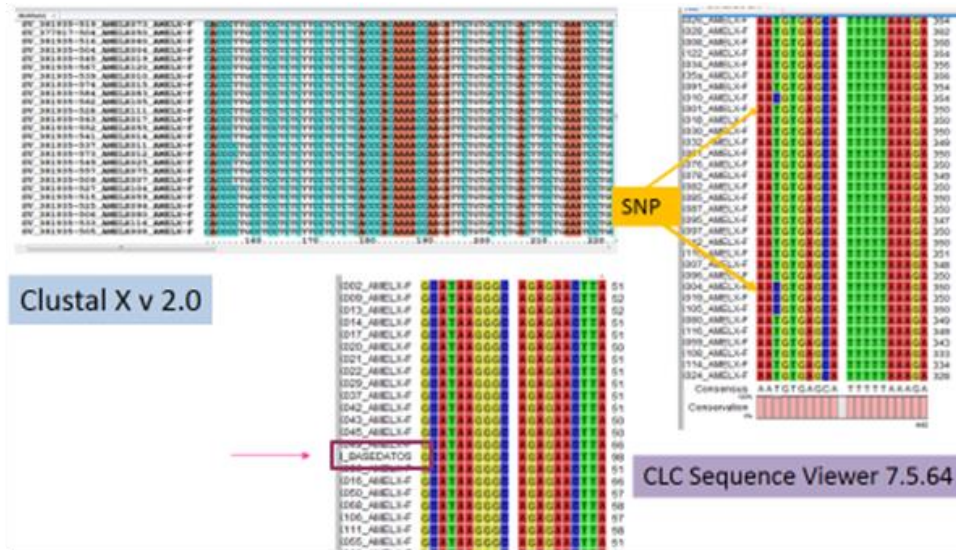


Figura 2. Alineamientos realizados con los programas Clustal C y CLC Bio Viewer 7.5.64. Se observa el cambio en una de las bases nitrogenadas de Timina (T) por Citosina (C), lo que es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP).

Los datos clínicos se analizaron con estadística descriptiva. Para la correlación entre la caries y los factores que la modulan se aplicó el análisis de Chi cuadrado de Pearson utilizando el programa SPSS v. 21, encontrándose una prevalencia de 71.8% de caries en la población estudiada. De esta manera, se encontró asociación positiva con lo reportado en la literatura, en cuanto al mayor índice CPO-D y el consumo de golosinas, en este caso, con un 58.87% (Fig. 3).

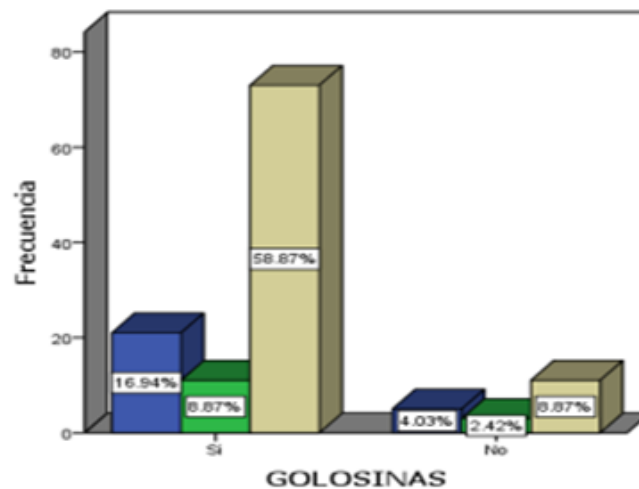


Figura 3. Correlación del Índice CPO-D con el consumo de golosinas.



También se observa significativa la relación (α de 0.009) del índice CPO-D con la edad, de acuerdo a lo reportado con el SIVEPAB (Sistema de Vigilancia de Patologías Bucales) en el 2006, respecto a que se presenta un considerable aumento en la presencia de caries a los 19 años de edad (Fig. 4).

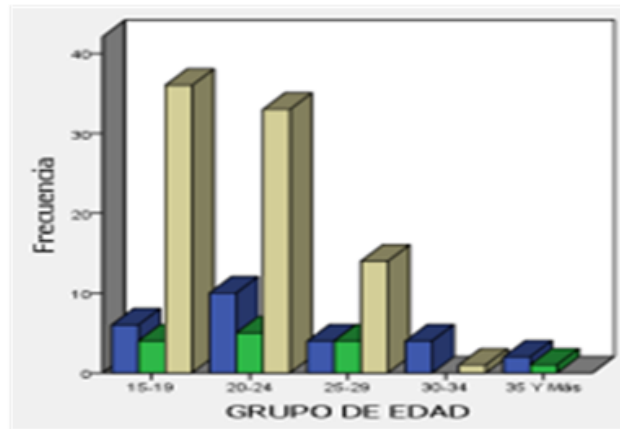


Figura 4. Correlación del grupo de edad con el índice CPO-D.

Finalmente, al asociar el índice CPO-D con la presencia de polimorfismos, se encontró una significancia de 0.044; esto al relacionar el índice CPO-D de cero con la ausencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) así como para el índice CPO-D de 15 con el SNP rs17878486 (Fig. 5).

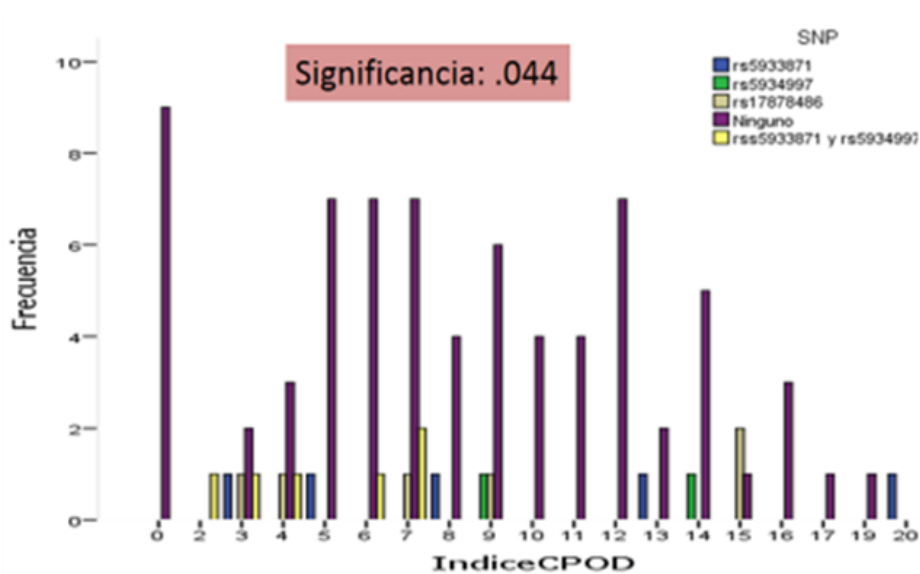


Figura 5. Relación entre el índice CPOD y los polimorfismos.



4. CONCLUSIONES. Dadas las condiciones que anteceden, en la población de estudio se encontró una asociación directa entre la caries y los factores que la modulan; así mismo se pone de manifiesto el papel relevante del gen AMELX y sus polimorfismos, como desencadenantes de la susceptibilidad a la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aidar M y Line SR. (2007). A Simple and Cost-Effective Protocol for DNA Isolation from Buccal Epithelial Cells. *Brazilian Dental Journal*. 18 (2): 148-152.
2. 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.
3. Deeley K, Letra A, Rose EK, Brandon CA, Resick JM, Marazita ML, Vieira AR (2008). Possible Association of Amelogenin to High Caries Experience in a Guatemalan-Mayan Population. *Caries Research*. 42:8-13.
4. Luque J, Herráez A. (2002). Diversidad del genoma: polimorfismos. En: Elsevier Science. *Biología Molecular e Ingeniería Genética*. Madrid:Ed. Harcourt; p.365-379.
5. Negroni, M. *Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica*. (2009). Segunda edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. ISBN 978-950-06-1584-6
6. OMS: Encuestas de Salud Bucal Dental. (1997). *Métodos Básicos*. Cuarta Edición. Ginebra.
7. Shaffer JR, Wang X, DeSensi RS, Wendell S, Weyant RJ, Cuenco KT, Crout R, McNeil DW, Marazita ML. (2012). Genetic Susceptibility to Dental Caries on Pit and Fissure and Smooth Surfaces. *Caries Research*. 46:38-46.
8. Soames JV, Southam JC. (2005). *Dental Caries*. En: Oxford Medical Publications. Oral
9. 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.
10. Vieira, AR. (2012). Genetics and Caries - Perspectives. *Brazilian Oral Research*. 26(Suppl 1): 7-9.
11. 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.
12. 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.
13. Vieira, AR. (2012). Genetics and Caries - Perspectives. *Brazilian Oral Research*. 26(Suppl 1): 7-9.