



**COMPARACIÓN DEL ESTADO CLÍNICO PERIODONTAL Y NIVELES DE
ANTICUERPOS CONTRA *P. gingivalis* EN INDIVIDUOS CON RIESGO DE
DESARROLLAR ARTRITIS REUMATOIDE**

SONIA RUBIELA UNRIZA PUIN

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
BOGOTÁ, D.C. MAYO 2016**

**COMPARACIÓN DEL ESTADO CLÍNICO PERIODONTAL Y NIVELES DE
ANTICUERPOS CONTRA *P. gingivalis* EN INDIVIDUOS CON RIESGO DE
DESARROLLAR ARTRITIS REUMATOIDE**

SONIA RUBIELA UNRIZA PUIN

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
TÍTULO DE:
MAGISTER EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

DIRECTORA:

Dra. MARÍA CONSUELO ROMERO SÁNCHEZ, MSC, PhD

CO-DIRECTOR:

Dr. WILSON ARMANDO BAUTISTA MOLANO, MD, PhD(c)

GRUPO DE INVESTIGACIÓN:

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BASICA ORAL – UIBO

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
BOGOTÁ D.C, MAYO 2016**

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

JOSÉ LUIS ROA BENAVIDES	Presidente del Claustro
HERNANDO MATÍZ CAMACHO	Presidente Consejo Directivo
RAFAEL SÁNCHEZ PARÍS	Rector
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Vicerrector Académico
FRANCISCO JOSÉ FALLA CARRASCO	Vicerrector Administrativo
MIGUEL OTERO CADENA	Vicerrector de Investigaciones
LUIS ARTURO RODRÍGUEZ BUITRAGO	Secretario General
JUAN CARLOS SÁNCHEZ PARÍS	División Posgrados
JAIME ALBERTO RUÍZ CARRIZOSA	Decano Facultad de Odontología
MARTHA LILIANA GÓMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA ESCOBAR	Directora Área Bioclínica
MARIA CLARA GONZÁLEZ	Directora Área Comunitaria
LUIS A. RAMÍREZ	Coordinador Área Psicosocial
GLORÍA INÉS LAFAURIE VILLAMIL	Coordinadora Investigación Facultad de Odontología
MARIA ROSA BUENAHORA	Coordinadora Posgrados Odontología
STEFANIA MARTIGNON	Directora Programa de Maestría en Ciencias Odontológicas
LINA MILLÁN	Coordinadora Programa Maestría en Ciencias Odontológicas

A mis hijos, Nicolás David y Valeria

A mi esposo, Wilson A.

Los Amo

AGRADECIMIENTOS

Es el momento justo para agradecer a todas las instituciones y personas que con su apoyo contribuyeron a la realización de este trabajo. Agradezco a la Universidad El bosque, al Hospital Militar Central y a COLCIENCIAS, instituciones que por medio de las convocatorias: PCI 2013-469, 2013048 y Grant No. 130854531734-2011 y, 130865740792, respectivamente, dieron el soporte económico necesario para su ejecución.

Me es grato agradecer al grupo de trabajo de la Unidad de Investigación Básica Oral -UIBO, el cual puso a disposición sus instalaciones y equipos para poder realizar cada una de las pruebas de laboratorio necesarias en esta investigación.

Quiero continuar agradeciendo a la Dra. Ma. Consuelo Romero Sánchez, por su dirección, enseñanza continua, paciencia y constante ayuda en la realización de este estudio. Igualmente, por confiar en mis capacidades desde el inicio hasta el final de esta Maestría, por sus consejos y paciencia, por el impulso continuo, por enseñarme a hacer las cosas bien, quiero agradecer especialmente a la Dra. Gloria Lafaurie. También, a cada uno de los docentes de la Maestría, los cuales re-abrieron mi interés por la investigación y por el conocimiento, agradezco su colaboración.

Por supuesto, agradezco a mis compañeros, María Rosa Buenahora, Sandra Amaya, Paola Escobar, Luz Amparo Gómez, Julio César Plata, Lofthy Mejía y Lizelia Alfaro, de quienes aprendí tantas y tantas cosas como profesionales y como seres humanos. También agradezco a todos los amigos que hice durante este tiempo, los cuales me apoyaron por medio de su enseñanza tanto en el laboratorio, en la universidad y en el día a día.

A mis hijos, Nicolás y Valeria, a mis hermanos, a mis padres, quienes siempre me han dado amor, paciencia, tiempo y dedicación incondicional, mil y mil gracias, porque debido a su valioso apoyo pude culminar esta meta. Finalmente, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mi esposo Wilson A. Bautista, quien nunca deja de apoyarme, quien además fue mi Co-Director en este proyecto y quien incondicionalmente, es el copiloto de mi vida.

¡Agradecida estoy con todos ustedes!

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Maestría en Ciencias Odontológicas
Título:	Comparación del estado clínico periodontal y niveles de anticuerpos contra <i>P. gingivalis</i> en individuos con riesgo de desarrollar artritis reumatoide
Línea de investigación:	Inmunogenética – Medicina Oral y Periodontal
Instituciones participantes:	Universidad El Bosque Unidad de Investigación Básica Oral (U.I.B.O) Facultad de Odontología – Universidad El Bosque Hospital Militar Central
Tipo de investigación:	Maestría / Medicina Periodontal
Directora:	Dra. María Consuelo Romero Sánchez
Co-director:	Dr. Wilson A. Bautista M.
Estudiante:	Sonia Rubiela Unriza Puin
Asesor metodológico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil
Asesor estadístico:	Dra. Gloria Inés Lafaurie Villamil

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

RESUMEN

ESTADO CLÍNICO PERIODONTAL Y ANTICUERPOS ANTI *P. gingivalis* EN INDIVIDUOS CON RIESGO DE DESARROLLAR ARTRITIS REUMATOIDE

Antecedentes: Los estudios de asociación de AR han dirigido su atención hacia las fases preclínicas o asintomáticas en individuos sanos con alto riesgo de desarrollar AR. Datos previos demuestran que los familiares en primer grado de pacientes con AR (FPG) presentan una condición periodontal inflamatoria significativa que podría modular la severidad de la presentación clínica de la AR.

Objetivo: Comparar la condición clínica periodontal y los niveles de anticuerpos contra *Porphyromona gingivalis* (*Pg*) en individuos FPG de pacientes con AR y controles sanos.

Métodos: Se evaluaron 100 individuos FPG y 200 individuos sanos como grupo control, pareados por edad y género. Se realizó valoración reumatológica y periodontal. Se midieron anticuerpos contra *Pg* y anticuerpos antipéptido citrulinado (anti-CCP). Se compararon los grupos aplicando pruebas de McNemar y de Signos de Wilcoxon y se realizaron modelos de regresión logística condicional para establecer asociaciones de EP y otros factores asociados al riesgo a AR en FPG.

Resultados: El 79% del grupo FPG presentó EP comparado con un 56% del grupo control ($p=0.001$). Siendo el 15% EP severa en el grupo FPG vs 9% en el grupo control ($p=0.009$). Se observó asociación significativa de la presencia de EP en el grupo FPG (OR: 3, 95% CI 1.89–7.29). Un 17% de obesidad en el grupo FPG comparado con un 7.5% del grupo control ($p=0.008$); observándose una asociación significativa para la presencia de obesidad en FPG (OR: 2.9, 95% CI .03-8.28). La presencia de anticuerpos anti-CCP fue del 7% en FPG vs 2.5% del grupo control, mostrando una asociación significativa en el análisis bivariado ($p=0.038$). Aunque en el análisis multivariado no logró soportar la asociación (OR: 2.4, 95% CI 0.7-8.32), los resultados parecen indicar una tendencia a su incremento en individuos FPG. Los anticuerpos anti-*Pg* (IgG1-IgG2) no mostraron diferencias significativas, entre los grupos.

Conclusiones: La presencia de EP, la obesidad y la presencia de anticuerpos anti-CCP pueden ser variables que condicionan el riesgo en individuos FPG.

Palabras Clave: Periodontitis, artritis reumatoide, obesidad, péptido citrulinado cíclico, familiares primer grado.

ABSTRACT

PERIODONTAL STATUS AND LEVELS OF ANTIBODY ANTI-*P. gingivalis* IN INDIVIDUALS WITH HIGHER RISK TO DEVELOP RHEUMATOID ARTHRITIS

Abstract: Association studies in rheumatoid arthritis (RA) have been focused in the pre-clinical phases of the disease in asymptomatic individuals with higher risk to develop RA. Previous data has shown that first degree relatives (FDR) of patients with RA have a periodontal condition that may modulate the severity and the clinical presentation of RA.

Background: To compare the periodontal condition and levels of antibody against *Porphyromona gingivalis* (*Pg*) between FDR individuals and healthy controls.

Methods: In total, 100 FDR individuals and 200 healthy controls paired by age and gender were included. Rheumatologic and periodontal assessment was performed as well as antibodies anti-*Pg* and antibodies anti-citrullinated peptides (anti-CCP). The group-comparisons were analyzed using McNemar and Wilcoxon tests. A conditional logistic regression analyses was performed to establish associations between periodontitis and additional risk factors for RA in FDR.

Results: In the FDR-group 79% had periodontitis in comparison with control group 56% ($p=0.001$). Fifty percent of severe periodontitis was observed in FDR vs 9% in control group ($p=0.009$). A significant association was found in the FDR individuals regarding the presence of periodontitis (OR: 3, 95% CI 1.89–7.29). In the group of FDR 17% had obesity, compared to 7.5% of obesity in the control group. Additionally, there was association related to the presence of obesity in the FDR group (OR: 2.9, 95% CI .03-8.28). Anti-CCP antibodies was found in 7% in FDR group vs 2.5 % in control group; in the bivariate analysis a significant association ($p=0.038$) was found. Although the multivariate analysis did not support the association (OR: 2.4, 95% CI 0.7- 8.32), this results shows a trend towards the increase of anti-CCP antibodies in FDR group (OR: 2.4, 95% CI 0.7- 8.32). Regarding the antibodies anti *Pg* (IgG1-IgG2), no differences was found between the groups.

Conclusion: The presence of periodontitis, obesity and the presence of anti-CCP antibodies may be factors influencing the risk in FDR of patients with RA.

Key Words: Periodontitis, rheumatoid arthritis, obesity, antibodies anti-citrullinated peptides, relatives

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 ANTECEDENTES	3
2.2 DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD PERIODONTAL (EP)	4
2.3 DEFINICIÓN DE ARTRITIS REUMATOIDE (AR)	4
2.4 EPIDEMIOLOGÍA	4
2.5 ARTRITIS REUMATOIDE Y ENFERMEDAD PERIODONTAL	5
2.6 CITRULINACIÓN	6
2.7 FACTORES GENÉTICOS	9
2.8 TABAQUISMO	10
2.9 ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)	10
2.10 EVIDENCIA CIENTÍFICA	11
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	15
3.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	16
4. JUSTIFICACIÓN	17
5. OBJETIVOS	19
5.1 OBJETIVO GENERAL	19
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
6. METODOLOGÍA	20
6.1 TIPO DE ESTUDIO	20
6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	20
6.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	21
6.4 MÉTODOS PERIODONTALES	21
6.5 DIAGNÓSTICO PERIODONTAL	23
6.6 MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS	24
6.7 OTRAS PRUEBAS DE LABORATORIO	26

6.8	CONTEO ARTICULAR	27
6.9	HIPÓTESIS ESTADÍSTICAS	28
6.10	PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS	28
7.	CONSIDERACIONES ÉTICAS	31
8.	RESULTADOS	32
8.1	CARACTERÍSTICAS SOCIO DEMOGRÁFICAS	32
8.2	CONDICIÓN PERIODONTAL	33
8.3	VARIABLES REUMATOLÓGICAS	36
8.4	MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA CONDICIONAL	38
9.	DISCUSIÓN	42
10.	CONCLUSIONES	48
	BIBLIOGRAFÍA	49
	ANEXOS	60
	Anexo 1. APROBACIÓN DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIONES DE LA UNIVERSIDAD EL BOSQUE	60
	Anexo 2. APROBACION DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DEL HOSPITAL MILITAR CENTRAL	61
	Anexo 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables sociodemográficas de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles.	<u>32</u>
Tabla 2. Indicadores clínicos de destrucción periodontal de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles.	<u>34</u>
Tabla 3. Indicadores inflamatorios de los tejidos periodontales de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles.	<u>35</u>
Tabla 4. Indicadores de riesgo y marcadores de riesgo de artritis reumatoide de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles.	<u>37</u>
Tabla 5. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, diagnóstico EP CDC/AAP, obesidad, ajustado a edad.	<u>38</u>
Tabla 6. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, severidad EP CDC/AAP, obesidad, ajustado a edad.	<u>39</u>
Tabla 7. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, diagnóstico EP AEP, obesidad, ajustado a edad.	<u>39</u>
Tabla 8. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, diagnóstico EP AEP, ajustado a número de dientes.	<u>40</u>
Tabla 9. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, diagnóstico EP CDC/AAP, ajustado a número de dientes.	<u>41</u>
Tabla 10. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, severidad CDC/AAP, ajustado a número de dientes.	<u>41</u>

INTRODUCCIÓN

El concepto de infección e inflamación de la cavidad oral ha venido evolucionando desde 1879 hasta nuestros días [Miller, 1891; Hunter, 1900; Hunter, 1911; Mayo, 1922; Cecil & Angevine, 1938; Editorial, 1952; Mattila et al., 1989; DeStefano et al., 1993; O'Reilly & Clafey, 2000; Kinane & Marshall, 2001; Pizzo et al., 2010] indicando que la Enfermedad periodontal (EP) ha surgido como un factor de riesgo para desarrollar artritis reumatoide (AR), y otras enfermedades sistémicas. La EP es un desorden iniciado por infección bacteriana, el cual afecta a varios tejidos como la encía, el cemento y el ligamento periodontal produciendo finalmente la pérdida del diente [Van Dyke & Serhan, 2003; Novak, 2006; Jaramillo et al., 2013]. En contraste, la AR es una enfermedad autoinmune, que cursa con inflamación crónica y es la responsable de la destrucción del hueso y cartílago en las articulaciones. La cronicidad inflamatoria de estas dos enfermedades afecta a los seres humanos con consecuencias considerables para la salud pública y para la calidad de vida de los individuos afectados [Pascual et al., 1998].

Según el paradigma etiológico de la AR, existe un agente medioambiental que induce una respuesta autoinmune inicial en individuos con predisposición genética, por lo que se ha propuesto que la relación entre la AR y la periodontitis es causal [Bartold et al., 2005; Lundberg et al., 2010]. Así mismo varios patógenos orales Gram negativos han sido implicados en la EP [Socransky et al., 2005] y han llamado la atención como posibles agentes de iniciación de la AR, principalmente la *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Este microorganismo es el único procarionta conocido capaz de expresar la enzima peptidil arginina deiminasa (PAD), similar a la implicada en la patogénesis de la AR [Rosenstein et al. 2004]. Se especula que la infección con *P. gingivalis* podría facilitar la presentación de auto antígenos y la pérdida de tolerancia en AR [Nesse et al., 2012].

Las investigaciones de *P. gingivalis* en AR han sido realizadas en pacientes con AR establecida, por lo que no es posible saber con certeza si la infección con *P. gingivalis* precede el comienzo de la artritis reumatoide o si esta infección es posterior a la aparición de la enfermedad [Mikuls et al., 2012a]. Entre los individuos con AR, e incluso en familiares en primer grado con riesgo de presentar AR, la evidencia de infección crónica por *P. gingivalis* está fuertemente asociada con la presencia de anticuerpos anti péptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP) [Mikuls, et al. 2012b]. Es necesario resaltar que la expresión de anti-CCP precede de 5 a 14 años a la aparición clínica de la AR [Visser et al., 2002; Nielen et al., 2004; Ioan-Facsinay et al., 2008], lo cual sugiere que la

ruptura inicial de la tolerancia inmunológica a las proteínas citrulinadas incluida la alfa enolasa [Nesse et al., 2012], podría producirse como consecuencia de un evento inflamatorio fuera de la articulación [Van de Sande et al., 2011].

Los factores genéticos contribuyen entre un 30 y 60% a la etiología de la AR [MacGregor et al., 2000] y la periodontitis [Marotte et al., 2006]. El alelo DRB que contiene el epítipo compartido (EC) es considerado el factor genético más importante asociado con la AR [Meyer et al., 2003; Klareskog et al., 2006]. En pacientes con AR hay una secuencia de aminoácidos representada en exceso, que se sitúa en la tercera región hipervariable de las cadenas β de DR de los aminoácidos en las posiciones 70-74 y es llamada epítipo compartido y corresponde a la secuencia glutamina-leucina-arginina-alanina-alanina (QKRAA). Varios trabajos han demostrado que se asocia a un incremento de la susceptibilidad y a la gravedad de la enfermedad [Michalowicz et al., 1991; de Pablo et al., 2009].

Mikuls y cols. concluyeron en 2012 que la inmunidad dirigida contra la *P. gingivalis*, pero no contra *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) o *Fusobacterium. Nucleatum* (*F. Nucleatum*), está significativamente asociada con la presencia de auto-anticuerpos en individuos con alto riesgo para desarrollar AR como son los familiares en primer grado de pacientes con AR [2012a; 2012b]. En este mismo año, el grupo de estudio de los factores de riesgo para la AR de EULAR (*European League Against Rheumatism*) estableció las recomendaciones para facilitar la investigación en los estadios preclínicos y en las fases tempranas de esta enfermedad. Los individuos sin AR deben estar circunscritos en las categorías de factores genéticos, factores ambientales, autoinmunidad sistémica relacionada con AR, síntomas clínicos sin AR, y artritis no clasificada, los cuales pueden ser usados de manera combinada. Adicionalmente, se definieron las áreas más importantes de investigación y se incluyeron otros tejidos en los cuales la respuesta inmune adaptativa podría dar inicio al proceso y permitiría identificar factores de riesgo y biomarcadores para el desarrollo de la AR, como lo es el tejido periodontal [Gerlac et al., 2012].

El objetivo general de este estudio fue comparar la condición clínica periodontal y los niveles de anticuerpos contra *P. gingivalis* en individuos sanos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles sanos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

El concepto de infección e inflamación en la cavidad oral ha venido desarrollándose a través del tiempo. En 1879 Willoughby D. Miller (1853-1907), estudia la micro flora de la cavidad oral y realiza varios escritos como “*The human mouth as a focus of infection*” en donde menciona el papel de los microorganismos orales y sus productos en el desarrollo de varias enfermedades en órganos distantes de la cavidad oral [Miller, 1891].

Posteriormente William Hunter en Londres, utiliza el concepto de sepsis oral como causa de enfermedad sistémica publicando un estudio titulado “*Papel de la Sepsis y Anti sepsis en Medicina*” en 1911 en Lancet [Hunter, 1900; Hunter, 1911], e inicia la era de la teoría de la infección focal. Mattila y cols. en 1989 y De Stefano y cols. en 1993, reportan en el *British Medical Journal* que los pacientes que ingresaban a los servicios de urgencias con eventos coronarios agudos presentaban un alto índice de enfermedades orales [Matilla et al., 1989; DeStefano et al., 1993]. Estos resultados dirigen la mirada a analizar la relación existente entre enfermedad oral y condiciones sistémicas.

Luego de conocer el concepto de infección focal, emerge el término de medicina periodontal en el “*World Workshop in Periodontics*” de 1996 [Offenbacher, 1996]. Posteriormente en 1998, el Colegio Americano de Periodoncia inicia esfuerzos educativos dirigidos a concientizar a la población acerca de la prevención de infecciones orales y su predisposición para el desarrollo de enfermedades sistémicas [Scannapieco, 1998; Seymour et al., 2007].

En 2012 Bautista y Cols, recogen la evidencia actual respecto al papel que tiene la enfermedad periodontal en la iniciación de la vía patogénica de las entidades articulares inflamatorias, dando inicio en Colombia a la investigación directa sobre las asociaciones existentes entre estas dos patologías [2012].

2.2 DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD PERIODONTAL (EP)

La enfermedad periodontal, es una enfermedad inflamatoria crónica que se inicia y se perpetúa por bacterias anaerobias Gram negativas que incluyen *porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), que colonizan el surco gingival y proliferan en la placa subgingival, produciendo pérdida de inserción del ligamento periodontal al cemento, con posterior formación de bolsas periodontales, resorción de hueso alveolar, recesión gingival, migración dental, abscesos y finalmente pérdida del diente [Armitage, 1999; Novak, 2006].

2.3 DEFINICIÓN DE ARTRITIS REUMATOIDE (AR)

La AR es una enfermedad autoinmune que cursa con inflamación crónica que conduce a la destrucción del hueso y cartílago en las articulaciones [Klareskog et al., 2008; Maresz et al., 2013]. Esta entidad patológica se caracteriza por la inflamación de la membrana sinovial de las articulaciones diartrodiales, de las vainas tendinosas y de las bursas sinoviales de deslizamiento. En el tejido sinovial inflamado, se produce destrucción local que compromete todas las estructuras de la articulación, resultando en la pérdida de la función y finalmente llevando a discapacidad en los pacientes con AR [Pascual et al., 1998].

2.4 EPIDEMIOLOGÍA

2.4.1 Enfermedad Periodontal

De acuerdo con el Estudio Nacional de Salud Bucal (ENSAB IV), realizado en 2014, la EP afecta al 27,24% de la población con edades entre los 20-34 años, presentándose en un porcentaje mayor en hombres (31,49%) que en las mujeres (23,02%). En los adultos jóvenes con edades entre los 35 a 44 años, la EP aumenta al 51,74%, siendo mayor en hombres con un 56,96% que en mujeres con un 51,04%. Dentro del rango de edad de 45 a 64 años la EP alcanza un 80,92% de la población siendo mayor en los hombres con un 83,65% frente a un 76,67% de las mujeres. Finalmente, en la población con edad mayor a 65 años se observó que la EP afecta al 93,16% de los casos, siendo mayor en hombres con un 96,37% con respecto a las mujeres con un 90,09% [Ministerio de Salud, 2014].

2.4.2 Artritis Reumatoide

La AR afecta aproximadamente al 1% de la población, por lo que es una de las enfermedades reumatológicas más comunes. Es más frecuente en mujeres que en varones (2 a 3 mujeres por cada varón afectado). El pico de incidencia en mujeres ocurre entre los 30 y 50 años de edad [Hochberg & Spector, 1990; Lv et al., 2014].

2.5 ARTRITIS REUMATOIDE Y ENFERMEDAD PERIODONTAL

Estos dos modelos de enfermedades presentan similares mecanismos de destrucción ósea como lo son: el conjunto de células inflamatorias efectoras, el perfil de citoquinas pro inflamatorias, y otros mediadores como el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), interleucina 1 beta ($IL-1\beta$), prostaglandina E2, interferón gama ($INF\gamma$), y proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR) y el amiloide A sérico. Estos mediadores modulan la carga inflamatoria de estas patologías con consecuencias considerables para la salud pública y para la calidad de vida de los individuos afectados [Pizzo et al., 2010].

Estudios recientes han indicado que la infección por *P. gingivalis* precede a la AR. Se propone que dicho microorganismo es el causante de iniciar y de mantener las respuestas inflamatorias autoinmunes que se producen en esta enfermedad [Pascual et al., 1998; O'Reilly & Clafey, 2000].

2.5.1 Porphyromona Gingivalis

La *P. gingivalis* es una bacteria Gram negativa, anaerobia, no móvil, que se encuentra junto con otras bacterias en la cavidad oral formando parte de la biopelícula subgingival y en células epiteliales orales [Colombo et al., 2007]. Contiene un número de proteínas endógenas citrulinadas las cuales no están presentes en otros patógenos orales comunes [Wegner et al., 2010]. Este microorganismo presenta varios factores de virulencia como son las gingipaínas que son cisteína proteasas extracelulares, las cuales están implicadas en la adherencia, crecimiento, degradación e invasión tisular. Además, están comprometidas con el mecanismo de evasión de la respuesta del sistema inmune [Potempa et al., 2003; Inagaki et al., 2003; Castillo et al., 2001].

2.6 CITRULINACIÓN

Los datos de múltiples estudios han confirmado que la disregulación inmunológica inicial de la AR, la cual es medida por auto anticuerpos relacionados con esta patología como el Factor reumatoide, los anticuerpos anti-CCP, y otros marcadores de inflamación, se produce previo a la aparición de los primeros síntomas en las articulaciones [Nielen et al., 2004]. Los anticuerpos contra los péptidos citrulinados han surgido como marcadores de diagnóstico clínicamente relevantes debido a su alta especificidad para la AR [Avouac et al., 2006; Nishimura et al., 2007; de Smit et al., 2012]. Su valor diagnóstico es evidente en la enfermedad temprana [Visser et al., 2002] ya que puede ser detectado incluso años antes de la fase clínica [Rantapaa-Dahlqvist et al., 2003]. De igual forma, tanto la presencia como los niveles séricos de estos anticuerpos anti-CCP se correlacionan con la severidad de la enfermedad [Nielen et al., 2004].

Las proteínas sufren modificaciones postraduccionales, es decir, cambios químicos después de ser sintetizadas exponiendo epítomos previamente ocultos al sistema inmune. La citrulinación es una de estas modificaciones y corresponde a la conversión enzimática de peptidil-arginina a peptidil-citrulina por acción de la familia de enzimas peptidil-arginina deiminadas dependientes de calcio (PADs) [Mangat et al., 2010; Olivares et al., 2011]. La reacción química induce la reducción de la masa molecular de aproximadamente 1,0 Da, por cada arginina modificada. La carga positiva se pierde, por lo que el punto isoeléctrico (pI) también se ve modificado y las interacciones con otras proteínas también pueden verse afectadas [van Venrooij & Pruijn, 2000].

La citrulinación fisiológica es un proceso normal que sucede en las células y tejidos de individuos sanos, necesaria en la diferenciación terminal de células epiteliales, la regulación en la expresión de genes y la apoptosis. También existe la citrulinación patológica asociada a inflamación en donde se pierde la tolerancia a proteínas citrulinadas en pacientes con AR [György et al., 2006]. Igualmente, se relaciona patológicamente con otros modelos de enfermedad como la esclerosis múltiple y Alzheimer, entre otros [Vossenaar et al. 2003].

2.6.1 Peptidil Amino Deiminadas

En humanos se conocen cinco isoformas de PAD. La PAD1 se expresa en la epidermis y útero; la PAD2 se expresa en la mayoría de órganos y tejidos principalmente en músculo esquelético,

bazo, cerebro, glándulas salivales y útero. La PAD3 se expresa en folículos; la PAD4 se expresa en neutrófilos y eosinófilos y la PAD6 ha sido detectada en ovarios, testículos y leucocitos de sangre periférica [Tarcza et al., 1996].

En autoinmunidad, la expresión de PAD4 se asocia con el desarrollo de manifestaciones clínicas de AR. Se ha demostrado que la presencia de anticuerpos anti-CCP, así como la expresión de PAD4, preceden la aparición de manifestaciones clínicas en AR [Chang et al., 2005; Majka et al., 2008; Lundberg et al., 2010]. También se han detectado PAD2 y proteínas citrulinadas en el líquido sinovial de pacientes con AR, sugiriendo que la citrulinación es un proceso asociado a la inflamación. Sin embargo, la generación de anticuerpos patogénicos que reconocen proteínas citrulinadas es un proceso específico de la AR [Kinloch et al., 2008].

El papel de la autoinmunidad dirigido de manera específica contra la citrulina en AR ha llevado a la hipótesis propuesta por Rosenstein en la cual *P. gingivalis*, expresa una enzima con actividad de amino deiminasa (PAD) similar a la comprometida en la etiología de AR [2004]. La enzima que expresa la *P. gingivalis* es descrita como una PPAD (*putative peptidyl arginine deiminase*), por lo que la actividad PAD puede ser de mayor importancia para la iniciación del proceso autoinmune al suceder en un sitio distante de la articulación, en este caso en el tejido periodontal [Mikuls et al., 2012b]. Se ha descrito la citrulinación de fibrinógeno y α -enolasa humana por *P. gingivalis* dependiente no solo de PPAD sino de gingipaínas-argininas, actuando proteolíticamente sobre la arginina y generando péptidos cortos con residuos de arginina en el extremo carboxilo que son subsecuentemente citrulinados por las enzimas PAD [Mac Graw et al., 1999]. Ante la ausencia de evidencia directa del papel de *P. gingivalis* en el desarrollo de AR, es necesario la realización de estudios que establezcan una relación más clara entre AR y EP. Lo anterior con el fin de determinar si la antigua hipótesis propuesta – en donde la AR es desencadenada por infección – es verdadera, al menos en un subgrupo de pacientes.

2.7 FACTORES GENÉTICOS

Los factores genéticos contribuyen entre un 30 a un 60% como factor de susceptibilidad a la etiología de la AR [Heliövaara et al., 1993; MacGregor et al., 2000] y la periodontitis [Marotte et al., 2006], contribuyendo de igual forma entre un 50% - 60% en el desarrollo de AR [MacGregor et al., 2000]. En los familiares en primer grado de AR se ha observado una concordancia de la

enfermedad entre el 2% y 4%; en gemelos monocigotos esta concordancia oscila entre el 12% y 15% [McGregor et al., 2000; Seldin et al., 2000]. Lo anterior podría sugerir que los familiares en primer grado de los pacientes con AR pueden tener de 2 a 10 veces más riesgo de desarrollar esta patología en comparación con la población general [John et al., 1998].

El alelo DRB1 del HLA que contiene el epítipo compartido (EC) es considerado el factor genético más importante asociado con la AR [Marotte et al., 2006; Meyer et al., 2003]. En pacientes con AR, hay una secuencia de aminoácidos representada en exceso que se sitúa en la tercera región hipervariable de las cadenas β del DR de los aminoácidos en las posiciones 70-74 (región fundamental en el proceso de reconocimiento antigénico). Esta secuencia es denominada el epítipo compartido y corresponde a la secuencia glutamina-leucina-arginina-alanina-alanina (QKRAA) [Delgado-Vega et al., 2006; Klareskog et al., 2006]. Algunas investigaciones han demostrado que se asocia a un incremento de la susceptibilidad y la gravedad de la enfermedad, así como con interacciones con factores medioambientales como el tabaco [Padyukov et al., 2004; Matthey & Hutchinson, 2005]. Así mismo se ha asociado como factor de mal pronóstico, con la presencia de manifestaciones extra-articulares y con mayor grado de destrucción articular [Hall et al., 1996; Turesson et al., 2005].

En estudios de asociación genética se han descrito diferentes polimorfismos que también contribuyen al desarrollo de la AR, aunque en un menor grado que el EC. Algunos de ellos son: el PTPN22, que corresponde a una variante funcional de la proteína intracelular de la tirosina fosfatasa N22, y del cual se ha establecido que puede llegar a duplicar el riesgo de AR seropositiva en heterocigotos y a cuadruplicarlo en monocigotos [Begovich et al., 2004; Lee et al., 2005]. STAT4, es un factor de transcripción importante en la regulación de la respuesta inmune, interviniendo en la señalización de las vías que promueven la diferenciación de linfocitos T CD4 a Th1 y Th17, implicados en la patogenia de la AR [Remmers et al., 2007; Orozco et al., 2008]. Otros genes asociados también son: CTLA4 y TRAF1/C5 [Kurreeman et al., 2007]. Recientemente se han encontrado locus adicionales de susceptibilidad para AR cuya contribución a la variación genética podría llegar hasta el 5% [Plenge, 2009].

2.8 TABAQUISMO

Es claro que el consumo de tabaco afecta a múltiples órganos como el sistema cardiovascular y respiratorio al igual que al sistema inmune, induciendo efectos tanto pro-inflamatorios como inmunosupresores [Sopori & Kozak, 1998]. El consumo de esta sustancia puede aumentar la respuesta inflamatoria, debido a que en fumadores se ha observado un aumento del fibrinógeno sérico, de la actividad de las células B auto-reactivas y un aumento de los reactantes de fase aguda y citoquinas pro-inflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF $-\alpha$), IL6 y los polimorfo-nucleares (PMN) circulantes. Así mismo el tabaco tiene efectos inmunosupresores como la inhibición de las citoquinas: IL-1 β , IL-2 e INF- γ , reduce las inmunoglobulinas circulantes y produce liberación de la IL-8 por las células [Hocking & Golde, 1979]. De igual forma, tiene efectos sobre las células dendríticas y otras células del sistema inmunológico [Arnson et al., 2010]. El consumo de tabaco modula la proliferación y muerte celular de los linfocitos e induce la formación de nuevos epítomos permitiendo de esta forma la exposición de antígenos intracelulares. Todo lo anterior, induce la estimulación de las células presentadoras de antígenos en el pulmón y por lo tanto aumenta la capacidad presentadora de nuevos antígenos en este tejido. Estos mecanismos descritos facilitan el desarrollo de procesos autoinmunes [Majo et al., 2001].

Estudios Epidemiológicos han demostrado que el tabaquismo es el mayor factor de riesgo ambiental conocido para la AR [Silman et al., 1996; Uhlig et al., 1999; Stolt et al., 2003]. El aumento del riesgo de AR en fumadores está asociado a la presencia del EC (HLA-DRB1), debido a que existe una gran interacción genética y ambiental entre los alelos del EC y el tabaco [Hall et al., 1996].

Se ha evidenciado que el tabaquismo acelera la fase preclínica, permite la citrulinación de péptidos e induce la generación de anticuerpos anti-CCP, en fases tempranas de la enfermedad [Rantapaa-Dahlqvist et al., 2003; Nielen et al., 2004; Klareskog et al., 2006]. La exposición al tabaco induce una reacción inflamatoria local y de necrosis celular, que favorece la citrulinación de proteínas a nivel pulmonar representando un sustrato para la activación de la respuesta inmune. Igualmente, se ha observado un significativo aumento de péptidos y proteínas citrulinadas en muestras de lavado bronquioalveolar de fumadores con relación a los no fumadores [Klareskog et al., 2006]. Es claro que en presencia de un proceso inflamatorio articular - y por consiguiente un proceso de citrulinación de proteínas y péptidos [Baeten et al., 2001] - se

produce la formación de inmunocomplejos con los anticuerpos anti-CCP circulantes, que finalmente desencadenan una respuesta inmune con la producción de mediadores inflamatorios como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) e Interleucinas (ILs) [Rantapaa-Dahlqvist et al., 2003; Klareskog et al., 2008].

2.9 ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)

La composición corporal es un método de estudio del cuerpo humano que se realiza por medio del fraccionamiento del peso en compartimentos realizando medidas y evaluaciones del tamaño, forma, proporcionalidad, composición, maduración biológica y funciones corporales [Wang et al., 1992]; la relación entre sus componentes y la actividad física aplicable a toda la población [Ross & Kerr, 1991]. Esta composición corporal es individual y es variable a lo largo de la vida dependiendo del estado de salud de cada individuo.

Una de las formas más aceptadas para determinar la composición corporal es el cálculo del índice de masa corporal (IMC), el cual es un indicador de la relación entre el peso y la talla y es utilizado para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilogramos por el cuadrado de su talla en metros.

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg)} / \text{Estatura}^2 \text{ (m)}$$

El sobrepeso y la obesidad están definidos como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud [Cowley et al., 2015]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el sobrepeso como un IMC igual o superior a 25, mientras que un IMC igual o superior a 30 determina el diagnóstico de obesidad [World Health Organization, 2015]. La principal causa del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las gastadas. Se ha establecido que un IMC elevado es un importante factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares [Böttiger & Carlson, 1982], hipertensión arterial, diabetes, dislipidemia [Dattilo & Kris-Etherton, 1992], AR y otros [Böttiger & Carlson, 1982; National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity, 2000].

Se ha determinado que los adipocitos hipertróficos de los individuos que presentan sobrepeso y obesidad son activos metabólicamente y liberan diversos tipos de adipocinas (mediadores

solubles), de las cuales algunas tienen función pro-inflamatoria como por ejemplo la visfatina, leptina, IL1 y el TNF α [Gomez et al., 2009; de Heredia et al., 2012]. Las adipocinas pro-inflamatorias contribuyen a un estado inflamatorio subclínico de los individuos obesos. En estos individuos las adipocinas se producen debido a la presencia de macrófagos infiltrados los cuales son considerados como una fuente adicional de mediadores solubles que contribuyen y perpetúan la inflamación sistémica y local [Tilg & Moschen, 2006]. Dentro de la patogenia de la AR se ha establecido que la IL1 y el TNF α están implicados en el inicio y persistencia de la sinovitis destructiva que caracteriza a esta patología [Conde et al., 2013]. Las células inflamatorias producen la leptina y en pacientes con AR se han encontrado mayores niveles circulantes de leptina, al compararlos con controles sanos [Otero et al., 2006]. La obesidad en pacientes con AR parece estar asociada con la persistencia de síntomas tales como el dolor [Finckh & Turesson, 2014]. Lo anterior explica la importancia que tiene el desarrollo de programas y medidas de control de peso en individuos sanos con alto riesgo de enfermedad, incluyendo los familiares en primer grado de los pacientes con AR [Finckh & Turesson, 2014].

2.10 EVIDENCIA CIENTÍFICA

La mayoría de los estudios en la literatura han investigado la asociación entre EP y AR basándose en las vías inflamatorias comunes, pero pocos han examinado las asociaciones de la AR con la infección bacteriana que inicia la EP [Milkus et al., 2012b].

2.10.1 Investigación en pacientes con AR establecida

En 2005 Ogrendik y colaboradores concluyeron que los anticuerpos contra *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P. melaninogénica* y *B. forsythia* hallados en altas concentraciones en los pacientes con AR podrían estar implicados en la etiopatogénesis de dicha patología [2005]. Moen y colaboradores en 2006 encontraron altas concentraciones de DNA de bacterias orales (*P. gingivalis*, *Tanerella forsythia* y *Prevotella intermedia*) en las muestras de líquido sinovial de los grupos de estudio de AR y de Artritis Psoriática, indicando que la inflamación sinovial en estas dos patologías podría ocurrir por la captura de DNA bacteriano oral y sugiriendo una posible amplificación del impacto y del efecto que tiene de los patógenos orales en la enfermedad articular [2006]. Otro estudio indicó que los pacientes con AR podrían desarrollar destrucción periodontal temprana en el curso de la enfermedad [Havemose-Poulsen et al., 2006]. Smith en el 2012

encontró que el 43% de los pacientes con AR presentaron periodontitis moderada y el 27% un diagnóstico de periodontitis severa comparándolo con el 18% y 12%, respectivamente, del grupo control [2012].

Estas investigaciones se han realizado con pacientes con AR ya establecida, por lo que no es posible saber con certeza si la infección por la *P. gingivalis* precede el comienzo o si ocurre subsecuentemente con la aparición de la enfermedad [Malmstrom & Calonius, 1975; Tolo & Jorkjend, 1990; Kässer et al, 1997; Pischon et al., 2008]. Mikuls y cols en el 2012 publicaron un estudio en el que se concluyó que la inmunidad dirigida contra la *P. gingivalis*, pero no contra *P. intermedia* o *F. nucleatum*, esta significativamente asociada con la presencia de auto anticuerpos en individuos con alto riesgo para desarrollar AR [2012b] como son los familiares en primer grado de pacientes con AR [Mikuls et al; 2012a]. La existencia de una asociación en ausencia de manifestaciones clínicas inflamatorias articulares podría soportar la hipótesis de que la infección periodontal precede a la AR y que no es simplemente una consecuencia de la AR o su tratamiento. Es importante resaltar que este estudio no compara directamente a los familiares en primer grado de los pacientes con AR, sino que establece grupos de riesgo con base en la presencia de FR y anticuerpos contra las bacterias periodontopáticas. Tampoco presentan datos acerca de la descripción clínica periodontal de los sujetos participantes, ni la evaluación articular de los mismos [Milkus et al., 2012b].

En un estudio realizado en pacientes con artralgiyas se concluyó que la presencia de anticuerpos anti-CCP (pero no de Factor Reumatoide o epítipo compartido), es un predictor del desarrollo clínico de artritis. Igualmente, el riesgo en los pacientes anti-CCP positivos puede verse incrementado con la presencia adicional de Factor reumatoide [Bos et al., 2010].

2.10.2 Recomendaciones EULAR – Investigación en Individuos con riesgo de AR

Para facilitar la investigación en los estadios preclínicos y en las fases tempranas de la AR, el grupo de estudio de Factores de Riesgo para la AR, desarrollado por EULAR (*European League Against Rheumatism*) estableció las recomendaciones para la terminología y la investigación en individuos con riesgo de AR [Gerlag et al., 2012]. En esta publicación se describen las recomendaciones y los términos que deben ser usados actualmente para definir los subgrupos de individuos durante los diferentes estadios de la enfermedad y establecer las prioridades en el área.

La terminología fue discutida en tres fases estructuradas: una lista provisional de descriptores para cada posible fase que precede el diagnóstico de la AR, circulando entre los miembros del comité para ser revisado y devuelto de manera anónima. Posteriormente fueron entregados a los 18 participantes durante la reunión de consenso. Se estableció entonces la recomendación en la cual los individuos sin AR deben estar circunscritos en las siguientes categorías: factores genéticos, factores ambientales, autoinmunidad sistémica relacionada con AR, síntomas clínicos sin AR, y artritis no clasificada, los cuales pueden ser usados de manera combinada. El prefijo “Pre AR” puede ser usado en cualquiera de esas combinaciones de las cinco categorías, pero únicamente para describir retrospectivamente una fase en un individuo que ha progresado una vez que se desarrolle la AR. Además, se definieron las áreas más importantes de investigación incluyendo otros tejidos en los cuales la respuesta inmune adaptativa pueda dar inicio al proceso y permita identificar factores de riesgo y biomarcadores para el desarrollo de la AR, como el tejido periodontal [Nesse et al., 2012].

Las fases que los individuos pueden pasar antes del desarrollo de la AR son:

- ▶ Riesgo para AR sobre la base genética y ambiental en individuos con pruebas de laboratorio negativas y signos y síntomas de inflamación articular ausentes.
- ▶ Riesgo para AR sobre la base de anomalías de laboratorio como anti CCP o FR positivos y signos y síntomas de inflamación articular ausentes.
- ▶ Riesgo para AR sobre la base de síntomas de artritis inflamatoria por ejemplo artralgia o rigidez matinal pero no evidencia clínica ni de imágenes de sinovitis.
- ▶ Riesgo para AR con síntomas de sinovitis sobre imágenes, pero no artritis inflamatoria.
- ▶ Riesgo para AR con síntomas clínicos de artritis inflamatoria pero que no cumplan con criterios completos de AR.

En estudios prospectivos los individuos deben ser descritos como:

- a. Con factores genéticos para AR.
- b. Con factores ambientales para AR.
- c. Autoinmunidad sistémica asociada con AR.
- d. Síntomas sin Artritis clínica
- e. Artritis no clasificada
- f. AR.

Finalmente, la necesidad de identificar factores de riesgo adicionales y biomarcadores fue un acuerdo unánime; por ejemplo, un factor de riesgo particular puede ser relevante únicamente si la progresión nos lleva a desarrollar una enfermedad autoinmune asociada a AR.

El término de autoinmunidad sistémica asociada con AR fue seleccionado como el más apropiado para describir la fase durante algunas anormalidades en varios compartimentos corporales que pueden preceder a la expresión clínica de la enfermedad. Aunque se ha descrito que la membrana sinovial es el principal lugar de la patología ya establecida, es muy probable que no sea el sitio en donde se inicia la enfermedad por lo que se debe tener en cuenta que algunas anormalidades inmunes sistémicas y la ausencia de infiltrados en la membrana sinovial durante las fases tempranas anteriores a los signos y síntomas clínicos de la artritis [Van de Sande et al., 2012], ponen de manifiesto la importancia de otros tejidos en el inicio de la respuesta inmune adaptativa. Tales tejidos incluyen: la médula ósea, nódulos linfáticos, intestino [Gerlag et al., 2012], pulmón [Klareskog et al., 2006], sistema neuroendocrino y el tejido periodontal [de Pablo et al., 2009], el cual es parte fundamental de nuestro estudio.

En los últimos años los estudios han dirigido su atención hacia las fases tempranas de la enfermedad permitiendo encontrar que los auto anticuerpos como el FR IgM, los anti CCP y los reactantes de fase aguda preceden a la presentación clínica de la patología [Berglin et al., 2004; Jorgensen et al., 2008; Maresz et al., 2013]. Estos auto anticuerpos pueden estar presentes de 5 a 14 años antes de la aparición de los síntomas clínicos [Rantapaa-Dahlqvist et al., 2003; Nielen et al., 2004; Ioan-Facsinay et al., 2008]. Así mismo, los sujetos con artralgiyas y auto anticuerpos positivos tienen un 30% de probabilidad de desarrollar AR en un año [Van de Stadt et al., 2011].

Estudiar grupos de riesgo en nuestra población y poder establecer la existencia de la asociación de la infección periodontal en ellos soportaría un papel importante de la *P. gingivalis* y posiblemente otros microorganismos con funciones similares en la iniciación de la AR, permitiendo intervenir preventivamente a estos sujetos de manera oportuna.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La EP ha surgido como un factor de riesgo para desarrollar AR, así como para otras enfermedades sistémicas. La EP es un desorden iniciado por infección bacteriana, el cual genera un impacto sobre varios tejidos, incluyendo la encía, el cemento y el ligamento periodontal y finalmente la pérdida del diente [Phipps & Stevens, 1995; Mikuls et al., 2012b]. La AR y la EP son dos enfermedades inflamatorias crónicas comunes que afectan a los seres humanos con consecuencias considerables para la salud pública y para la calidad de vida de los individuos afectados [de Smit et al., 2011].

Varios estudios han encontrado una prevalencia de 2 veces de EP en pacientes con AR, comparado con la población general [Malmstrom & Calonius, 1975; Pischon et al., 2008]. De igual forma varios estudios de casos y controles han corroborado esta asociación [Tolo & Jorkjend, 1990; Kässer et al., 1997; de Pablo et al., 2008; de Smit et al., 2012]. En comparación con los controles sanos, la EP es más frecuente en los pacientes con AR establecida, tanto en aquellos de corta como de larga duración de la enfermedad [Malmstrom & Calonius, 1975; de Pablo et al., 2008; Bos et al., 2010; de Smit et al., 2012].

Varios patógenos orales Gram negativos han sido implicados en la EP y adicionalmente han llamado la atención como posibles agentes de iniciación de la AR, principalmente la *P. gingivalis*. Este microorganismo es el único procariota conocido capaz de expresar la enzima peptidil arginina deiminasa (PAD), similar a la implicada en la patogénesis de la AR [Wegner et al., 2010]. Se especula que la infección con *P. gingivalis* podría facilitar la presentación de auto antígenos y la pérdida de tolerancia en AR [Lundberg et al., 2010]. Las investigaciones de *P. gingivalis* en AR han sido realizadas en pacientes con AR establecida, por lo que no es posible saber con certeza si la infección con *P. gingivalis* precede el comienzo de la AR o si la infección por *P. gingivalis* es posterior a la aparición de la enfermedad [Mikuls et al., 2012a]. Entre los individuos con AR, e incluso en familiares en primer grado con riesgo de presentar AR, la evidencia de infección crónica por *P. gingivalis* está fuertemente asociada con la presencia de anticuerpos anti-péptido citrulinados [Mikuls et al., 2012b].

El servicio de Reumatología del Hospital Militar Central, La Universidad El Bosque y la Universidad de La Sabana realizaron un proyecto financiado por Colciencias aprobado en la convocatoria 545/2011 con el fin de describir el estado periodontal en un grupo de pacientes con AR, artritis idiopática juvenil y espondiloartritis y establecer su relación con marcadores de actividad. Los resultados demostraron que pacientes con AR bajo tratamiento, con bajo grado de actividad clínica y cuyo diagnóstico se haya establecido antes de los 40 años, presentaron mayor número de dientes y mejor estado periodontal. Adicionalmente, la extensión y severidad de la EP favorece el incremento de la PCR en pacientes con bajo índice de actividad clínica reumatológica.

Estos estudios incluyen pacientes con AR establecida, por lo que según las últimas recomendaciones del grupo Europeo de Reumatología (EULAR), es necesario continuar la investigación en grupos de alto riesgo para el desarrollo de la AR, como son los individuos relacionados genéticamente en primer grado con pacientes con AR sin que presenten alteraciones clínicas, en la fase de preselección. Esta investigación busca evaluar a los familiares de los pacientes con diagnóstico de AR que participaron en el estudio anteriormente mencionado.

La asociación probablemente es causal, y este tipo de estudios permitiría esclarecer con mayor detalle la siguiente pregunta ¿si la infección reduce la tolerancia a antígenos citrulinados, podría ser dicha infección un factor determinante en la vía patogénica para el inicio y posterior desarrollo de procesos inflamatorios articulares? Establecer este tipo de posibles asociaciones en grupos de alto riesgo para desarrollar AR es una necesidad manifiesta en nuestra comunidad.

3.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El estado periodontal evaluado por condición clínica o por marcadores de infección periodontal son indicadores de riesgo en individuos con riesgo a desarrollar AR?

4. JUSTIFICACIÓN

La EP y la AR son desórdenes inflamatorios crónicos caracterizados por erosión, reabsorción ósea y producción de citocinas pro inflamatorias. Existe evidencia que sugiere que los individuos con EP moderada a severa se encuentran el alto riesgo de desarrollar AR o viceversa. Algunos estudios observacionales han demostrado que el tratamiento de la EP tiene un efecto positivo en el curso de la actividad en AR, así mismo el tratamiento reumatológico mejora el estado periodontal; pero estas observaciones necesitan ser confirmadas por nuevos estudios y así poder definir mejor los vínculos entre la infección por *P. gingivalis* y el inicio de AR.

Se ha demostrado que los anticuerpos anti *P. gingivalis* se encuentran en concentraciones significativamente más altas en los pacientes con AR que en los controles sanos y estos anticuerpos positivos se correlacionan con la presencia de anti-CCP. No se conoce si la asociación de *P. gingivalis* sucede a través de efectos sobre la generación de anti-CCP en la cavidad oral o en estructuras linfáticas relacionadas, mostrando que existe un desencadenante ambiental potencialmente crítico en la patogénesis de la AR, orientando a futuras investigaciones para que sean dirigidas a la prevención de este tipo de enfermedades.

La identificación de pacientes con AR en estadios tempranos (menor a 24 meses) o estadios muy tempranos (previo a la aparición clínica de artritis), permitiría el inicio del seguimiento clínico y/o intervenciones tanto farmacológicas como no farmacológicas en estos individuos. Lo anterior impactaría favorablemente respecto a la prevención de la progresión de la destrucción articular, daño radiológico y por consiguiente impacto clínicamente significativo en cuanto a la reducción de síntomas y discapacidad funcional que esta enfermedad genera. Igualmente, el estudio de grupos de riesgo en donde la detección de factores adicionales disminuiría el desarrollo de la AR.

La información publicada en la literatura reporta la asociación de la condición periodontal con las enfermedades articulares inflamatorias ya establecidas; además existe muy poca información sobre estadios preclínicos que contengan información clínica periodontal completa, a excepción de los antecedentes publicados por este grupo de investigación, lo cual soporta la necesidad y pertinencia de obtener información de individuos en fases muy tempranas previas a la aparición de síntomas clínicos (según las recomendaciones EULAR para la investigación de individuos en riesgo de desarrollar AR). Igualmente, esta información permitiría conocer de forma más detallada

los factores de riesgo asociados que contribuyen a la aparición de formas más severas de la enfermedad (AR) y por consiguiente mayor deterioro estructural, radiológico y funcional.

En nuestro país solo nuestro grupo de investigación está trabajando en establecer las asociaciones existentes entre el estado clínico periodontal y los marcadores serológicos de la AR, en los individuos con riesgo de desarrollar la enfermedad. Lo anterior impulsaría aún más a la comunidad médico científica y odontológica a desarrollar investigaciones encaminadas a la prevención y/o tratamiento temprano de estas patologías.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar la condición clínica periodontal y los niveles de anticuerpos contra *P. gingivalis* en individuos sanos familiares en primer grado de pacientes con AR y controles sanos.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1. Establecer la frecuencia y severidad de la enfermedad periodontal y la presencia de anticuerpos anti *P. gingivalis* en un grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes de artritis reumatoide establecida.

5.2.2. Establecer la asociación del estado periodontal evaluado por variables clínicas y marcadores de infección periodontal como indicador de riesgo para estados tempranos de AR en individuos familiares en primer grado de pacientes de artritis reumatoide establecida.

6. METODOLOGÍA

6.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio descriptivo de corte transversal.

6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Muestra no probabilística por conveniencia.

Se evaluaron 2 grupos:

- Un grupo de 100 individuos colombianos familiares en primer grado (hijos o hermanos completos) de pacientes con diagnóstico confirmado de AR, que asisten a la consulta regular de reumatología en el Hospital Militar Central. Estos individuos fueron seleccionados de acuerdo a las recomendaciones EULAR para el manejo de grupos de riesgo para AR, y fueron pareados en una relación familiar:control de 1:2, por edad y género. El pareamiento por edad fue realizado aceptando una diferencia de 1 a 2 años entre pares.
- Un grupo de 200 individuos colombianos sanos de la población general como grupo control, sin antecedentes de enfermedades autoinmunes, los cuales fueron seleccionados de la población de individuos que asisten a la misma institución de referencia donde se realizó el estudio.

6.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

6.3.1 Criterios de Inclusión de familiares de pacientes con AR y controles

Individuos Colombianos mayores de 18 y menores de 65 años, sanos, relacionados en primer grado con pacientes con AR, según la guía de recomendaciones del consenso Europeo de reumatología (EULAR) de 2012, para grupo con factor genético (familiar en primer grado).

6.3.2 Criterios de exclusión de familiares de pacientes con AR y controles

- Tener menos de 6 dientes en boca
- Individuos con proceso infeccioso en curso o diagnóstico de neoplasia.
- Individuos con diagnóstico de diabetes Mellitus Tipo II, y enfermedades autoinmunes.
- Individuos que se rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado.
- Individuos con dificultades para completar la información pertinente
- Individuos que se encuentren bajo tratamiento antibiótico antes de tres meses previos a la toma de las muestras.
- Individuos con aparatología ortodóntica.
- Individuos que hayan tenido terapia periodontal en los últimos 6 meses.
- Individuos en embarazo o lactancia.

6.4 MÉTODOS PERIODONTALES

Los individuos fueron invitados a participar, y se les proporcionó la información mediante un consentimiento escrito (Anexo 3), que una vez seleccionados firmaron en presencia de dos testigos.

Evaluación clínica del estado periodontal

A cada paciente se le evaluaron índices clínicos tomados por 2 periodoncistas los cuales participaron en una calibración inter- examinador incluyendo sondaje de la mitad de la boca de dos sujetos en dos oportunidades en la misma semana y se evaluaron con pruebas de

concordancia, adicionalmente ellos desconocían si el individuo era familiar o pertenecía al grupo control.

Antes de iniciar el estudio cada examinador fue entrenado con adecuados niveles de exactitud y reproducibilidad a los parámetros clínicos e índices que fueron utilizados. Se realizaron evaluaciones repetidas durante el curso del estudio sobre 5 sujetos seleccionados aleatoriamente con el fin de determinar la reproducibilidad intra-examinador.

El examen se realizó con sonda Carolina del Norte® (Hu-Friedy PCPUNC 15) y se realizaron mediciones en los seis sitios de cada diente (mesovestibular, centrovestibular, distovestibular, mesopalatino, centropalatino, distopalatino)

6.4.1 Índice Gingival

Se realiza valoración de la presencia o no de cambio de color en la encía.

6.4.2 Índice de Placa

Se valora si existe o no presencia de placa bacteriana en la superficie dental. Se determinó pasando la sonda periodontal sobre la superficie dentaria examinando la punta de la sonda en busca de placa.

6.4.3 Profundidad de la Bolsa

La profundidad de la bolsa se mide desde el margen hasta el fondo del surco. Se considera bolsa a los surcos cuya medida es > a 4 mm de profundidad teniendo en cuenta que la posición del margen gingival con respecto a la unión amelo cementaria (UAC) no exceda los 3 mm en sentido coronal.

6.4.4 Nivel de Inserción

Es la distancia en milímetros de la UAC al fondo de la bolsa y mide la cantidad de tejido des-insertado para cada diente.

Para la toma del nivel de inserción es necesario tener en cuenta la profundidad de la bolsa y la posición del margen con respecto a la unión amelo cementaria. El nivel de inserción se obtiene restando al valor de la profundidad de la bolsa, la medida del margen gingival. En caso de recesión la medida se toma de la unión amelo cementaria visible hasta el fondo de la bolsa.

6.4.5 Sangrado al Sondaje

El sangrado con un sondaje suave es el primer signo de la inflamación gingival y se presenta antes de dar otras manifestaciones clínicas. La encía normal no debe sangrar.

La hemorragia es uno de los signos clínicos más importantes en la descripción clínica de la enfermedad periodontal.

6.5 DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

6.5.1 CDC/AAP

Teniendo en cuenta los criterios diagnósticos del Grupo de Seguimiento de la Enfermedad Periodontal Academia Americana de Periodoncia (AAP) y el Centro para la Prevención y el Control de Enfermedades (CDC) – CDC/AAP- (*Center for Disease Control and Prevention- American Academy of Periodontology*), los cuales se basan en las mediciones de variables clínicas como profundidad al sondaje y pérdida de inserción, así [Page & Eke, 2007]:

6.5.2.1. No periodontitis: No evidencia de periodontitis leve, moderada o severa.

6.5.2.2. Periodontitis leve: Dos o más sitios interproximales con pérdida de inserción mayor o igual a 3 mm y dos o más sitios con profundidad al sondaje mayor o igual a 4 mm (no en el mismo diente) ó un sitio inter-proximal con profundidad al sondaje mayor o igual a 5 mm.

6.5.2.3. Periodontitis moderada: Dos o más sitios interproximales con pérdida de inserción mayor o igual a 4 mm (no en el mismo diente); o dos o más sitios interproximales con profundidad al sondaje mayor o igual a 5 mm (no en el mismo diente).

6.5.2.4. Periodontitis severa: Dos o más sitios interproximales con pérdida de inserción mayor o igual a 6 mm o un sitio inter-proximal con profundidad al sondaje mayor o igual a 5

6.5.2 Academia Europea de Periodoncia

Teniendo en cuenta los criterios diagnósticos de la Academia Europea de Periodoncia, de acuerdo a la severidad de la enfermedad los pacientes fueron agrupados en categorías [Tonetti & Claffey, 2005]:

6.5.1.1. De acuerdo al promedio del nivel de inserción de los sitios afectados

- Periodontitis crónicas leves a moderadas: Presencia de pérdida de inserción ≥ 3 mm en ≥ 2 dientes no adyacentes.

- Periodontitis Avanzadas: Presencia de pérdida de inserción proximal ≥ 5 mm en $\geq 30\%$ de los dientes presentes.

- Sanos-Gingivitis

6.5.1.2. De acuerdo al estado inflamatorio se evaluaron los individuos de acuerdo

- Al promedio de la profundidad de la bolsa.

* Total de la boca

* Promedio de bolsas presentes

- Al promedio de indicadores inflamatorios gingivales

-Al promedio de sangrado al sondaje

Al promedio del índice de inflamación gingival.

6.6 MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Bajo asepsia y antisepsia, a cada paciente se le tomó muestra de sangre venosa para la obtención de suero para analizar los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* y niveles de anticuerpos anti-

CCP. Esta muestra de sangre se centrifugó 10 minutos a 2.500 RPM y posteriormente el suero fue llevado a congelación a – 80°C hasta su procesamiento.

6.6.1 Niveles de anticuerpos contra *P. gingivalis*

El proceso de detección de anticuerpos que se utilizó fue estandarizado para el proyecto Colciencias-convocatoria 545-2011 código 130854531734 [Bello-Gualtero et al., 2016].

Para la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2 contra *P. gingivalis*. Se realizó un inmunoensayo indirecto en fase sólida (ELISA) para ello, se fijó el antígeno de *P. gingivalis* en placas de ELISA (Ref. 655061 Greiner Bio-one) usando buffer carbonato a una concentración de 5 µg/µl a partir de extractos sonicados de *P. gingivalis* ATCC 33277 y W83 a 4°C durante 16 horas (toda la noche). Además, se sensibilizaron pozos con PBS (Ref.1011, Inmunoconcept, EEUU.) con el fin de emplearlos como pozo guía para definir título final.

Posteriormente las placas de ELISA previamente sensibilizadas fueron bloqueadas con el fin de eliminar sitios inespecíficos usando una dilución 1:1 de solución estabilizadora, (SC01-2000 Stabilcoat SurModics) y solución PBS 1X - Leche descremada 1% con Avidina (Ref. SP-2001 Vector Laboratories, INC) 150 µL/pozo se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas; en seguida, se aspiró la solución y se agregaron 150 µL/pozo de solución PBS 1X con Biotina (Ref. SP-2001 Vector Laboratories, INC) se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas; luego se aspiró la solución y se dejó secar la placa durante 2 horas a temperatura ambiente.

Los sueros de los pacientes fueron diluidos en serie a partir de 1/100 hasta 1/400 en solución PBS 1X Tween 20 al 1% con BSA 1% agregando 100 µL/pozo, tanto en el pozo sensibilizado con el sonicatedo de *P. gingivalis*, como en el de PBS, se incubó durante 1 hora a 37°C, luego se adicionó anticuerpo secundario biotinilado anti-IgG1 (Ref. A10650 Invitrogen, EEUU) y/o anti-IgG2 (Ref. B3398 Sigma-Aldrich, EEUU) en una dilución 1/4000 en solución de PBS 1X Tween 20 1% y BSA 1%, 100 µL/pozo, se incubó durante 1 hora a 37°C.

Posteriormente se adicionaron 100µL/pozo de Estreptavidina Peroxidasa (Ref. SNN1004, Invitrogen EEUU), en una dilución de 1/1500 100 µL/pozo, y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente luego se preparó una solución del sustrato empleado para revelar la reacción O-Fenilendiamina (OPD) (Ref.34005 Pierce Laboratories), en buffer peróxido 1X (Ref.

34062 Thermo scientific, EEUU). Finalmente, la absorbancia se detectó después de parar la reacción utilizando 2 M de H₂SO₄ (Ref. 6057 Baker-analyzed). La lectura se realizó a una longitud de onda de 492 nm con una longitud de onda de referencia de 640 nm usando un lector de microplacas (Sunrise™ - Tecan).

Es importante mencionar que en cada uno de los pasos mencionados se realizó un lavado con PBS 1X -Tween 20 al 1%, a excepción de los pasos de bloqueo.

La determinación de los anticuerpos en cada una de las muestras se valoró a partir de una dilución 1/100 hasta 1/400 de forma inicial y se cuantificó hasta dilución final en caso de estar positivos, en el cual se tuvo en cuenta como valor de dilución final la absorbancia dos veces el ruido de fondo y una densidad óptica mayor a 0,1. Además se usó como control de la técnica, anticuerpo monoclonal (IgG1 e IgG2) con concentración alta de 2,5 µg/mL para IgG1 y de 5 µg/mL para IgG2; y baja de 0,039 µg/mL y 0,078 µg/mL para IgG1 e IgG2 respectivamente.

6.6.2 Niveles de anticuerpos anti péptidos citrulinados cíclicos (anti-CCP)

Son detectados en forma automatizada utilizando el método Quantalite CCP3.1 evaluando simultáneamente los isotipos IgG e IgA por método inmuno-enzimático. Los resultados se expresan en unidades Internacionales, para este estudio se estableció la categoría de valor negativo menor a 20 UI, valor positivo mayor o igual a 21UI.

6.7 OTRAS PRUEBAS DE LABORATORIO

6.7.1 PCR ultrasensible (Immulate 1000, Siemens®) REF. LKCRP1.

Se realizó en suero por quimioluminiscencia definida como la emisión de luz asociada con la disipación de la energía con una sustancia electrónicamente excitada.

Puntos de corte:

Normal: ≤3 mg/l.

Incrementado: >3.

6.7.2 Factor reumatoide: (IMMAGE® Immunochemistry System, Beckman Coulter Ireland Inc.)
REF.447070.

Se realizó en suero por nefelometría cinética donde se hizo una medición de la luz dispersada en dirección distinta a la luz emitida (generalmente con ángulos que oscilan entre 15 y 90°). Utiliza como instrumento el nefelómetro.

Puntos de corte:

Negativo: <20UI/ml.

Positivo: >20UI/ml

6.7.3 Medición de la velocidad de sedimentación de eritrocitos

La determinación de la VSG se realizó por la técnica de fotometría, practicándose lecturas de densidad óptica a diferentes intervalos de tiempo, obteniéndose una curva de absorción y emitiendo resultados indicando cuántos milímetros cúbicos se sedimentaron o asentaron los glóbulos rojos durante una hora con un valor de referencia de 0-20 mm/hr. Resultados aumentados mayores a 20mm/hr.

6.8 CONTEO ARTICULAR

Se realizó evaluación clínica articular de todos los individuos, incluyendo conteo articular tanto doloroso como inflamado de las 28 articulaciones que se encuentran incluidas en el índice compuesto de la actividad (DAS-28). Este índice se utiliza para evaluar la actividad de los pacientes con AR, incluye 28 articulaciones tanto dolorosas como inflamadas, velocidad de sedimentación globular (VSG) y una escala análoga visual general completada por el paciente. Existe una versión que se diferencia de la anterior porque en vez de evaluar la VSG incluye la PCR (Proteína C Reactiva). El rango va de 0 a 9,4. Se considera de baja actividad cuando su valor es menor a 3,2 y de moderada actividad cuando su valor está entre 3,2 a 5,1. En este estudio solo se utilizó el valor numérico de las articulaciones inflamadas y dolorosas.

6.9 HIPÓTESIS ESTADÍSTICAS

H°: No existen asociaciones estadísticamente significativas entre el estado clínico periodontal en el grupo de FPG comparado con controles sanos.

H¹: Existen asociaciones estadísticamente significativas entre el estado clínico periodontal y los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* en el grupo de FPG comparado con controles sanos.

H°: No existen asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* en el grupo de FPG comparado con controles sanos.

H¹: Existen asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* en el grupo de FPG comparado con controles sanos.

H°: No existen asociaciones significativas entre el diagnóstico periodontal y el riesgo de desarrollar AR (establecido por los niveles de anti-CCP).

H¹: Existen asociaciones significativas entre el diagnóstico periodontal y el riesgo de desarrollar AR (establecido por los niveles de anti-CCP).

H°: No existen asociaciones significativas entre los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* y el riesgo de desarrollar AR (establecido por los niveles de anti-CCP).

H¹: Existen asociaciones significativas entre los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* y el riesgo de desarrollar AR (establecido por los niveles de anti-CCP).

6.10 PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS

6.10.1 Estadística descriptiva

Se establecieron las frecuencias de diagnóstico periodontal, valorado por presencia o ausencia de periodontitis, niveles de anticuerpos contra *P. gingivalis* definido por presencia y ausencia (positivo y negativo) para ambos tipos IgG1 e IgG2, niveles de anti-CCP (positivo y negativo),

niveles de Proteína C Reactiva (PCR) (Normal e Incrementada), niveles de Velocidad de Sedimentación Globular (Normal e Incrementada) y niveles de Factor Reumatoide (Positivo y Negativo).

Se determinaron medidas de tendencia central y dispersión para los indicadores periodontales con datos continuos (nivel de inserción, profundidad de bolsa, índice de placa bacteriana).

6.10.2 Estadística analítica

Se hicieron comparaciones de los indicadores periodontales entre los individuos del grupo control y del grupo de FPG utilizando pruebas de McNemar para grupos pareados ajustados por sexo y edad aceptando hasta 1 o 2 años de diferencia.

Se utilizó la prueba Shapiro Wilk para determinar si las variables continuas presentaban distribución normal o no normal y de acuerdo con esto para las variables con distribución normal se aplicaron pruebas paramétricas y para las que presentaron distribución no normal se utilizó la prueba no paramétrica de Signos de Wilcoxon.

Se establecieron varios modelos diferentes de asociación y riesgo entre la presencia de periodontitis, establecida por los parámetros de la Academia Europea de Periodoncia y los parámetros de definición para el CDC/AAP; y variables asociadas al riesgo de desarrollar AR, que mostraron diferencias entre grupos en el análisis bivariado (ajustados por edad).

A todos los modelos de regresión se les realizó la prueba para un único modelo "*linktest*", la cual se basa en la significancia del χ^2 con un $p < 0,05$, con el fin de confirmar que se eligieron predictores significativos; adicionalmente con esta prueba establecimos si existió o no un error de especificación de acuerdo al valor del χ^2 no significativo ($p > 0,05$).

Posteriormente se ajustaron los modelos de regresión con posibles interacciones entre algunas de las variables de predicción, y a este nuevo modelo ajustado se le aplicó también la prueba para un único modelo "*linktest*".

Finalmente, para poder elegir correctamente el modelo adecuado se aplicó la prueba por el método de verosimilitud "*lrtest*" después de cada estimación, para comparar los dos modelos

(ajustado y no ajustado) por el criterio de información Bayesiana (BIC), eligiendo el de menor valor. Para estar completamente seguros del modelo a elegir se aplicó la prueba “*fitstat*”, la cual compara ambos modelos teniendo en cuenta la devianza por el criterio de Akaike (AIC) y también el criterio de información Bayesiana (BIC).

Se utilizó el paquete estadístico STATA versión 12 para Windows, Todos los análisis se hicieron con un nivel de significancia del 5 %.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este proyecto hace parte del proyecto denominado “Estado Clínico Periodontal y Reumatológico en un Grupo de Individuos con Riesgo de Desarrollar Artritis Reumatoide” el cual ha sido aprobado por los comités de ética de la Universidad El Bosque (código PCI 2013-469) (Anexo 1) y del Hospital Militar Central (código 2013-048) (Anexo 2).

El proyecto describe una investigación científica en seres humanos con un riesgo mínimo que estuvo sujeto a todo lo dispuesto en la resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. Esta investigación tuvo en cuenta los artículos a los que hace alusión dicha resolución en el capítulo I de los aspectos éticos de la investigación en humanos y por las características del estudio que lo clasifica como riesgo mínimo, todo participante firmó un consentimiento informado antes de iniciar el estudio (Anexo 3).

Adicionalmente, las muestras que se tomaron para procesamiento en los individuos que ingresaron a la consulta, son consideradas como riesgo mínimo para los participantes ya que corresponden a exámenes rutinarios que no generan riesgo adicional. Las muestras de sangre fueron tomadas por personal totalmente entrenado y el total de sangre a extraer está dentro del rango que determina este capítulo para su clasificación como riesgo mínimo.

8. RESULTADOS

8.1 CARACTERÍSTICAS SOCIO DEMOGRÁFICAS

En la Tabla 1 se muestra que en total en el grupo de FPG fueron incluidos 100 individuos y en el grupo control 200 individuos que fueron pareados por edad y género. El 70% fueron mujeres con un promedio de edad de (37.3±13 años). En el grupo control el 73% se desempeñaba laboralmente como empleados, siendo solo el 57% en el grupo control. El 6% de individuos del grupo FPG reportaron como actividad económica el hogar en contraste con un 20% de individuos en el grupo control. No hubo diferencias significativas respecto al nivel educativo en los grupos de comparación. Más del 90% de individuos reportaron haber completado estudios de bachillerato y más del 40% tenían educación universitaria.

Tabla 1. Variables sociodemográficas de individuos familiares en primer grado de pacientes con Artritis Reumatoide y controles

	FPG (n=100)	Controles (n=200)	Valor p
Edad			
Promedio±DS	37.3±13.3	37.3±13	0.0001
Mediana (min-max)	34.5 (18-67)	35 (18-69)	
	F (%)	F (%)	
Género			
Femenino	70 (70)	140 (70)	1
Masculino	30 (30)	60 (30)	
Actividad Económica			
Hogar	20 (20)	22 (11)	0.0067
Indep-Epleado	57 (57)	146 (73)	
Pensionado	7 (7)	20 (10)	
Estudiante	16 (16)	12 (6)	
Nivel Educativo			
Primaria	7 (7)	18 (9)	0.58
Bachillerato	34 (34)	44 (22)	
Técnico	18 (18)	42 (21)	
Universitario	41 (41)	96 (48)	

p<0.05 significativo por prueba de Mc Nemar o prueba de signos de Wilcoxon

8.2 CONDICIÓN PERIODONTAL

En la Tabla 2 se muestra que en el grupo FPG el 79% de los individuos tenían diagnóstico de enfermedad periodontal comparados con el grupo control con un 56% ($p \leq 0.001$), según los parámetros definidos por el CDC/AAP [Page & Eke, 2007]. De estos individuos, el 15% presentaban periodontitis severa en comparación con el grupo control, 9% ($p = 0.009$). Diferencias estadísticamente significativas también fueron observadas respecto a la condición periodontal cuando los criterios de la Academia Europea de Periodoncia son aplicados [Tonetti & Claffey, 2005]. Según este parámetro, el 84% de los individuos del grupo FPG tenían periodontitis comparados con el 75% observado en el grupo control ($p \leq 0.001$), sin encontrar diferencias en la severidad de la EP.

Adicional al diagnóstico de EP según los parámetros previamente mencionados, en el grupo FPG se observaron los más altos índices periodontales en comparación con el grupo control. Diferencias estadísticamente significativas fueron observadas para las siguientes variables periodontales: profundidad de bolsa (3.4 vs 3.1, respectivamente) ($p = 0.014$); nivel de inserción total (2.5 vs 1.7) ($p = 0.001$); nivel de inserción inter-proximal (2.4 vs 2.2) ($p \leq 0.018$); porcentaje de sitios interproximales con un nivel de inserción clínico mayor a 3 mm (0.2 vs 0.1) ($p = 0.001$); porcentaje de bolsas interproximales mayores de 5 mm (0.03 vs 0.01) ($p = 0.001$); promedio de índice de placa (0.54 vs 0.49) ($p = 0.027$) y promedio de número de dientes (25.8 vs 25.1) ($p = 0.004$).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los individuos del grupo FPG y el grupo control para índice de placa mayor 50%, promedio de inflamación gingival, inflamación gingival mayor del 50%, promedio de sangrado al sondaje y sangrado al sondaje mayor al 50%, esto se puede observar en las Tablas 2 y 3. Sin embargo, es clara la tendencia en el grupo de FPG a presentar índices más altos respecto a las variables periodontales en comparación con los individuos del grupo control.

Tabla 2. Indicadores clínicos de destrucción periodontal de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles.

	FPG (n=100) F (%)	Controles (n=200) F (%)	Valor p
Diagnóstico EP AEP			
Sano – Gingivitis	16 (16)	50 (25)	0.0000*
Moderado	75 (75)	133 (66.5)	
Severo	9 (9)	17 (8.5)	
Diagnóstico EP CDC-AAP			
Positivo	79 (79)	113 (56.5)	0.0000*
Negativo	21 (21)	87 (43.5)	
Severidad EP CDC-AAP			
Ninguna	21 (21)	87 (43.5)	0.0094*
Leve	12 (12)	22 (11)	
Moderada	52 (52)	73 (36.5)	
Severa	15 (15)	18 (9)	
Numero dientes			
Promedio±DS	25.8±4.6	25.1±4.7	0.0044*
Mediana (min-max)	28 (10-32)	27 (6-32)	
Numero dientes F (%)			
0-10	1 (1)	5 (2.5)	0.179
11-20	10 (10)	21 (12)	
>20	89 (89)	171 (85.5)	
Profundidad de bolsa–Total Boca			
Promedio±DS	3.4±1.96	3.1±2.23	0.0147*
Mediana (min-max)	4.1 (0-8.6)	4.0 (0-13)	
Nivel de Inserción-Total Boca			
Promedio±DS	2.5±2.71	1.7±2.24	0.0014*
Mediana (min-max)	1.90 (0-13)	0.89 (0-13)	
Promedio NIC interproximales mm SD			
Promedio±DS	2.4±0.9	2.2±0.8	0.0188*
Mediana (min-max)	2.4 (0.5-5.6)	2.1 (0-4.8)	
%Sitios interproximales con NIC> 3 mm			
Promedio±DS	0.2±0.24	0.18±0.21	0.0018*
Mediana (min-max)	0.2 (0-1)	0.10 (0-1)	
% interproximales bolsas > 5 mm			
Promedio±DS	0.03±0.05	0.012±0.03	0.0015*
Mediana (min-max)	0.005 (0-0.2)	0 (0-0.2)	

* $p < 0.05$ significativo por prueba de Mc Nemar o prueba de signos de Wilcoxon

Tabla 3. Indicadores inflamatorios de los tejidos periodontales de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles

	FPG (n=100) F (%)	Controles (n=200) F (%)	Valor p
Índice de placa			
0 – 30%	20 (20)	47 (23.5)	0.479
31-50%	20 (20)	55 (27.5)	
>50%	60 (60)	98 (49)	
Inflamación gingival			
0 – 30%	56 (56)	124 (62)	0.230
31-50%	21 (21)	36 (18)	
>50%	23 (23)	40 (20)	
Sangrado al sondaje			
0 – 30%	30 (30)	78 (39)	0.066
31-50%	33 (33)	71 (35.5)	
>50%	37 (37)	51 (25.5)	
Índice de placa			
Promedio±DS	0.54±0.23	0.49(0.23)	0.027*
Mediana (min-max)	0.5 (0-1)	0.4 (0-1)	
Inflamación gingival			
Promedio±DS	0.31±0.24	0.29(0.23)	0.19
Mediana (min-max)	0.27 (0-0.9)	0.23 (0-0.9)	
Sangrado al sondaje			
Promedio±DS	0.42±0.22	0.38(0.21)	0.15
Mediana (min-max)	0.41 (0-1)	0.38 (0-0.9)	

* $p < 0.05$ significativo por prueba de Mc Nemar o prueba de signos de Wilcoxon

8.3 VARIABLES REUMATOLÓGICAS

En cuanto a las variables reumatológicas (Tabla 4) no se encontraron diferencias respecto al porcentaje de individuos con consumo actual de tabaco en los dos grupos (13%). Sin embargo, en el grupo de FPG el porcentaje de individuos que nunca han consumido tabaco fue menor (59% vs 65 %, respectivamente).

Respecto al conteo articular, los individuos del grupo de FPG presentaron más articulaciones dolorosas (≥ 1) (23% vs 15%, respectivamente) y un porcentaje de articulaciones inflamadas (≥ 1) (3% vs 2%, respectivamente). No hubo diferencias respecto a la presencia del factor reumatoide o de los reactantes de fase aguda PCR y VSG entre los dos grupos. De igual forma no hubo diferencias en cuanto a la presencia de anticuerpos anti *P. gingivalis* tanto IgG1 (69% vs 68%) como IgG2 (68% vs 63%).

En el grupo de FPG la presencia de anticuerpos anti péptido citrulinado fue mayor comparado con el grupo control (7% vs 2.5%, respectivamente) ($p \leq 0.038$).

Al comparar los dos grupos respecto al índice de masa corporal y específicamente aquellos clasificados con obesidad según la definición de la OMS ($IMC \geq 30$) [World Health Organization, 2015], los individuos del grupo FPG presentaron mayor porcentaje de obesidad (17%) comparados con el grupo control (7.5%). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0.008$).

Tabla 4. Indicadores de riesgo y marcadores de riesgo de artritis reumatoide de individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide y controles

	FPG (n=100) F (%)	Controles (n=200) F (%)	valor p
Tabaquismo			
Nunca	59 (59)	131 (65.5)	0.24
Actual	13 (13)	27 (13.5)	
Fumó	28 (28)	42 (21)	
Obesidad			
<30	83 (83)	185 (92.5)	0.008*
>30	17 (17)	15 (7.5)	
Articulaciones dolorosas			
0	77 (77)	169 (84.5)	0.05
≥1	23 (23)	31 (15.5)	
Articuladores inflamadas			
0	97 (97)	196 (98)	0.52
≥1	3 (3)	4 (2)	
Diagnóstico Periodontitis CDC/AAP			
Positivo	79 (79)	113 (56.5)	0.000*
Negativo	21 (21)	87 (43.5)	
<i>P. gingivalis</i>			
Positivo	36 (36)	87 (43.5)	0.11
Negativo	64 (64)	113 (56.5)	
Anti-Pg IgG1			
Positivo	69 (69)	136 (68)	0.82
Negativo	31 (31)	64 (32)	
Anti-Pg IgG2			
Positivo	68 (68)	126 (63)	0.29
Negativo	32 (32)	74 (37)	
Anti-CCP			
Positivo	7 (7)	5 (2.5)	0.038*
Negativo	93 (93)	195 (97.5)	
VSG			
Aumentado	17 (17)	37 (18.5)	0.65
Normal	83 (83)	163 (81.5)	
PCR			
Aumentado	39 (39)	64 (32)	0.19
Normal	61 (61)	136 (68)	
FR			
Positivo	6 (6)	12 (6)	1
Negativo	94 (94)	188 (94)	

* $p < 0.05$ significativo por prueba de Mc Nemar o prueba de signos de Wilcoxon

8.4 MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA CONDICIONAL

Con el fin de establecer la asociación de la EP y otras variables asociadas a un riesgo aumentado a AR se desarrollaron varios modelos de regresión logística condicional. En el primer modelo de regresión logística condicional (Tabla 5) se incluyeron EP evaluada por los criterios de CDC-AAP, títulos de anti-CCP y obesidad que fueron asociados en los análisis bivariados ajustados a edad. Al comparar el modelo no ajustado y el ajustado basado en los valores del BIC fue elegido el modelo no ajustado, donde se observó una asociación de la presencia de EP -según los criterios del CDC/AAP- en el grupo de FPG (OR: 3.7, 95% IC 1.89 – 7.29), para a los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml (OR: 2.4, 95% IC 0.7 - 8.32) y para obesidad (OR: 2.9, 95% IC 1.03 - 8.28). Sin embargo, el intervalo de confianza no logró soportar la asociación entre los títulos de anti-CCP y FPG posiblemente por el tamaño de la muestra.

Tabla 5. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide – Anti-CCP, Diagnóstico EP CDC/AAP, Obesidad, ajustado a Edad.

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.4	0.72-8.32	Anti-CCP>20	11.8	0.07-1819.3
Periodontitis -	1		Periodontitis -	1	
Periodontitis +	3.7	1.88-7.29	Periodontitis +	7.63	1.07-54.3
Obesidad -	1		Obesidad -	1	
Obesidad +	2.9	1.03-8.28	Obesidad +	2.37	0.28-19.84
Edad	0.5	0.34-0.83	Edad	0.53	0.34-0.84

Periodontitis basada en definición de CDC/AAP. Obesidad= IMC>30. Edad= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, periodontitis, obesidad y edad.

Modelo justado= incluye Anti-CCP, periodontitis, obesidad, edad e interacción de Anti-CCP y Periodontitis con edad y obesidad.

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 3.96 p=0.41.

Diferencia en el BIC = 14.4

(Modelo no ajustado= -255.55, modelo ajustado = -241.09) da soporte para elegir el modelo no ajustado

En el segundo modelo de regresión logística condicional, eligiendo el modelo no ajustado (Tabla 6), se encontró asociación de los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml para el grupo de FPG (OR: 2.57, 95% IC 0.75 - 8.71). De igual forma se observó asociación de la severidad de la EP, según los criterios del CDC/AAP en el grupo de FPG (OR: 1.84, 95% IC 1.35 – 2.50), así como asociación con respecto a obesidad para el grupo de FPG (OR: 2.68, 95% IC 0.94 - 7.64). El comportamiento de los títulos de anti-CCP fueron similares que en el modelo 1.

Tabla 6. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares de pacientes con AR – Anti-CCP, Severidad EP CDC/AAP, Obesidad ajustado a edad

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.57	0.75-8.71	Anti-CCP>20	8.82	0.06-1160.2
Severidad -	1		Severidad -	1	
Severidad +	1.84	1.35-2.50	Severidad +	2.58	1.01-6.59
Obesidad -	1		Obesidad -	1	
Obesidad +	2.68	0.94-7.64	Obesidad +	6.87	1.16-40.34
Edad	0.54	0.35-0.84	Edad	0.53	0.33-0.82

Severidad basada en definición de CDC/AAP. Obesidad= IMC>30. Edad= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, severidad, obesidad y edad.

Modelo justado= incluye Anti-CCP, severidad, obesidad, edad e interacción de Anti-CCP y Severidad con edad y obesidad.

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 4.15 p=0.38.

Diferencia en el BIC = 14.2

(Modelo no ajustado= -256.16, modelo ajustado = -241.88) da soporte para elegir el modelo no ajustado)

En el tercer modelo de regresión logística condicional (Tabla 7), eligiendo el modelo no ajustado, se encontró asociación de los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml para este grupo (FPG) (OR: 2.58, 95% IC 0.80-8.27); así como la asociación de obesidad (OR: 2.7, 95% IC 1 - 7.29). También se observó asociación de la presencia de EP según los criterios de diagnóstico de la Academia Europea de Periodoncia en el grupo de FPG (OR: 1.61, 95% IC 0.91 – 2.85). Sin embargo, el intervalo de confianza no soporta esta asociación.

Tabla 7. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares de pacientes con AR – Anti-CCP, Diagnóstico EP AEP y Obesidad, ajustado a Edad

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.58	0.80-8.27	Anti-CCP>20	3.01	0.02-350.7
Periodontitis -	1		Periodontitis -	1	
Periodontitis +	1.61	0.91-2.85	Periodontitis +	3.36	0.6-18.78
Obesidad -	1		Obesidad -	1	
Obesidad +	2.70	1-7.29	Obesidad +	9.31	1.22-70.7
Edad	0.53	0.35-0.82	Edad	0.52	0.33-0.81

Periodontitis basada en definición de AEP. Obesidad= IMC>30. Edad= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, periodontitis, obesidad y edad.

Modelo justado= incluye Anti-CCP, periodontitis, obesidad, edad e interacción de Anti-CCP y Periodontitis con edad y obesidad.

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 4.00 p=0.40.

Diferencia en el BIC = 14.4

(Modelo no ajustado= -241.70, modelo ajustado = -227.28) da soporte para elegir el modelo no ajustado)

En el cuarto modelo de regresión logística condicional ajustado a número de dientes, eligiendo el modelo no ajustado (Tabla 8), se encontró asociación del grupo FGP con el número de dientes presentes en boca (OR: 1.08, 95% IC 1.0 – 1.16). La asociación de la presencia de EP en el grupo de FPG según los criterios de diagnóstico de la Academia Europea de Periodoncia y los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml para este grupo (FPG) (OR: 2.75, 95% IC 0.85 - 8.86) pierden la asociación por el intervalo de confianza (OR: 1.71, 95% IC 0.97 – 3.02).

Tabla 8. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares de pacientes con AR – Anti-CCP, Diagnóstico EP AEP ajustado a Número de Dientes

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.75	0.85-8.86	Anti-CCP>20	23.6	0.02-19915.3
Periodontitis -	1		Periodontitis -	1	
Periodontitis +	1.71	0.97-3.02	Periodontitis +	1.94	0.13-27.41
Número de Dientes	1.08	1-1.16	Número de Dientes	1.09	0.94-1.25

Periodontitis basada en definición de AEP. Número de dientes= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, periodontitis y número de dientes

Modelo justado= incluye Anti-CCP, periodontitis, número de dientes e interacción de Anti-CCP y Periodontitis con número de dientes

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 0.46 p=0.79.

Diferencia en el BIC = 8.74

(Modelo no ajustado= -237.21, modelo ajustado = -228.46) da soporte para elegir el modelo no ajustado)

En el quinto modelo de regresión logística condicional ajustado al número de dientes presentes (Tabla 9), eligiendo el modelo no ajustado, se encontró asociación de los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml para el grupo de FPG (OR: 2.28, 95% IC 0.69 - 7.47); así mismo se observó asociación de la presencia de EP según los criterios del CDC/AAP en el grupo de FPG (OR: 3.55, 95% IC 1.87 – 6.73), así como la asociación del número de dientes presentes en boca para este grupo (OR: 1.08, 95% IC 1.0 - 1.17).

Tabla 9. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares de pacientes con AR – Anti-CCP, diagnóstico EP CDC/AAP ajustado a número de dientes

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.28	0.69-7.47	Anti-CCP>20	4.98	0-5126.3
Periodontitis -	1		Periodontitis -	1	
Periodontitis +	3.55	1.87-6.73	Periodontitis +	70.07	0.29-16.790
Número de Dientes	1.08	1-1.17	Número de Dientes	1.19	0.98-1.46

Periodontitis basada en definición de CDC/AAP. Número de dientes= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, periodontitis y número de dientes.

Modelo justado= incluye Anti-CCP, periodontitis, número de dientes e interacción de Anti-CCP y Periodontitis con número de dientes.

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 1.48 p=0.47.

Diferencia en el BIC = 7.72

(Modelo no ajustado= -251.19, modelo ajustado = -243.46) da soporte para elegir el modelo no ajustado

En el último modelo de regresión logística condicional (Tabla 10), eligiendo el modelo ajustado, se encontró asociación de los títulos de anti-CCP mayor 20 U/ml para este grupo (FPG) (OR: 2.44, 95% IC 0.72 - 8.19). Igualmente, se observó asociación de la severidad de la EP según los criterios del CDC/AAP en el grupo de FPG (OR: 1.84, 95% IC 1.37 – 2.48), así como la asociación del número de dientes presentes en boca (OR: 1.08, 95% IC 1 - 1.17).

Tabla 10. Modelo de regresión logística condicional para indicadores asociados a la condición de familiares de pacientes con AR – Anti-CCP, severidad CDC/AAP ajustado a número de dientes.

Variables	Modelo no ajustado		Variables	Modelo ajustado	
	OR	IC 95%		OR	IC 95%
Anti-CCP<20	1		Anti-CCP<20	1	
Anti-CCP>20	2.44	0.72-8.19	Anti-CCP>20	4.17	0-3308.3
Severidad -	1		Severidad -	1	
Severidad +	1.84	1.37-2.48	Severidad +	4.96	0.63-38.7
Número de Dientes	1.08	1.00-1.17	Número de Dientes	1.16	0.98-1.36

Periodontitis basada en definición de CDC/AAP. Número de dientes= continua

Modelo no ajustado= incluye Anti-CCP, severidad y número de dientes.

Modelo justado= incluye Anti-CCP, severidad, número de dientes e interacción de Anti-CCP y periodontitis con Número de dientes

Comparación del modelo no ajustado vs modelo ajustado: Likelihood ratio 1.06 p=0.58.

Diferencia en el BIC = 8.15

(Modelo no ajustado= -252.72, modelo ajustado = -244.57) da soporte para elegir el modelo no ajustado

9. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue evaluar las variables socio demográficas, el estado clínico tanto periodontal como reumatológico y los niveles de anticuerpos anti *P. gingivalis* en un grupo de individuos familiares de primer grado de pacientes con diagnóstico de AR (FPG), y comparar estas variables con un grupo control de individuos sanos de la población general. Encontramos en el grupo de individuos FPG una asociación estadísticamente significativa con el diagnóstico y severidad de periodontitis crónica, el índice de masa corporal ≥ 30 y la presencia de anticuerpos anti péptido citrulinados ≥ 20 U/ml, en comparación con el grupo control. Sin embargo, los intervalos de confianza para la variable de anti-CCP cruzaron la unidad, por lo cual la fuerza de asociación se debilita y su interpretación se debe realizar en ese contexto, lo anterior puede ser consecuencia del tamaño de la muestra.

La EP y la AR son patologías crónicas que presentan mecanismos similares desde el punto de vista inflamatorio y de compromiso óseo. En nuestro estudio encontramos asociación del diagnóstico de enfermedad periodontal en el grupo de FPG (OR: 3.7, 95% IC 1.89 – 7.29) y de mayor severidad en comparación con el grupo control. Este hallazgo es consistente con estudios previos, en los cuales la presencia de periodontitis mostro asociación (OR: 3.39) en individuos con pre-AR [Bello-Gualtero et al., 2016]. Lo anterior soporta la asociación epidemiológica observada entre periodontitis y AR establecida [Kaur et al., 2013]. Adicional al diagnóstico de periodontitis en el grupo de individuos FPG se observaron los más altos índices periodontales en comparación con el grupo control especialmente profundidad de bolsa y nivel de inserción clínica total e inter-proximal. Probablemente estas variables periodontales podrían constituirse en variables clínicas que permitan determinar la progresión a AR o incluso variables de pronóstico en estadios tempranos de la enfermedad. Futuros estudios podrían permitirnos confirmar esta hipótesis. Adicionalmente, estudios previos en nuestra población en pacientes con Pre-RA y AR temprana han mostrado que presentan mayores índices de inflamación periodontal comparados con un grupo control [Bello-Gualtero et al., 2016].

P. gingivalis es un microorganismo asociado con aumento del riesgo de desarrollar enfermedad periodontal y de recurrencia de esta patología [Mysak et al., 2014]. En pacientes con AR establecida, varios estudios han documentado títulos significativamente elevados de anticuerpos anti *P. gingivalis* e incluso para otros patógenos periodontales [Mikuls et al, 2012b]. En los individuos con AR, la evidencia de infección crónica por *P. gingivalis* está fuertemente asociada

especialmente con la presencia de anticuerpos anti-CPP [Hitchon, 2010; Haffajee & Socransky, 2014]. Sin embargo, en el estudio actual, aunque los títulos de anticuerpos anti *P. gingivalis* fueron más altos en el grupo de FPG comparados con el grupo control, no encontramos diferencias significativas tanto IgG1 como IgG2. Lo anterior podría ser consecuencia de la alta prevalencia de enfermedad periodontal en la población general. En contraste, en un estudio reciente en población colombiana los anticuerpos IgG2 contra *P. gingivalis* fueron asociados como indicador de infección periodontal, con la presencia de biomarcadores clínicos de AR y fueron asociados con altos niveles de anticuerpos anti-CCP. De forma similar a nuestros hallazgos en el estudio actual, no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de anticuerpos IgG1 - IgG2 entre los individuos pre-AR y el grupo control [Bello-Gualtero et al., 2016].

El estudio nacional de salud bucal ENSAB IV [Ministerio de Salud, 2014] reportó que la EP afecta al 27,24% de la población con edades entre los 20-34 años, En cuanto a los adultos jóvenes, con edades entre los 35 a 44 años, la EP afecta al 51,74%, dentro del rango de edad de 45 a 64 años la EP afecta al 80,92% de la población y finalmente en la población con edad mayor a 65 años se observó que la EP afecta al 93,16% de los casos. Esto podría estar relacionado con la mayor presencia de patógenos periodontales (incluida la *P. gingivalis*) y por lo tanto mayor prevalencia de anticuerpos anti *P. gingivalis* en la población general [Lafaurie et al., 2007; Botero et al., 2007; Moreno et al., 2015].

El impacto del sobrepeso y obesidad en el desarrollo y progresión de AR y su papel como factor pronóstico y de severidad en esta patología ha sido previamente evaluado- Aunque dichos estudios han sido contradictorios, es importante mencionar que estos trabajos se han realizado en pacientes con AR en estadios tempranos y en aquellos con AR ya establecida [Sandberg et al., 2014; Baker et al., 2014]. Aunque estos resultados no han sido claramente concluyentes respecto al papel y el impacto que podría tener la obesidad en AR, estos resultados podrían reflejar de alguna forma que la edad, el tiempo de diagnóstico y la severidad de la AR influyen de forma significativa e independiente en la fuerza de asociación con el IMC. En otras palabras, estas variables en los pacientes con AR podrían representar grados variables de asociación con la obesidad, en los cuales el riesgo se modifica dependiendo de la edad, severidad y tiempo de evolución de la enfermedad.

Recientemente, Lu et al., investigó la asociación del incremento del IMC en diferentes grupos etarios y el riesgo de desarrollar AR en una cohorte prospectiva de mujeres [Lu et al., 2014].

Encontró un incremento del riesgo de AR entre el 40 y 70% en aquellas mujeres con sobrepeso (HR 1.37 IC 95% 0.95-1.98) y aquellas con obesidad 1.37 (IC 95% 0.91-2.09). Esta asociación fue más fuerte cuando el diagnóstico se realizaba en mujeres jóvenes ≤ 55 años tanto para sobrepeso (HR: 1.45) como para obesidad (HR: 1.65). Nuestros resultados son consistentes con este hallazgo, donde encontramos asociación con el aumento de IMC en el rango de obesidad definido por la OMS ($IMC \geq 30$) en aquellos individuos del grupo FPG (OR: 2.9, 95% IC 1.03 - 8.28) quienes tenían un promedio de edad de 37.3 (± 13.3) años.

Es claro que existen factores asociados al huésped que determinan un incremento de desarrollar AR [Yarwood et al., 2016]. Entre ellos se encuentran aquellos definidos por el grupo de trabajo de EULAR dirigidos a identificar individuos de alto riesgo no solo desde el punto de vista genético sino también ambiental [Gerlag et al., 2012; Jutley et al., 2015]. En este aspecto existe plausibilidad biológica para implicar la obesidad en la patogénesis de AR. El tejido adiposo secreta a la circulación sistémica adipocinas producidas por los adipocitos y también por los macrófagos residentes en el tejido adiposo. Estas adipocinas presentes en los individuos con sobrepeso u obesidad secretan marcadores inflamatorios tales como: leptina, TNF- α , IL-6, interleucina-1 β (IL-1 β), proteína quimio-táctica del monocito (*del inglés monocyte chemotactic protein-1 MCP-1*), y factor inhibitorio de la migración (*del inglés macrophage migration inhibitory factor MIF*) [Trayhurn & Wood, 2005; Panagiotakos et al., 2005] entre otras. Adicionalmente, inducen la secreción de marcadores inflamatorios y especialmente reactantes de fase aguda como la PCR [Soriano-Guillen et al., 2008]. El incremento de la concentración sérica de estos marcadores inflamatorios, muchos de los cuales participan en la fase aguda de la respuesta inmunológica, podrían estar relacionados con el proceso de iniciación de inflamación subclínica de bajo grado a nivel sistémico. La activación de este proceso podría estar mediado por el incremento del reclutamiento de monocitos y pre-adipocitos y la posterior maduración a macrófagos [Bocca et al., 2014]. Lo anterior refleja el papel central que tiene el adipocito en la iniciación y regulación de la respuesta inflamatoria, relacionado con la liberación sistémica de las sustancias previamente mencionadas.

Varios estudios han mostrado niveles significativamente elevados de estos marcadores inflamatorios en individuos con AR pre-clínica [Karlson et al., 2009; Deane et al., 2010; Kokkonen et al., 2010]. La presencia de citocinas pro-inflamatorias tales como IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7 e IL-17 antes del inicio de síntomas clínicos permiten soportar la hipótesis de que el desarrollo de AR esta mediado por el papel del sistema inmunológico, particularmente en las fases de iniciación

de la enfermedad. Por lo tanto, el análisis y estudio de las fuentes tisulares de estas citocinas que son liberadas en las fases pre-clínicas, podrían brindar la oportunidad de predecir el riesgo de desarrollar AR basados en modelos de detección e identificación temprana. Lo anterior cobra mayor importancia, teniendo en cuenta la evidencia que sugiere que este proceso no está necesariamente localizado en la membrana sinovial, sino en tejidos extra articulares como el tejido graso. De igual forma una revisión sistemática realizada recientemente, encontró asociación entre la presencia de sobrepeso y obesidad con el nivel de actividad inflamatoria en pacientes con AR y sugiriendo una relación de dependencia entre la actividad inflamatoria y la cantidad de masa magra corporal [Alvarez-Nemegyei et al., 2015]. Los estados de hiperadipocidad relacionados con el contenido de grasa magra estarían relacionados con la modulación de carga inflamatoria y por lo tanto asociados al nivel de actividad de la enfermedad y el estado clínico de estos individuos. Por consiguiente, podríamos considerar según nuestros resultados que el riesgo de desarrollar AR podría estar presente en individuos con obesidad/sobrepeso en fases preclínicas o asintomáticas de la enfermedad, especialmente en aquellos individuos con susceptibilidad genética a desarrollarla (e.g., familiares de pacientes con diagnóstico ya establecido de AR).

Otra variable interesante de profundizar y analizar, es la presencia de los anticuerpos anti-CCP. En el presente estudio, la presencia de anticuerpos anti péptido citrulinados presentó asociación en los individuos del grupo FPG (OR: 2.4, 95% IC 0.7 - 8.32) en comparación con el grupo control. Aunque los intervalos de confianza no soportan completamente esta asociación posiblemente por el tamaño de la muestra, los hallazgos de este estudio llaman la atención de los procesos tempranos de citrulinación en individuos en riesgo de desarrollar AR. Esto refleja que el impacto que puede tener el proceso de la citrulinación incluso en estadios preclínicos de la enfermedad o en grupos de mayor riesgo, en este caso, en familiares de primer grado de pacientes con AR. La citrulinación es un proceso bioquímico que induce la pérdida de tolerancia inmunológica, a través de la generación de neo-epítopes alterando la arquitectura tridimensional de las proteínas modificadas, en este caso los residuos de arginina [Klareskog et al., 2008]. Los anticuerpos dirigidos contra proteínas citrulinadas, son biomarcadores sensibles y específicos que pueden ser detectados incluso varios años antes de la aparición de síntomas clínicos en pacientes con AR [van Gaalen et al., 2005].

En individuos susceptibles, el proceso de citrulinación podría iniciar la cascada de eventos que llevan a la inducción de AR, incluyendo aquellos individuos familiares de primer grado con AR.

Incluso, la base genética de esta asociación describe estudios en donde los individuos que presentan el epítipo compartido presentan con mayor afinidad péptidos citrulinados. Estos anticuerpos dirigidos contra péptidos citrulinados se han encontrado particularmente en individuos EC positivos y menos frecuentemente en individuos EC negativos. Esto sugeriría que existe una presentación de antígenos citrulinados que estaría restringida por el EC a través de interacciones moleculares de alta afinidad entre los péptidos citrulinados y los alelos HLA [Hill et al., 2003]. Además, se ha encontrado que pacientes con AR establecida con títulos positivos de anti-CCP, tienen más probabilidad de tener periodontitis moderada a severa comparado con individuos en los cuales estos anticuerpos estaban ausentes [Dissick et al., 2010]. En este contexto, es claro que la AR podría desencadenarse por una respuesta autoinmune dirigida a proteínas citrulinadas a través de la síntesis de estos auto-anticuerpos producidos en la membrana sinovial [Wegner et al., 2010]. O igualmente, de forma alternativa se podría considerar que el mecanismo de citrulinación se desarrollaría en el tejido periodontal como origen tisular de la síntesis de estos auto-anticuerpos particularmente dirigidos contra antígenos como la enolasa y el fibrinógeno en el periodonto [Wegner et al., 2010]. La EP guarda estrecha relación y asociación epidemiológica con AR constituyendo un factor de riesgo adicional y un factor desencadenante de inicio y progresión del compromiso articular inflamatorio [Lundberg et al., 2010] Lo anterior se sustenta en trabajos que sugieren que la citrulinación extra-articular y el subsecuente proceso de producción de anti-CCP, es un evento inmunológico que podría ocurrir también en el tejido periodontal [Bright et al., 2015]. Por lo tanto, la presencia de estos anticuerpos dirigidos hacia proteínas citrulinadas en individuos con alto riesgo de desarrollar AR (FPG) podría incrementar aún más el riesgo de desarrollar AR. Incluso la presencia de anti-CCP en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR también podría incrementar el riesgo de desarrollar periodontitis.

De igual forma, hasta el momento no está claramente establecido el papel que podría tener la infección por *P. gingivalis* en la inducción de los anticuerpos anti-CCP en los individuos con alto riesgo de desarrollar AR. Incluso los estudios que han evaluado la presencia de *P. gingivalis* en AR han incluido pacientes con AR establecida, por lo que no es posible saber con certeza si la infección con *P. gingivalis* precede el comienzo de la AR o si la infección por *P. gingivalis* es posterior a la aparición de la enfermedad [Mikuls et al., 2012a]. Según nuestros resultados, la presencia de anticuerpos anti *P. gingivalis* no presentó asociación en los individuos del grupo FPG y por lo tanto podrían no tener utilidad adicional como factor predictor de progresión y/o desarrollo de AR en individuos con alto riesgo de desarrollar esta patología y es importante

considerar el seguimiento clínico tanto periodontal como articular de estos sujetos. Sin embargo, hasta nuestro conocimiento, pocos estudios previos han evaluado la presencia de estos anticuerpos en individuos con riesgo de desarrollar AR [Scher et al., 2012].

La información publicada en la literatura reporta la asociación de la condición periodontal, el IMC y los anticuerpos anti-CCP, en pacientes con AR establecida. Por lo tanto, es relevante obtener información de individuos en estadios muy tempranos previos a la aparición de síntomas clínicos e inclusive en individuos con alto riesgo de desarrollar la patología (según las recomendaciones EULAR para la investigación de individuos en riesgo de desarrollar AR) [Gerlag et al., 2012]. El estudio de factores predictores de inicio de AR en individuos de alto riesgo, constituye un área de estudio de creciente interés en el campo de la Reumatología en los últimos años. Inclusive esta área de estudio ha incrementado el interés de esclarecer con mayor profundidad factores de riesgo, asociaciones epidemiológicas e incluso intervenciones de impacto en salud pública encaminadas a prevenir el inicio de AR.

Este estudio tiene fortalezas y debilidades. Dentro de las debilidades está el diseño transversal del estudio. El seguimiento prospectivo de este grupo de pacientes podría aportar información relevante y relacionada de los casos incidentes de AR, el cual la línea de investigación está desarrollando actualmente, según convocatoria de Colciencias 657-2014. Este seguimiento permitiría establecer asociaciones de factores de riesgo adicional y permitiría confirmar nuestros hallazgos. En el presente estudio no se realizó medida del perímetro abdominal en los individuos del grupo FPG. El perímetro abdominal ha mostrado asociación no solo con el índice de masa corporal y obesidad, sino también que constituye un factor de riesgo asociado con patologías crónicas inflamatorias como el síndrome metabólico, diabetes mellitus y enfermedad cardiovascular. Sin embargo, hasta nuestro conocimiento este es uno de los primeros estudios que compara un grupo de individuos con alto riesgo genético de desarrollar AR en una muestra pareada con edad y género en una relación 2:1 con un grupo de individuos sanos de la población general. Lo anterior le confiere al estudio mayor solidez de los resultados desde el punto de vista metodológico.

10. CONCLUSIONES

La obesidad, la presencia de anticuerpos anti-CCP, el diagnóstico de EP y su severidad en conjunto pueden ser consideradas variables de riesgo importantes en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR lo cual induce al seguimiento y monitoreo de esta población.

El impacto del manejo interdisciplinario y de las medidas de control de peso, actividad física y de tamizaje de la condición periodontal en individuos asintomáticos con alto riesgo de desarrollar la enfermedad tales como los familiares de primer grado, debe ser estudiado y analizado en futuros estudios que permitan establecer el alcance de estas medidas de intervención.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez-Nemegyei J, et al. Asociación entre composición corporal y actividad inflamatoria en artritis reumatoide. Una revisión sistemática. *Reumatol Clin* 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reuma.2015.09.001>.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1–6.
- Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun* 2010;34:J258-J265.
- Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006;65:845–851.
- Baeten D, Peene I, Union A, Meheus L, Sebbag M, Serre G. Specific of intracellular citrullinated proteins in rheumatoid arthritis synovium: relevance to antifilaggrin autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2001 44:2255-62.
- Baker JF, Ostergaard M, George M, et al. Greater body mass independently predicts less radiographic progression on X-ray and MRI over 1–2 years. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1923–8.
- Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR. Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. *J Periodontol* 2005;76:2066–74.
- Bautista -Molano W, Unriza -Puin SR, Munevar JC, Lafaurie GI, Valle Oñate RR, Romero-Sánchez MC. Papel de la enfermedad periodontal en el desarrollo de entidades inflamatorias de etiología autoinmune: implicaciones clínicas y desafíos terapéuticos. *Revista Colombiana de Reumatología* 2012;19(2):84–91.
- Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2004;75:330-337.
- Bello-Gualtero JM, LafaurieGI, Hoyos LX, Castillo DM, De-Avila J, Munevar JC, et al. Periodontal Disease in individual a genetic risk of developing arthritis and early rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *J Periodontol* 2016;87(4):346-56.
- Berglin E, Padyukov L, Sundin U, et al. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004;6:R303–8.

- Bocca G, Stolk P, Wolffenbuttel B, Sauer P. Effect obesity intervention programs on adipokines, insulin resistance, lipid profile, and low-grade inflammation in 3-to 5-y-old children. *Pediatr Res* 2014;75:352-357.
- Bos WH, Wolbink GJ, Boers M, Tijhuis GJ, de Vries N, van der Horst-Bruinsma IE, et, al. Arthritis development in patients with arthralgia is strongly associated with anti-citrullinated protein antibody status: a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis* 2010;69(3):490-4.
- Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce RM. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in a Colombian population. *J Periodontol.* 2007; 78(4): 696–704.
- Böttiger LE, Carlson LA. Risk factors for death for males and females. A study of the death pattern in the Stockholm prospective study. *Acta Med Scand* 1982 211:437-442.
- Bright R, Proudman SM, Rosenstein ED, Bartold PM. Is there a link between carbamylation and citrullination in periodontal disease and rheumatoid arthritis? *Med Hypotheses* 2015;84(6):570.
- Castillo DM, Sánchez-Beltran MC, Castellanos JE, Sanz I, Mayorga-Fayad I, Sanz M, et al. Detection of specific periodontal microorganisms from bacteraemia samples after periodontal therapy using molecular based diagnostics. *J Clin Periodontol* 2011;38(5):418.
- Cecil RL, Angevine DM. Clinical and experimental observations on focal infection with an analysis of 200 cases of rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 1938;12:577-84.
- Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuhiko S, et al. Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2005;44(1):40-50.
- Colombo AV, Da Silva CM, Haffajee A, Colombo A. Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization. *J Periodont Res* 2007;42(3):236-243.
- Conde J, Scotece M, López V, Gómez R, Lago F, Pino J, et al. Adipokines: novel players in rheumatic diseases. *Discov Med.* 2013;15(81):73–83.
- Cowley MA, Brown WA, Considine RV. Obesity: the problem and its management. In: Jameson JL, De Groot LJ, de Kretser DM, et al. *Endocrinology: Adult and Pediatric.* 7th ed. Philadelphia, Elsevier Saunders; 2015: chap 26.
- Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1992;56:320-328.
- De Heredia FP, Gomez-Martinez S, Marcos A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proc Nutr Soc* 2012;71:332–8.

- de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, et al. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2009;5:218–24
- de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol* 2008;35(1):70-76.
- de Smith MJ, Westra J, Vissink A, Doornbos-van der Meer B, Brouwer E, van Winkelhoff AJ. Periodontitis in established rheumatoid arthritis patients: a cross-sectional clinical, microbiological and serological study. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(5):R222.
- de Smith MJ, Brouwer E, Vissink A, van Winkelhoff AJ. Rheumatoid arthritis and periodontitis; a possible link via citrullination. *Anaerobe* 2011;17(4):196-200.
- Deane KD, O'Donnell CI, Hueber W, et al. The number of elevated cytokines and chemokines in preclinical seropositive rheumatoid arthritis predicts time to diagnosis in an age-dependent manner. *Arthritis Rheum* 2010;62:3161–72.
- Delgado-Vega AM, Martin J, Granados J, Anaya JM. Epidemiología genética de la artritis Reumatoide: ¿qué esperar de América Latina? *Biomedica* 2006;26:562-84.
- De Stefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM. Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *Brit Med J* 1993;306(6879):688-91.
- Dissick A, Redman RS, Jones M, Rangan BV, Reimold A, Griffiths GR, et al. Association of periodontitis with rheumatoid arthritis: a pilot study. *J Periodontol*. 2010;81:223–30.
- Editorial. FOCAL infection. *J Am Med Assoc* 1952;150(5):490-1.
- Finckh A, Turesson C. The impact of obesity on the development and progression of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014;73(11):1911-3.
- Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LG, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, et al. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012;71(5):638
- Gomez R, Conde J, Gomez Reino JJ, Lago F, Gualillo O. [Adipocytokines: emerging mediators of the immune response and inflammation] [in Spanish]. *Reumatol Clin*. 2009;5 Suppl 1:6-12.
- György B, Tóth E, Tarcsa E, Falus A, Buzás EI. Citrullination: a posttranslational modification in health and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(10):1662-1677.
- Haffajee, AD. & Socransky, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol*. 2000 2014;5:78 – 111.
- Hall FC, Weeks DE, Camilleri JP, Williams LA, Amos N, Darke C. Influence of the HLA-DRBQ locus on susceptibility and severity in rheumatoid arthritis. *Qjm* 1996;89:821-9.

- Havemose-Poulsen A, Westergaard J, Stoltze K, Skjodt H, Danneskiold-Samsøe B, Locht H, et al. Periodontal and hematological characteristics associated with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis 2006;77(2):280-8.
- Heliövaara M, Aho K, Aromaa A, Knekt P, Reunanen A. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1993;20(11):1830-5.
- Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol* 2003;171:538–541
- Hitchon CA, et al. Antibodies to porphyromonas gingivalis are associated with anticitrullinated protein antibodies in patients with rheumatoid arthritis and their relatives. *J Rheumatol*. 2010;37:1105 – 1112.
- Hochberg MC, Spector TD. Epidemiology of rheumatoid arthritis: update. *Epidemiol Rev* 1990;12:247-252.
- Hocking WG, Golde DW. The pulmonary alveolar macrophage (first of two parts). *N Engl J Med* 1979;301:580-7.
- Hunter W. Oral sepsis as a cause of disease. *Br Med J* 1900;2(2065):215-6.
- Hunter W. The role of sepsis and antiseptics in medicine. *Lancet* 1911;1:79-86.
- Inagaki S, Ishihara K, Yasaki Y, Yamada S, Okuda K. Antibody responses of periodontitis patients to gingipains of Porphyromonas gingivalis. *J Periodontol*. 2003;74:1432-9.
- Ioan-Facsinay A, Willemze A, Robinson DB, et al. Marked differences in fine specificity and isotype usage of the anti-citrullinated protein antibody in health and disease. *Arthritis Rheum* 2008;58:3000 – 8.
- Jaramillo A, Lafaurie GI, Millán LV, Ardila CM, Duque A, Novoa C, et al. Association between periodontal disease and plasma levels of cholesterol and triglycerides. *Colomb Med* 2013;44 (2):80-6.
- John S, Myerscough A, Marlow A, Hajeer A, Silman A, Ollier W. Linkage of cytokine genes to rheumatoid arthritis Evidence of genetic heterogeneity. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:361.
- Jorgensen KT, Wiik A, Pedersen M, et al. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in pre-morbid and post diagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann Rheum Dis* 2008;67:860–6.
- Jutley G, Raza K, Buckley CD. New pathogenic insights into rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2015;27:249-55.

- Karlson EW, Chibnik LB, Tworoger SS, et al. Biomarkers of inflammation and development of rheumatoid arthritis in women from two prospective cohort studies. *Arthritis Rheum* 2009;60:641.
- Kässer UR, Gleissner C, Dehne F et al. Risk for periodontal disease in patients with longstanding rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;40:2248-51.
- Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res* 2013;92(5):399-408.
- Kinane DF, Marshall GJ. Periodontal manifestations of systemic disease. *Aust Dent J* 2001;46(1):2–12.
- Kinloch A, Lundberg K, Wait R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJ, et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58(8):2287-2295.
- Klareskog L, Rönnelid J, Lundberg K, Padyukov L, Alfredsson L. Immunity to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:651-675.
- Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006;54:38–46.
- Kokkonen H, Soderstrom I, Rocklov J, et al. Up-regulation of cytokines and chemokines predates the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62:383–91.
- Kurreeman FA, Padyukov L, Marques RB, Schrodi SJ, Seddigzadeh M, Soeken-Rijsbergen G. A candidate gene approach identifies the TRAF1/C5 region as a risk factor for rheumatoid arthritis. *PLoS Med* 2007;4:e278.
- Lafaurie G, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicentre study. *J Periodontol*, 2007; 78: 629–39.
- Lee AT, Li W, Liew A, Bombardier C, Weisman M, Massarotti. The PTPN22 R620W polymorphism associates with RF positive rheumatoid arthritis in a dose-dependent manner but not with HLA-SE status. *Genes Immun* 2005;6:129-33.
- Lu B, Hiraki L, Sparks JA, et al. Being overweight or obese and risk of developing rheumatoid arthritis among women: a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1914–22.
- Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6(12):727-730.

- Lv Q, Yin Y, Li X, Shan G, Wu X, Liang D, et al. The status of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody are not associated with the effect of anti-TNF [alpha] agent treatment in patients with rheumatoid arthritis: A meta-analysis: e89D442. PLoS One 2014;9(2).
- MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000;43:30-37
- Majka DS, Deane KD, Parrish LA, Lazar AA, Barón AE, Walker CW, et al. Duration of preclinical rheumatoid arthritis-related autoantibody positivity increases in subjects with older age at time of disease diagnosis. *Ann Rheum Dis* 2008;67(6):801-807.
- Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema. *Eur Respir J* 2001;17: 946-953.
- Malmstrom M, Calonius PE. Teeth loss and the inflammation of teeth-supporting tissues in rheumatoid disease. *Scand J Rheumatol* 1975;4:49-55
- Mangat P, Wegner N, Venables PJ, Potempa J. Bacterial and human peptidylarginine deiminases: targets for inhibiting the autoimmune response in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther* 2010;12(3):209.
- Maresz KJ, Hellvard A, Sroka A, Adamowicz K, Bielecka E, Koziel J, et al. *Porphyromonas gingivalis* Facilitates the development and progression of destructive arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). *PLoS Pathog* 2013;9(9):e1003627.
- Marotte H, Farge P, Gaudin P, Alexandre C, Mouglin B, Miossec P. The association between periodontal disease and joint destruction in rheumatoid arthritis extends the link between the HLA-DR shared epitope and severity of bone destruction. *Ann Rheum Dis* 2006;65:905-909.
- Matthey DL, Hutchinson D. Smoking and HLA-DR shared epitope alleles in rheumatoid arthritis: comment on the article by Padyukov et al. *Arthritis Rheum* 2005;52:3676-78.
- Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesaniemi YA, Syrjala SL, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction. *Brit Med J* 1989;298(6676):779-81.
- Mayo CH. Focal infection of dental origin. *Dental Cosmos. J Am Dent Assoc* 1922;64:1206.
- McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J: Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidyl arginine deiminase. *Infect Immun* 1999;67:3248-56.

- Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Dubois A, Nicaise-Roland P, Sibilia J, Combe B. Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Ann Rheum Dis* 2003;62:120–126.
- Michalowicz, B. s. et al. Periodontal findings in adult twins. *J. Periodontol* 1991;62:293.
- Mikuls TR, Thiele GM, Payne JB. Periodontitis and Porphyromonas gingivalis: Possible Roles in Rheumatoid Arthritis Risk and Progression. *International Journal of Clinical Reviews* 2012a.
- Mikuls TR, Thiele GM, Deane KD, Payne JB, O'Dell JR, Yu F, et al. Porphyromonas gingivalis and disease related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2012b;64(11):3522-3530.
- Miller WD. The human mouth as a focus of infection. *Dental Cosmos. J Am Dent Assoc* 1891;3:689-13.
- Ministerio de Salud. Estudio Nacional de Salud Bucal ENSAB IV. Situación de Salud Bucal. Sistema Internacional de Clasificación de la Enfermedad Periodontal y Condiciones Asociadas. Bogotá (DC): Ministerio de Salud; 2014.
- Moen K, Brun JG, Valen M, Skartveit L, Eribe EK, Olsen, et al. Synovial inflammation in active rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis facilitates trapping of a variety of oral bacterial DNAs. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(6):656-63.
- Moreno S, Jaramillo A, Parra B, Botero J, Contreras A. Porphyromonas gingivalis Fim-A genotype distribution among Colombians. *Colombia Médica* 2015;46(3).
- Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, Prochazkova J, Duskova J. Porphyromonas gingivalis: major periodontopathic pathogen overview. *J Immunol Res* 2014;014:476068.
- National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. Overweight, Obesity, and Health Risk. *Arch Intern Med* 2000;160(7):898-904.
- Nesse W, Westra J, van der Wal JE, et al. The periodontium of periodontitis patients contains citrullinated proteins which may play a role in ACPA (anti-citrullinated protein antibody) formation. *J Clin Periodontol* 2012;39:599–607.
- Nielen NM, van Schaardenburg D, Reesink HW, Van de Stadt, Rob J, van der Horst-Bruinsma, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50(2):380-386.
- Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, Saigo K, Morinobu A, Koshiba M, Kuntz KM, Kamae I, Kumagai S. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-

cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007;146:797–808.

- Novak MJ. Classification of diseases and conditions affecting the periodontium. Carranza's *Clinical Periodontology*. 10th ed. Saunders 2006;100-106.
- O'Reilly PG, Clafey NM. A history of oral sepsis as a cause of disease. *Periodontol* 2000;23(1):13.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996;1(1):821–78.
- Ogrendik M, Kokino S, Ozdemir F, Bird PS, Hamlet S. Serum antibodies to oral anaerobic bacteria in patients with rheumatoid arthritis. *MedGenMed* 2005;7(2):2.
- Olivares-Martínez E, Hernández-Ramírez DF, Núñez-Álvarez CA, Cabiedes J. Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide. *Reumatología clínica* 2011;7(1):68-71.
- Orozco G, Alizadeh BZ, Delgado-Vega AM, Gonzalez-Gay MA, Balsa A, Pascual-Salcedo D. Association of STAT4 with rheumatoid arthritis: a replication study in three European populations. *Arthritis Rheum* 2008;58:1974-80.
- Otero M, Lago R, Gómez R, Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65:1198–201
- Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:3085-92.
- Page RC, Eke PL. Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *J Periodontol* 2007;78(7 Suppl):1387-99.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Yannakoulia M, et al. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: the ATTICA study. *Atherosclerosis* 2005;183:308.
- Pascual E, Rodríguez V, Carbonell J, Gómez J. *Tratado de reumatología*. España, ed. ARAN 1998:719-728.
- Phipps KR, Stevens VJ. Relative contribution of caries and periodontal disease in adult tooth loss for an HMO dental population. *J Public Health Dent* 1995;55:250-2.
- Pischon N, Pischon T, Kroger J et al. Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol* 2008;79:979-86.
- Pizzo G, Guiglia R, Russo L, Campisi G. Dentistry and internal medicine: from the focal infection theory to the periodontal medicine concept. Review article. *Eur J Intern Med* 2010;21:496-502.

- Plenge RM. Recent progress in rheumatoid arthritis genetics: one step towards improved patient care. *Curr Opin Rheumatol* 2009;21: 262-71.
- Potempa J, Sroka A, Imamura T, Travis J. Gingipains, the major cysteine proteinases and virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*: structure, function and assembly of multidomain protein complexes. *Curr Protein Pept Sci* 2003;4(6):397-407.
- Rantapaa-Dahlqvist S, de Jong BA, Berglin E, Hallmans G, Wadell GS. H., Sundin, U., et al, Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48(10):2741-2749.
- Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2007;357: 977.
- Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation* 2004;28(6):311-318.
- Ross WD, Kerr DA. Fraccionamiento de la masa corporal: un Nuevo método para utilizar en nutrición clínica y medicina deportiva. *Apunts* 1991;18:175-187.
- Sandberg MEC, Bengtsson C, Källberg H, et al. Overweight decreases the chance of achieving good response and low disease activity in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014;73:2029–33.
- Scannapieco FA. Position paper of the American Academy of Periodontology: periodontal disease as a potential risk factor for systemic diseases. *J Periodontol* 1998;69(7):841–50.
- Scher JU, Ubeda C, Equinda M, Khanin R, Buischi Y, Viale A, Lipuma L, Attur M, Pillinger MH, Weissmann G, Littman DR, Pamer EG, Bretz WA, Abramson SB. Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(10):3083-94.
- Seldin MF, Amos CI, Ward R, Gregersen PK. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:1071-79.
- Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect* 2007;13(4):3–10.
- Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis: results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum* 1996;39:732–5.
- Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 2005;38:135–87

- Sopor ML, Kozak W. Immunomodulatory effects of cigarette smoke. *J Neuroimmunol* 1998;83:148-156.
- Soriano-Guillen L, Hernández-García B, Pita J, Domínguez-Garrido N. High-sensitivity C-reactive protein is a good marker of cardiovascular risk in obese and adolescents. *Eur. J. Endocrinol* 2008;159:R1-R4.
- Stolt P, Bengtsson C, Nordmark B, Lindblad S, Lundberg I, Klareskog L, et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:835–41.
- Tarcsa E, Marekov LN, Mei G, Melino G, Lee S, Steinert PM. Protein unfolding by peptidylarginine deiminase Substrate specificity and structural relationships of the natural substrates trichohyalin and filaggrin. *J Biol Chem* 1996;271(48):30709-30716.
- Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: Mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:772–83.
- Tolo K, Jorkjend L. Serum antibodies and loss of periodontal bone in patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Periodontol* 1990;17:288-91.
- Tonetti MS, Claffey N, European Workshop in Periodontology Group C. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. *J Clin Periodontol* 2005;32(suppl 6):210-3.
- Trayhurn P, Wood IS. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochem Soc Trans* 2005;33(Pt 5):1078–81.
- Turesson C, Schaid DJ, Weyand CM, Jacobsson LT, Goronzy JJ, Peterson IF. The impact of HLA-DRB1 genes on extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005;7:R1386-93.
- Uhlig T, Hagen KB, Kvien TK. Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999;26:47–54.
- Van de Sande MG, de Hair MJ, van der Leij C, et al. Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase. *Ann Rheum Dis* 2011;70(5):772–7.
- Van de Stadt LA, van der Horst AR, de Koning MH, et al. The extent of the anti-citrullinated protein antibody repertoire is associated with arthritis development in patients with seropositive arthralgia. *Ann Rheum Dis* 2011;70:128–33.
- Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res* 2003;82(2):82-90.

- van Gaalen F, Ioan-Facsinay A, Huizinga TW, Toes RE. The devil in the details: the emerging role of anticitrulline autoimmunity in rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 2005;175:5575–80.
- van Venrooij WJ, Pruijn GJ. Citrullination: a small change for a protein with great consequences for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000;2(4):249-251.
- Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46(2):357-365.
- Visser H, Le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early? Prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:357–365.
- Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 2003;25(11):1106-1118.
- Wang ZM, Pierson RN, Heymsfield SB. The five-level model: A new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr* 1992;56:19–28.
- Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, et al. Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2010;233:34–54.
- Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: Implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62(9):2662.
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation 2015;WHO Technical Report Series 894:8.
- Yarwood A, Huizinga TW, Worthington J. The genetics of rheumatoid arthritis: risk and protection in different stages of the evolution of RA. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55:199.