



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

Expresión de Leptina y sRANKL salival y
su correlación con parámetros de Síndrome
Metabólico en jóvenes.

TESIS

Para Obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtro. Rodrigo Serrano Piña

Comité Tutorial:

Dr. Hugo Mendieta Zerón

Tutor Académico

Dr. Rogelio José Scougall Vilchis

Tutor Interno

Dra. Martha Liliana Trujillo Güiza

Tutor Externo

Toluca, Estado de México, diciembre de 2018





Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

Fecha: 22 de octubre de 2018

DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS TESIS

Los docentes que integran el **COMITÉ DE TUTORES** de la maestro (a): Rodrigo Serrano Piña, egresado(a) del programa del Doctorado en Ciencias de la Salud de la generación 2015 – 2018, quien realizó el trabajo de tesis titulado “Expresión de Leptina y sRANKL salival y su correlación con parámetros de Síndrome Metabólico en Jóvenes”, bajo la Tutoría Académica del(la) Dr(a). Hugo Mendieta Zerón, ha sido dirigido, revisado y discutido, por lo que se ha considerado **DICTAMINARLO COMO APROBADO**, ya que reúne los requisitos que exige el Artículo 75 del Reglamento de Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

“2018, Año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México”

Tutor Académico
Dr. Hugo Mendieta Zerón

Tutor Interno
Dr. Rogelio J. Scougall Vilchis

Tutor Externo
Dra. Martha Liliana Trujillo Guiza

Paseo Tollocan s/n esq. Jesús Carranza
col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2706270 / 2702357
feyo@uaemex.mx



ÍNDICES

	Pag.
INTRODUCCIÓN	9
1. ANTECEDENTES	11
1.1 Leptina	11
1.2 Ligando del Receptor Activador del Factor Nuclear κ B soluble (sRANKL)	15
1.3 Síndrome metabólico	19
1.4 Saliva	22
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
3. JUSTIFICACIÓN	26
4. HIPÓTESIS	27
5. OBJETIVOS	28
5.1 General	28
5.2 Específicos	28
6. DISEÑO METODOLÓGICO	29
6.1 Diseño de estudio	29
6.2 Universo y muestra	30
6.3 Procedimientos	30
6.3.1 Solicitud de Permisos y firma de consentimiento informado y asentimiento informado	30
6.3.2 Índice de O'Leary para establecer la higiene bucal	31
6.3.3 Tinción de la placa dentobacteriana	33
6.3.4 Índice ceod/CPOD para establecer la experiencia de caries	35
6.3.5 Antropometría, mediciones clínicas y biológicas	36
6.3.5.1 Procedimiento para registrar estatura	37
6.3.5.2 Procedimiento para registrar peso corporal	37
6.3.5.3 Procedimiento para registrar circunferencia abdominal y perímetro de cadera	37
6.3.5.4 Procedimiento para registrar presión arterial	38

6.3.5.5 Procedimiento para obtener muestras de saliva total	38
6.3.5.6 Procedimiento para obtener muestras de sangre	39
6.3.6 Criterios de Síndrome Metabólico de la Federación Internacional de la Diabetes (FID)	40
6.3.7 Criterios de Síndrome Metabólico en niños y adolescentes	41
6.3.7.1 Para el grupo de 6 a <10 años	41
6.3.7.2 Para el grupo de 10 a < 16 años	41
6.4 Criterios de inclusión	41
6.5 Criterios de exclusión	42
6.6 Criterios de eliminación	42
6.7 Instrumentos	42
6.7.1 Tinción de placa dentobacteriana y registros de los Índices O'Leary, CPOD/ceod	42
6.7.2 Profilaxis dental	44
6.7.3 Antropometría y datos clínicos	44
6.7.4 Saliva total y sangre	45
6.7.5 Material y Equipos de laboratorio	45
6.8 Recolección de datos	46
6.8.1 Datos estomatológicos	46
6.8.2 Datos Antropométricos, clínicos y biológicos de sangre y saliva total	47
6.8.3 Cuantificación de leptina en saliva total y suero	48
6.8.4 Cuantificación de sRANKL en saliva total y suero	48
6.9 Análisis Estadísticos	48
6.10 Aspecto ético	49
7. RESULTADOS	51
7.1 Artículo y/o capítulo de libro aceptado	51
7.1.1 Título del artículo y/o capítulo de libro aceptado	51
7.1.2 Página frontal del manuscrito	51
7.1.3 Carta de aceptación	52

7.1.4 Resumen	53
7.1.5 Apartados del artículo	54
Introducción	54
Metodología	55
Resultados	59
Discusión de resultados	61
Conclusiones	63
Referencias	64
7.2 Artículo y/o capítulo de libro enviado	67
7.2.1 Título del artículo y/o capítulo de libro enviado	67
7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo	67
7.2.3 Resumen	68
7.2.4 Apartados del Artículo	68
Introducción	68
Metodología	69
Resultados	72
Discusión	79
Conclusiones	80
Referencias	81
8. RESULTADOS ADICIONALES	84
9. DISCUSIÓN GENERAL	84
10. CONCLUSIONES GENERALES	86
11. BIBLIOHEMEROGRAFÍA	87
12. ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Secuencia para obtener el registro del índice de O'Leary	32
Tabla 2. Registro para el índice de O'Leary	32
Tabla 3. Códigos para la clasificación del índice de O'Leary	32
Tabla 4. Categorías de experiencia de caries (OMS)	35
Tabla 5. Codificación empleada en los Índices ceod/CPOD	36
Tabla 6. Medidas de la OMS para el diámetro del brazaletе	38
Tabla 7. Parámetros de Síndrome Metabólico (FDI)	40
Tabla 8. Parámetros de Síndrome Metabólico: Grupo 1 (FDI)	41
Tabla 9. Parámetros de Síndrome Metabólico: Grupo 2 (FDI)	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Osteoclastogénesis y señalización medida por RANKL-RANK	18
Figura 2. Diagrama del Diseño del Estudio por fase	29
Figura 3. Superficies que se observaron y registraron para el índice de O'leary	31
Figura 4. Aplicación del GC Tri Plaque ID Gel™ en las superficies dentarias	33
Figura 5. Aplicación del GC Tri Plaque ID Gel™ en las superficies dentarias	34
Figura 6. Coloración de la placa dentobacteriana	34
Figura 7. Coloración de la placa dentobacteriana	35
Figura 8. GC Tri Plaque ID™	42
Figura 9. Microaplicador desechable regular de 2mm (<i>Original microbrush, Microbrush International, WI, USA</i>).....	43
Figura 10. Ejemplos de odontograma para el registro de superficies pigmentadas y de odontograma para el registro de superficies pigmentadas	43
Figura 11. Micromotor Saeshin y cepillos para realizar la profilaxis dental	44
Figura 12. Báscula MicroLife WS 80N y Estadiómetro Seca Portátil	44

Figura 13. Cinta ergonómica Seca 201 para medir circunferencia y esfigmomanómetro Riester®	45
Figura 14. Registro fotográfico y clínico de la coloración obtenida	46
Figura 15. Hojas de diagnóstico estomatológico entregadas a padres/tutores	47

ÍNDICE DE ANEXOS.

	Pag.
Anexo 1. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Peso De Los Niños Por Edad	94
Anexo 2. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Peso De Las Niñas Por Edad	95
Anexo 3. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Estatura De Los Niños Por Edad	96
Anexo 4. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Estatura De Las Niñas Por Edad	97
Anexo 5. Dictamen Comité de Investigación	98
Anexo 6. Dictamen Comité de Ética en Investigación	99
Anexo 7. Consentimiento Informado	100
Anexo 8. Asentimiento Informado	102
Anexo 9. Hoja para el registro de los Índices de O'Leary y ceod/CPOD	105
Anexo 10. Hoja de Diagnostico Estomatológico Entregada a los padres/tutores	105

INTRODUCCIÓN

Los datos publicados indican que la obesidad infantil se ha convertido en una pandemia, lo que es preocupante pues existen reportes científicos, evidenciando que el 80-85% de los niños con obesidad, conservarán esta condición durante su vida adulta. Ciertas patologías crónicas como la hiperglicemia, hipertensión y dislipidemias, también han sido reportadas en niños y su presencia, en conjunto con la obesidad central, se conoce como Síndrome Metabólico.

Este síndrome es común en las personas adultas, en el 2007 la Federación Internacional de la Diabetes, definió y estableció los rangos de cada uno de los parámetros que lo conforman en la población pediátrica. Estos parámetros de Síndrome Metabólico han sido reportado en niños mexicanos, donde se indica que el 44% de niños mexicanos con obesidad, padecen de Síndrome Metabólico.

La saliva es un fluido corporal dinámico, que contiene múltiples proteínas con diversas funciones. Muchas de estas proteínas son hormonas metabólicas, las cuales provienen de diversas fuentes como: las glándulas salivales o trasudados plasmáticos. Se debe señalar que las diversas hormonas presentes en la saliva, varían en su concentración y dependen del ciclo circadiano, de la fuente salival utilizada y de factores locales presentes en la cavidad bucal. De tal modo que la saliva glandular, la saliva total estimulada o no estimulada, el líquido gingival crevicular; el recambio dental, la presencia de placa dentobacteriana o la inflamación gingival afectan directamente al metaboloma y proteoma salival.

La saliva posee ciertas ventajas como son: baja capacidad invasiva, bajo costo, fácil recolección y procesamiento sencillo; por lo que se considera un método adecuado para ser utilizado en los pacientes pediátricos, lo cual ayudaría al diagnóstico y pronóstico temprana de diversas enfermedades. Sin embargo, la información sobre las concentraciones salivales de determinados biomarcadores es insuficiente.

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación del Hospital Materno Perinatal “Mónica Pretelini Sáenz”. El objetivo fue establecer la correlación entre los parámetros de Síndrome Metabólico y las

concentraciones en saliva y suero de leptina y sRANKL: dos citosinas cuyas funciones principales se reflejan en el metabolismo energético y en el metabolismo óseo, respectivamente.

Se trabajó con una población pediátrica entre 8 y 12 años de edad, escolares de la primaria Venustiano Carranza, ubicada en la comunidad de San Mateo Atenco, Estado de México. Los parámetros del Síndrome Metabólico fueron considerados, con referencia a la clasificación de la Federación Internacional de la Diabetes.

Las condiciones de la cavidad bucal de los escolares fueron establecidas con el Índice de O'Leary, que registra la presencia de placa dentobacteriana en las superficies de los órganos dentarios y con los índices ceod/CPOD que establecen la experiencia previa de caries dental. Se recolectaron muestras de saliva total y sangre; se registraron las medidas antropométricas de peso, talla, circunferencia abdominal, diámetro de cadera, y la presión arterial.

1. ANTECEDENTES

1.1 LEPTINA

Es una hormona peptídica descubierta en 1994 (1) por Zhang *et al*, generando un cambio en el concepto que se tenía del tejido adiposo (2) al dejar de considerarse exclusivamente como un órgano de almacenamiento de energía y llegar a ser un órgano endócrino activo (3). Es producto del gene *obese* 7q31-3 (1,4), el cual está localizado en el cromosoma 7 en el ser humano (5). Este gen fue descubierto a través de clonación posicional del gen *ob/ob* en ratones (3), también se le ha llamado gen LEP (6), recibe este nombre debido a que causa una marcada reducción en la ingesta de alimentos, en el peso y grasa corporal (7).

Es un polipéptido no glucosilado de 146 aminoácidos (6), con una masa molecular de 16kDa (1,4,6). Tiene una estructura de cadena simple (1), se le considera un miembro de la familia de citocinas helicoidales tipo I, debido a la secuencia primaria de aminoácidos, que la hacen presentar similitudes en su estructura con las citocinas de cadena larga y está relacionada con la hormona del crecimiento, la prolactina y las interleucinas (8,9).

Los primeros estudios refieren que esta citocina derivaba exclusivamente del tejido adiposo, al diferenciarse de los adipocitos; posteriormente, se reportó que la placenta, mucosa gástrica, músculo esquelético, epitelio mamario (1,7), el sistema nervioso central, el tracto gastrointestinal que incluye a las glándulas salivares mayores parótida, sublingual y submandibular (1) y granulocitos (10), son fuentes adicionales para su síntesis (11). Por lo tanto, se considera que su distribución en los tejidos del ser humano es amplia (7). Por otra parte, el receptor específico de la leptina (ObR) se ha encontrado no solo en el sistema nervioso central, también se expresa en tejidos periféricos (9) como son glándulas tiroides, glándulas adrenales, pulmones, placenta, riñón, hígado, células endoteliales (1) y próstata (12). Los efectos de la leptina son mediados a través de la unión con su ObR (3,12) y sus efectos poseen la capacidad de disminuir el peso y la cantidad de grasa corporal (7) al influenciar la ingesta de alimentos (1).

Las reservas energéticas en el tejido graso, son las encargadas de su regulación, de tal modo que la cantidad de leptina sintetizada está determinada por el tamaño de los adipocitos.

Aunque, se debe tener en consideración que no es el único factor que la regula, ya que también es afectada por la insulina, glucocorticoides, las infecciones, endotoxinas y citocinas (7).

Es secretada hacia el torrente sanguíneo por el tejido adiposo blanco, de forma pulsátil y con variaciones diurnas importantes, ya que se pueden encontrar niveles elevados durante las horas de la tarde o temprano por las mañanas (3). Circula como una proteína que está ligada parcialmente a proteínas plasmáticas (7) y sus niveles circulatorios reflejan tanto la cantidad de energía almacenada en el tejido graso, como los cambios agudos en la ingesta calórica (8).

Considerando que en un principio se catalogó como una señal derivada de los adipocitos y cuya principal función era prevenir la obesidad (4) y a pesar de que su rol más significativo está en la regulación de la homeostasis energética, la función neuroendocrina y el metabolismo, la leptina también ejerce otras múltiples funciones. Estudios posteriores han señalado que esta hormona está involucrada en la angiogénesis, termogénesis, homeostasis, condrogénesis (6), la función simpática y endocrina, la función inmune y hemopoyesis, desarrollo del cerebro (13), el control de la presión arterial (6) y la función cardiovascular, la secreción de insulina, la formación ósea (10), funciones reproductivas en la mujer como son regulación de la función ovárica, maduración del oocito, desarrollo embrionario e implantación (6), trombosis, crecimiento tumoral y metástasis (12).

Los reportes que la estudian como una hormona reguladora de energía y el apetito (13), mencionan su utilidad al ser un indicador de las reservas, además de ser un mediador del balance energético (7); especialmente cuando existen condiciones donde se restringe la disponibilidad de la energía (6). Las acciones de la leptina pueden ocurrir en dos periodos de tiempo: a corto plazo, las concentraciones plasmáticas sirven como una señal de saciedad; a largo plazo, la concentración plasmática media, indica el estado energético al cerebro (8). Por lo tanto, regula la ingesta de comida y el metabolismo al actuar sobre los centros de alimentación y saciedad en el hipotálamo e inhibe el apetito cuando el cuerpo tiene suficientes almacenes de energía (6,8,11). Para lograr esto, la leptina se vale de circuitos neuronales complejos.

Existen varias isoformas del ObR; la isoforma corta (ObRa) tiene la función de transportar la leptina a través de la barrera hematoencefálica, mientras que la isoforma larga (ObRb) media la transducción de la señales en el hipotálamo (3). La expresión del ObR es mayor en las neuronas localizadas en los núcleos del hipotálamo basomedial, que incluyen los núcleos hipotalámicos dorsomedial arqueado (ARC) y ventromedial (8).

Cuando la leptina llega al hipotálamo, actúa sobre dos grupos celulares específicos, ubicadas en el ARC: el primer grupo forma parte de la vía orexigénica que inducen al apetito y es constituida por neuronas que liberan el Neuropeptido Y (NPY), así como neuronas productoras de la proteína relacionada Agouti (AGRP). El segundo grupo forma parte de la vía anorexigénica o inductora de la saciedad y, está integrada por neuronas secretoras de proopiomelanocortina (POMC), su subproducto la hormona estimulante de melanocitos alfa (α MSH), además de neuronas que liberan transcripción regulada de cocaína y anfetamina (CART) (8).

Una vez que se da la unión de la leptina con su ObRb, se activan diversas vías de transducción de señales. Una es el transductor de señal Janus-kinasa y el activador de transcripción 3 (JAK-STAT3), vía importante de la homeostasis energética; otra vía es la fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K), importante para la regulación de la ingesta de alimentos y la homeostasis de la glucosa (3).

Las concentraciones normales de leptina se modifican por diferentes factores conforme el ser humano crece y se desarrolla. Durante la pubertad, existe un aumento en los niveles de la leptina, esto se debe a la maduración de las gónadas (7). Se ha reportado que la testosterona inhibe su síntesis. Los niveles de leptina en el género femenino varían cuando se relacionan a peso, edad y grasa corporal. La distribución de la grasa corporal, la mayor cantidad de tejido adiposo subcutáneo y la no afectación por los esteroides sexuales de los ovarios influyen en esto (7). Gröschl reportó en 2002 que los niveles salivales de leptina varían significativamente durante el ciclo menstrual, teniendo una fuerte correlación con los valores de la progesterona (14).

La cavidad bucal, sus estructuras y fluido salival, como parte del tracto digestivo, está siendo estudiado como un sitio donde se produce la leptina. En el 2001 se reportó que la leptina estaba presente en la saliva, al ser identificado su ARNm en las células de los conductos salivales en las glándulas salivales mayores. (1,11)

Randeva *et al* reportaron que las concentraciones salivales de leptina tenían una correlación positiva con la leptinemia, siendo la concentración salival menor que la plasmática (15). Es importante señalar que la secreción salival de la leptina coincide con el ciclo circadiano de la sangre, pues reportes han evidenciado que la mayor concentración se da a las 24 horas y la mínima concentración es a las 10 horas (16).

La evidencia publicada señala que este péptido tiene una actividad amplia y versátil en la cavidad bucal, relacionada con la estructura donde se exprese y considerándose una manifestación local de los diversos roles que posee (5). En 2013 Thanakun *et al.* reportaron las concentraciones de adipocinas como la leptina y adiponectina en saliva; concluyendo que las concentraciones obtenidas variaban entre saliva total estimulada y no estimulada y consideraron que la cantidad de agua presente en la saliva estimulada disminuye las concentraciones de estas hormonas (17).

Por último, es necesario señalar que las concentraciones elevadas de leptina han sido asociadas con el síndrome metabólico (2).

1.2. LIGANDO DEL RECEPTOR ACTIVADOR DEL FACTOR NUCLEAR κ B SOLUBLE (sRANKL)

El ligando de receptor activador del factor nuclear κ B (RANKL) fue reportado por primera vez en 1997 (18). Es una proteína transmembrana de tipo II homotrimérica, cuyo código está localizado en el gen 11 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF) (19). También se le conoce como ligando miembro 11 de la superfamilia del TNF, ligando osteoprotegerina (OPG), citocina inducida por activación relacionada con el TNF, factor de diferenciación de osteoclastos (20). El RANKL tiene diversas funciones, principalmente en el metabolismo óseo y en la inmunidad (20), se ha reportado que estimula la diferenciación de los osteoclastos, la activación de los osteoclastos y la inhibición de la apoptosis de estos grupos celulares (19).

Inicialmente fue identificado como un ligando que estaba unido a la membrana celular de los osteoblastos (mRANKL) (19–21); después se reportó su expresión en determinados grupos celulares como los fibroblastos del ligamento periodontal, odontoclastos (22,23), fibroblastos gingivales y sinoviales, folículo dental, (19,24–27) y en varios tejidos como los nódulos linfáticos, bazo, timo, cerebro y médula ósea (20); también puede estar unida a su receptor específico sobre la superficie de células precursoras hematopoyéticas (28). En el hueso, el ligando se expresa en las células estromales, osteoblastos y sus precursores, mientras que su receptor se puede encontrar en las membranas de los osteoclastos y sus precursores (29).

El ligando posee dos receptores: el primero está unido a la membrana y se conoce como RANK, también llamado receptor de citocinas inducidas por TNF relacionado o miembro 11A de la superfamilia de receptores TNF; el segundo es el receptor señuelo soluble de la OPG (20). La OPG es una glicoproteína osteoblástica deriva de células de la médula ósea, osteoblastos y células mesenquimales dentales (18,22,28,29).

En 2001 se identificaron tres isómeros del RANKL: el RANKL1 que posee una transmembrana intracelular y un dominio extracelular; el RANKL2 que tiene un dominio intracelular corto y el RANKL3 que carece de ambos dominios y se creía podría

comportarse como un ligando soluble. Se considera que el RANKL1 es el inductor predominante y el RANKL3 funciona como un atenuador (30).

El ligando puede liberarse de la superficie celular por medio de una escisión proteolítica para tener una forma soluble (sRANKL) (20,21); esta escisión se da por medio de una metaloproteasa conocida como enzima de conversión de TNF- α (TACE) (22,28,31,32). Como resultado de la escisión, se facilita la liberación de RANKL en el medio ambiente extracelular con lo que propaga su acción (33). La forma sRANKL actúa como un factor osteoclastogénico con efecto paracrino, lo que permite sea detectado por inmunoensayo (31).

La producción y expresión del RANKL en diferentes tipos de células, es inducida y controlada por diversos estímulos, ya sean locales o sistémicos como los productos bacterianos, hormonas y mediadores inflamatorios; ejemplo de estos inductores son los integrantes de la familia de interleucinas 1 (Il-1), prostaglandinas E (PgE) (21,33), hormonas femeninas, vitamina D y hormona paratiroidea (HTP) (20,24). En el medio ambiente periodontal se reporta que es producido principalmente por las células B y T activas (19,28). También se ha reportado que las bacterias de la periodontitis crónica como es la *P. gingivalis* induce la expresión del RANKL (33).

El descubrimiento del eje RANK/RANKL/OPG clarificó el proceso de homeostasis ósea al confirmar que los osteoblastos inferían sobre las funciones de los osteoclastos (24). Esta acción se debe a la interacción de tres miembros de la superfamilia TNF: RANKL, RANK y su receptor señuelo OPG (31,34,35). El RANKL juega un papel primordial en la osteoclastogénesis y la resorción ósea (23,30,36). La unión entre el RANK de las membranas celulares y el ligando, conduce a una mayor resorción ósea y pérdida de hueso (18), derivando en una regulación del remodelado óseo a través de las interacciones odontoblastos-odontoclastos (29).

Sin embargo, la actividad osteoclastogénica del RANKL puede ser bloqueada por su receptor señuelo soluble la OPG (23,25) al prevenir la interacción y activación del RANK

(29,31), puesto que ocupa los sitios de unión del RANKL con su receptor, protegiendo al tejido óseo de la resorción (18,22).

En condiciones de normalidad fisiológica, la estructura del hueso sufre un proceso de resorción y aposición, donde los osteoblastos son los encargados de su regulación, al reclutar nuevos osteoclastos y activar los osteoclastos maduros (24,37). En estas condiciones, la vitamina D y la HPT regulan el metabolismo óseo. La vitamina D estimula la formación de osteoclastos y su deficiencia ocasiona hipocalcemia, hipofosfatemia, y osteomalacia. La HPT usualmente activa la resorción y de manera intermitente promueve la formación de células. La actividad osteoclastogénica de la HPT se explica cuando al unirse con su receptor en las células osteoblásticas/estromales, estimula la activación del RANKL e inhibe la expresión de la OPG (24).

En los estados inflamatorios, los linfocitos T activados son los encargados de modular la resorción ósea, mediante la producción elevada del sRANKL (24). En diferentes enfermedades óseas inflamatorias como la artritis reumatoide, mielomas múltiples, osteoporosis postmenopausal, enfermedad de Paget (30) y la enfermedad periodontal, se ha reportado una elevada regulación del RANKL (19). Incluso, el ARNm del RANKL ha sido detectado en linfocitos T activos, aislados de lesiones de artritis reumatoide (24). A raíz de los reportes que señalan la existencia del ligando en la superficies de los linfocitos activados por células T se sugirió su función en la regulación de la inmunidad adaptativa (38). Por lo tanto, el RANKL es la molécula clave de la osteoclastogénesis, en el desarrollo y remodelado óseo fisiológico y en condiciones asociadas a la inflamación crónica (31).

Una vez que los osteocitos y los osteoblastos son estimulados, estos van a presentar el ligando a las células progenitoras de osteoclastos; la OPG va a inhibir la señalización del receptor en la membrana celular, con lo que se previene la interacción RANKL-RANK. Cuando se une al ligando, el RANK sufre una trimerización, y recluta a la molécula adaptadora factor 6 asociado al receptor TNF (TRAF6), la cual acopla el receptor a varias vías de señalización. La proteína c-Src activa un programa antiapoptótico por la vía AKT/proteína kinasa B (AKT/PKB). La activación de la proteína kinasa activada por mitógenos (MAPK) inducen la translocación de las proteínas c-Fos y c-Jun hacia el núcleo

celular. La translocación del factor nuclear Kappa B (NF- κ B) en el núcleo desencadena la regulación por incremento de c-Fos, el cual en unión de Ca²⁺ con el factor nuclear de células T activadas c1 (NAFTc1) inician un programa genético requerido para la formación de osteoclastos maduros (20).

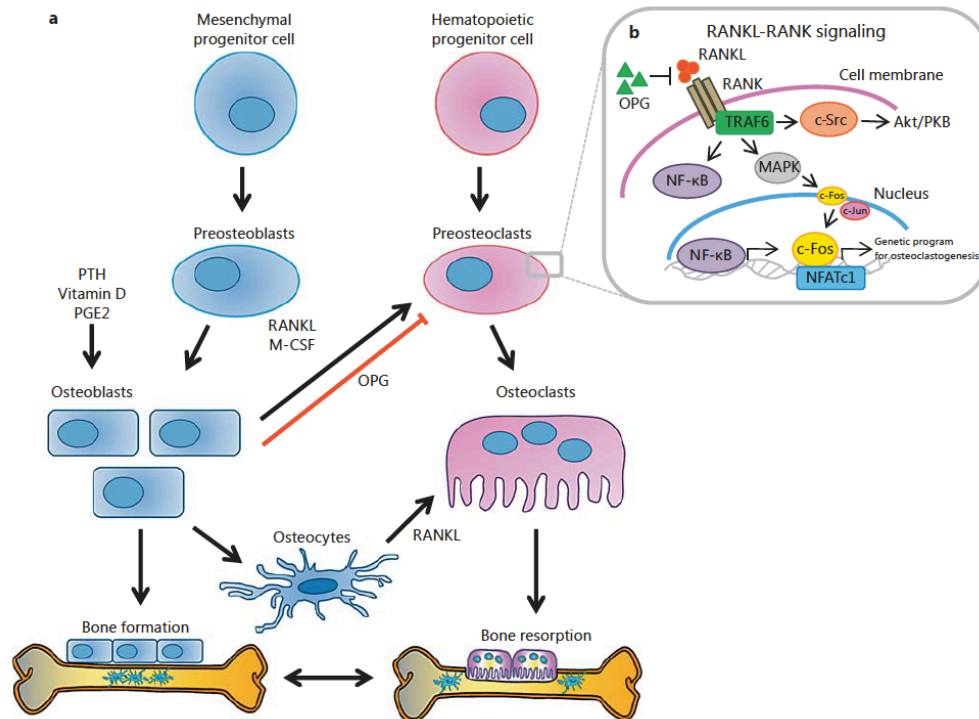


Figura 1. Osteoclastogénesis y señalización medida por RANKL – RANK Fuente Nagy, V. *et al* (20)

El aumento del RANKL y la disminución de OPG podría causar la resorción en diferentes sitios del esqueleto produciendo osteoporosis; por el contrario, si se presenta una disminución en el RANKL y una elevación de OPG se podría llegar a un aumento en la formación del hueso llegando a producir un estado osteopetrótico (30,35).

1.3 SÍNDROME METABÓLICO

En el año 1988 Raven describe al Síndrome X (39,40). Fue la primera ocasión en que se asoció a la obesidad con la intolerancia a la glucosa, la hipertensión, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e hiperuricemia, lo que derivaba en un incremento a desarrollar enfermedades coronarias (40). De manera general, el Síndrome Metabólico es un desorden multifactorial de amplia prevalencia, también se le ha nombrado Síndrome de Raven, Síndrome de la resistencia a la insulina, Síndrome plurimetabólico y Cuarteto de la muerte (39).

Este trabajo definió al Síndrome Metabólico como el agrupamiento de condiciones y parámetros para desarrollar Diabetes Mellitus tipo 2 y Enfermedad Cardiovascular (2,41,42), considerando como parámetros a la obesidad central, hipertensión, las dislipidemias e hiperglicemia (39,41–44). Aunque tradicionalmente se asocia a la población adulta (45) los factores de riesgo mencionados ya se encuentran presentes en la población infantil (40). Algo importante y que debe de ser considerado como una necesidad primaria, es la falta de un consenso que permita la definición del Síndrome Metabólico en la población pediátrica (2,43,45).

La obesidad es una enfermedad sistémica que compromete al individuo que la desarrolla complicando su salud general, generando la posibilidad de desarrollar síndrome metabólico (4). La obesidad es una cantidad de grasa corporal excesiva, al considerar la proporción de la masa magra representando un riesgo general para la salud (39). La obesidad infantil se basa en el porcentaje de grasa corporal obtenido mediante el índice de masa corporal (IMC), el cual proporciona un índice de adiposidad en niños (40).

Desde hace aproximadamente 10 años, se consideraba a la obesidad infantil como el trastorno nutricional que se presentaba con mayor frecuencia (40). En esta última década, el aumento de la obesidad infantil ha sido 3 veces mayor que en los demás grupos poblacionales (46). El incremento no controlado de su prevalencia en niños y jóvenes la hacen un problema mayor de salud pública (2,41,47) y que se ha convertido en una epidemia mundial (48).

Los datos publicados prevé que el 80-85% de los pacientes pediátricos serán obesos en su edad adulta (2,41). Se debe considerar, que los trastornos de las perturbaciones metabólicas asociadas con el Síndrome Metabólico en niños, son moderados. La obesidad infantil está asociada con diversos problemas de salud (2), de tal modo que se podría considerar que los problemas ortopédicos, apnea del sueño e hiperandrogenismo (40) son algunas secuelas importantes de la misma. También se ha publicado que la enfermedad cardiovascular y Diabetes Mellitus Tipo 2 son consecuencias de la obesidad infantil que pueden presentarse a corto y largo plazo (41).

México es el primer lugar en obesidad infantil, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en niños con edades entre 5 y 11 años es del 34,4% (49). En Brasil, el 33.5% de niños entre 5 y 9 años tienen sobrepeso (43). En España se considera que el 14% de los niños de 2 a 9 años presentan obesidad y la prevalencia de síndrome metabólico en pacientes con obesidad infantil es del 19.6% (41). Estudios realizados en niños mexicanos reportan que el 44.3% de niños con obesidad presentan Síndrome Metabólico (46).

Establecer los rangos de cada uno de los parámetros del Síndrome Metabólico en niños ha sido complicado, esto se debe tanto a barreras fisiológicas como metodológicas. Fisiológicamente, algunos autores como Weiss *et al*, mencionan que los niveles normales de lípidos dependen de la edad, sexo y raza y que en la pubertad se desarrolla una resistencia transitoria a la insulina. Desde el punto de vista metodológico, algunas de las limitantes son la falta de rangos normales para las pruebas y las concentraciones de insulina en la niñez, así como la falta de medidas estandarizadas para la obesidad central (2).

Con el transcurso del tiempo se han propuesto varias definiciones de Síndrome Metabólico (39). En el 2007, la Federación Internacional de Diabetes (FID) realizó la primera definición en pacientes pediátricos, empleando criterios de diagnóstico con base a la edad de los individuos; dividiendo a la población en tres grupos: a) de 6 a <10 años, b) de 10 a <16 años y c) 16 años a la adultez (50).

La FID actualiza su criterios para Síndrome Metabólico y cita: “la obesidad central, que es determinada por la circunferencia abdominal; considerando los valores específicos para cada raza, en conjunto con parámetros como el aumento de la glucosa plasmática o

hiperglicemia, el aumento de la presión arteria o hipertensión, el aumento en el nivel de triglicéridos y la disminución del colesterol (dislipidemias), reciben el nombre de Síndrome Metabólico” (51).

La gran mayoría de los estudios, consideran a este síndrome como la presencia de la obesidad central y al menos dos de los parámetros mencionados por la FID (41,44,52). Sin embargo, su etiología no es conocida en su totalidad; se considera que es una interacción entre diferentes factores metabólicos, dietéticos, ambientales y genéticos (43). El estilo de vida también influye sobre el desarrollo del Síndrome Metabólico (52). Diversos reportes han referido que solo el 10% de los casos de Síndrome Metabólico pueden ser explicados por la predisposición genética (2). La interacción de los factores predisponentes favorecerá el desarrollo del síndrome metabólico, sin olvidar que algunas personas genéticamente están propensas a padecerlo.

1.4. SALIVA

El desarrollo del diagnóstico clínico se ha visto limitado por la falta de un método de empleo sencillo, con bajo costo y que facilite la detección en estadios tempranos de la enfermedad. La saliva se le considera un fluido que posee diversas ventajas claves para el diagnóstico y pronóstico temprano de la enfermedad, entre estas ventajas se consideran su bajo potencial invasivo, su fácil recolección y procesamiento, así como el reducido costo de estos últimos. (53).

La saliva deriva de tres pares de glándulas mayores nombradas parótida, submandibular y sublingual. Estas tres glándulas son responsables de secretar el 90% del volumen total salival (54); y en conjunto con las glándulas salivales menores y el líquido gingival crevicular (LGC) (4,55), constituyen lo que se conoce como saliva total (56). La saliva posee un pH entre 6.0-7.0 por lo cual es ligeramente ácida y es en principio un fluido líquido, ya que el 99% de su composición es agua; los constituyentes sólidos de la saliva son moléculas orgánicas e inorgánicas, los componentes orgánicos son el 0.2% de su contenido, los cuales varían entre cada individuo y, en el mismo individuo a través del transcurso del día (54,56) y se considera que el 0.3% son proteínas y el 0.2% son componentes inorgánicos (54).

El fluido salival es esencial para la función adecuada del organismo ya que auxilia en varias funciones de la masticación, alimentación, percepción del gusto, digestión, limpieza, protección e integración de las mucosas bucales y la remineralización de los órganos dentarios (4,53,55).

En relación a los compuestos orgánicos e inorgánicos, la saliva posee una compleja mezcla de bacterias, iones y proteínas, muchos de los cuales son producidos por las mismas glándulas salivales (11,57); algunos llegan del torrente sanguíneo por mecanismos de transporte activo (55,58) e incluso podrían llegar por difusión activa o pasiva (54). Zhang *et al* indicaron que el 30% de las proteínas encontradas en la sangre pueden ser identificadas en la saliva (53).

Entre las moléculas que han sido encontrado en la saliva y participan en la protección de los tejidos orales se mencionan a proteínas ricas en prolina, amilasas, inmunoglobulinas, albúmina, lisozimas, lactoferrinas, lactoperoxidasas, histatinas, estaterinas, cisteinas y mucinas, microbios y sus productos (56,59).

Se debe considerar que el estado sistémico del individuo puede influir directamente en la producción salival, por ejemplo en la obesidad infantil; se ha reportado una reducción del flujo de la saliva total estimulada, lo que afecta de manera importante la salud bucal del niño (60). Padecimientos como enfermedades autoinmunes, diabetes, VIH; padecimientos cardiovasculares, cáncer y enfermedades orales presentan alteraciones que se reflejan directamente en la saliva (59).

La relación que existe entre las fuentes sistémicas y locales de la saliva la posicionan como una fuente donde se puede investigar la expresión de biomarcadores para determinadas enfermedades o estados fisiológicos (55). Diversos estudios han reportado a la saliva considerándola un reflejo de la función fisiológica existente del individuo en un momento determinado (59). Se ha intentado determinar el uso potencial de la saliva para detectar biomarcadores relacionados con la enfermedad periodontal; existen reportes sobre la presencia y niveles de RANKL, TNF- α y OPG en saliva total no estimulada, sin embargo los resultados no permiten conclusiones para establecer valores diagnósticos en la saliva (30).

Gröschl demostró por la técnica de cromatografía líquida rápida de proteínas (FPLC), y confirmando con Western blotting, que la leptina es producida, almacenada y secretada por las glándulas salivares y se expresa en la mucosa oral, pues en ambas estructuras se realiza la síntesis del ARNm de la leptina (1). Por lo tanto, el empleo de la saliva, como un medio para analizar hormonas, es una alternativa a las pruebas séricas, puntualizando que no siempre existe correlación entre los niveles peptídicos en ambos fluidos (11).

Thanaku considera que la saliva puede ser un recurso importante para el diagnóstico de biomarcadores como una alternativa a la sangre (17) por lo que se debe tener presente que al analizar únicamente un tipo de fluido corporal, los biomarcadores que son asociados a

una enfermedad en específico podrían ser o no detectados, ya que estos biomarcadores podrían mantenerse estables en un fluido corporal, mientras que sus concentraciones varían en otro fluido (61). Esto nos lleva a la sugerencia que en un mismo individuo se deben de analizar diferentes fluidos corporales para identificar el biomarcador deseado.

La saliva total es la que se estudia con mayor frecuencia por su fácil recolección con escasa invasión y no requiere equipo especial para su obtención (53). El LGC también es considerado como un medio para realizar pruebas no invasivas (25). Las concentraciones de diversas hormonas como resistina, visfatina, grhelina, adiponectina, leptina, sRANKL/OPG, han sido medidas en saliva total y en LGC en diferentes situaciones de salud y enfermedad (1,10,25,31,36,58,62,63). Se debe considerar al LGC como un exudado inflamatorio, localizado en el surco gingival, alrededor del órgano dentario en condiciones de salud y en la bolsa periodontal en condiciones de enfermedad (64). Aunque existe debate en si el LGC es un trasudado del líquido intersticial de la encía en condiciones de salud, su contenido es una mezcla compleja de sustancias que derivan del suero y de mediadores locales de la inflamación, también contiene componentes celulares y bacterianos (65).

Si se pretende emplear a la saliva como un método de diagnóstico fiable, la estandarización en los procedimientos de recolección, los métodos de procesamiento y almacenado, son esenciales para los resultados finales (17). La saliva puede recolectarse directamente de las glándulas mayores a través de aditamentos especiales o tiras de papel filtro colocados directamente o cerca de los ductos de las glándulas (56,58,66). La saliva total no estimulada puede obtenerse por medio del método de escupir (61), o del babeo (17,63,67). La saliva estimulada se puede obtener empleando auxiliares como ácido cítrico, gasas estériles, parafina (1,36,47,60) y tiras de papel filtro para el LGC (19,25,28,31,55,64,68).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad es un problema de salud a nivel mundial, donde México tiene el primer lugar en obesidad infantil. En nuestro país, la población entre 5 y 11 años presenta una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 34%. En esta etapa de vida, la asociación de obesidad con otros factores de riesgo predispone y puede derivar en el desarrollo del síndrome metabólico.

Si se considera que un alto porcentaje de los niños con obesidad mantendrán esta condición durante su vida adulta y que en la población pediátrica de México, existen pocos reportes sobre el Síndrome Metabólico, así como la combinación de los parámetros que lo integran, es de interés ahondar en búsqueda de información sobre esta problemática.

La saliva es un fluido humano que presenta un potencial importante para realizar el estudio de moléculas y biomarcadores que podrían estar asociados a alteraciones metabólicas, entre las cuales la literatura menciona a la ghrelina, la leptina, la adiponectina, el RANKL/OPG y factores de necrosis tumoral, interleucinas, por mencionar algunas. La información de las moléculas presentes en saliva, así como la relación que podrían presentar con los parámetros de Síndrome Metabólico es exigua aun, por lo que es imperativo profundizar el conocimiento.

Si se considera las ventajas que se tiene para obtener muestras salivales como su fácil acceso, el bajo costo y los diversos procedimientos para su obtención; la necesidad obtener métodos de diagnóstico no invasivos y que de resultados fiables para los pacientes pediátricos, así como la poca información que se tiene en la población joven de México, sobre cada uno de los parámetros de Síndrome Metabólico, se plantea la siguiente preguntas de investigación:

¿Cuáles son los niveles séricos y salivales de leptina y sRANKL y su correlación con cada uno de los parámetros del Síndrome Metabólico en pacientes jóvenes de 6 a 16 años?

3. JUSTIFICACIÓN

El aumento de la obesidad infantil, las secuelas que ocasiona a la salud de los individuos desde edades tempranas, y que se mantienen a lo largo de la vida, han generado la necesidad de encontrar herramientas que posean validez y confiabilidad para el diagnóstico temprano y oportuno de diversos padecimientos crónicos.

Es una realidad que los parámetros de Síndrome Metabólico están presentes en niños y adolescentes, sin embargo, la prevalencia de cada uno no es del todo conocida en los escolares mexicanos. Aunque las secuelas pueden no ser evidentes en etapas tempranas de la vida, las enfermedades que pueden derivar de la conjunción de estos parámetros llegan a ser severas, y con diversas manifestaciones a largo plazo en los individuos. De lo anterior deriva la pertinencia de este estudio.

El fluido salival, al ser considerado un medio cuya recolección no invasiva y procesamiento económico nos da la opción de utilizarlo en la cuantificación de diversos biomarcadores, como en este caso leptina y sRANKL; sus concentraciones, al ser relacionadas con determinados padecimientos metabólicos en los individuos, pudieran apoyar el diagnóstico temprano de diversos padecimientos en pacientes jóvenes. Para el desarrollo de este trabajo, se contó con el apoyo de personal capacitado para obtener las muestras salivales y séricas, facilidades el análisis cuantitativo de estas muestras, disponibilidad de materiales, instalaciones y equipos; todo esto establece la factibilidad de este trabajo.

Al mismo tiempo, este estudio fue viable puesto que se utilizó a la saliva como una herramienta para cuantificar los niveles de dos biomarcadores importantes para la homeostasia del individuo. Simultáneamente se registraron los parámetros que predisponen a la población, a desarrollar enfermedades crónico degenerativas desde etapas temprana de la vida y se contó con una población de escolares, que cumplieron con los criterios de selección para la realización de cada procedimiento considerado para este trabajo.

4. HIPÓTESIS

Hi. Existe una correlación positiva moderada entre los parámetros de Síndrome Metabólico y los niveles salivales de leptina y sRANKL en jóvenes.

Ho. No existe una correlación positiva moderada entre los parámetros de Síndrome Metabólico y los niveles salivales de leptina y sRANKL en jóvenes.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERALES.

Calcular la asociación entre las concentraciones en saliva y suero de leptina y sRANKL con los parámetros de Síndrome Metabólico en escolares de 8 a 12 años.

5.2. PARTICULARES.

1. Establecer la calidad de la higiene bucal y la experiencia de caries dental en escolares, empleando el Índice de O'Leary y los Índices ceod/CPOD, respectivamente.
2. Determinar la presencia de los parámetros de Síndrome Metabólico en escolares de 6 a <10 años con base en los criterios de la Federación Internacional de la Diabetes.
3. Determinar la presencia de los parámetros de Síndrome Metabólico en pacientes de 10 a <16 años con base en los criterios de la Federación Internacional de la Diabetes.
4. Cuantificar los niveles leptina en muestras de saliva total y de suero de escolares de 8 a 12 años.
5. Cuantificar los niveles de sRANKL en muestras de saliva total y de suero de escolares de 8 a 12 años.
6. Calcular la correlación entre los parámetros de Síndrome Metabólico con las concentraciones de leptina, en muestras de saliva total y de suero de escolares de 8 a 12 años.
7. Calcular la correlación entre los parámetros de Síndrome Metabólico con las concentraciones de sRANKL en muestras de saliva total y de suero de escolares de 8 a 12 años.

6. DISEÑO METODOLÓGICO

6.1 DISEÑO DE ESTUDIO

Estudio observacional, descriptivo, transversal, clínico, comparativo, correlacional, prospectivo. Dividido en tres fases:

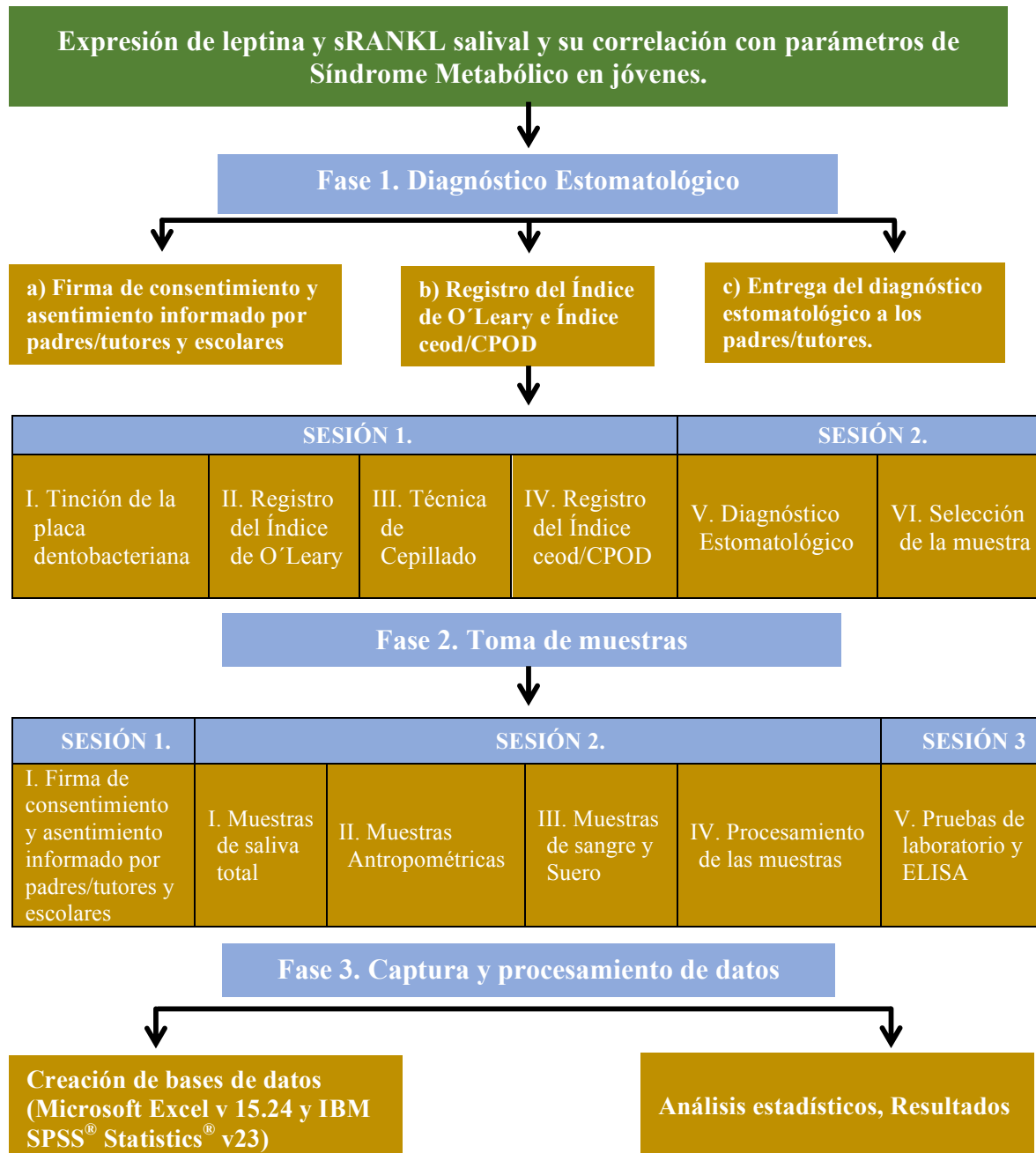


Figura 2. Diagrama de diseño del estudio por fase.

6.2 UNIVERSO Y MUESTRA

Se trabajó con 600 escolares con un rango de edad de 6 a 12 años, matriculados en escuela Primaria Venustiano Carranza, de la comunidad de San Mateo Atenco. Para obtener la muestra se consideró que el 30% de los niños presentarían sobrepeso u obesidad, con un intervalo de confianza del 95%, con unidades de precisión ± 15 por ciento y anticipando una tasa de reemplazo del 14%, se obtuvo una muestra final de 43 escolares.

6.3 PROCEDIMIENTOS

6.3.1 Solicitud de permisos y firma del consentimiento y asentimiento informado

Se tuvo una reunión con el profesor Hermenegildo Salazar Arizmendi, director de la Escuela Primaria Venustiano Carranza, turno matutino, con clave 15DPR0954U, localizada en la comunidad de San Mateo Atenco, Estado de México para obtener su autorización y visto bueno para realizar este trabajo de investigación con los escolares inscritos en el ciclo escolar 2016 – 2017. Posteriormente, se realizó una reunión con todos los profesores de la escuela, con la finalidad de explicarles los objetivos y procedimientos de la investigación.

Se realizaron reuniones programadas con los padres/tutores de cada grupo escolar, donde se les expusieron las razones y objetivos de la investigación; así como los procedimientos que se realizaron a los escolares durante cada fase del trabajo. Con la firma del consentimiento informado, se les solicitó su autorización para que sus hijos o tutorados participen en la fase inicial del trabajo la cual fue el diagnóstico estomatológico.

En un momento posterior, se realizó una exposición a los escolares donde se les explicó paso por paso, cada uno de los procedimientos. Se les preguntó individualmente si deseaban participar en la investigación, se leyó el asentimiento informado haciendo énfasis en su derecho a retirar su permiso si así lo deseaban y, se les pidió que registraran su nombre para obtener su autorización y de este modo iniciar con el diagnóstico bucal.

Con los individuos que cumplieron con los criterios de selección, se realizó otra reunión informativa con los padres/tutores y los escolares. En esta reunión se explicaron los

objetivos de la segunda fase de la investigación, los procedimientos que se realizarán para obtener los registros antropométricos, clínicos y muestras biológicas de sangre y saliva total. Posterior a esto, se leyó el consentimiento y asentimiento informado y se les solicitó su autorización con la firma de ambos documentos, enfatizando que este permiso podría ser retirado en cualquier momento.

6.3.2 Índice de O'Leary para establecer la higiene bucal.

El Índice de O'Leary es un método sencillo que permite el registro de la placa dentobacteriana. Este índice proporciona el porcentaje de placa dentobacteriana que se encuentra en la totalidad de los órganos dentarios presentes en la cavidad bucal de los individuos (69). En este índice, cada órgano dentario fue dividido en sectores que correspondieron a sus cuatro caras axiales: a) vestibular, b) mesial, c) lingual o palatino y d) distal (Figura 2).

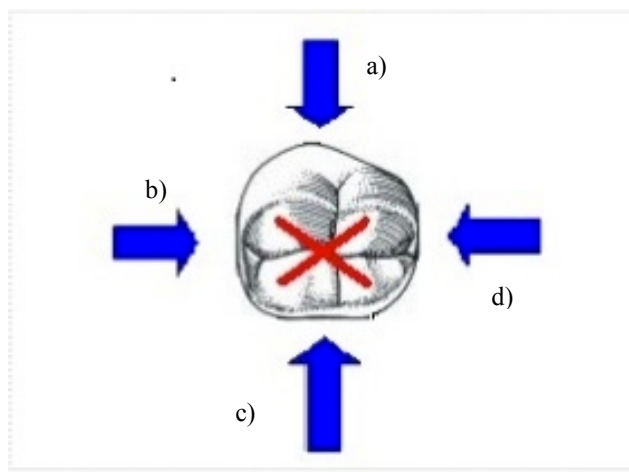


Figura 3. Superficies que se observaron y registraron para el Índice de O'Leary.

La secuencia del procedimiento empleado en este trabajo, para la observación clínica de la placa dentobacteriana teñida en las superficies dentales y su posterior registro, se presenta en el tabla I.

Cuadrante	Secuencia para la observación y registro
I. Superior derecho	Vestibular, distal, palatina y mesial
II. Superior izquierdo	Vestibular, mesial, palatina y distal
III. Inferior izquierdo	Vestibular, distal, lingual y mesial
IV. Inferior derecho	Vestibular, mesial, lingual y distal

Tabla 1. Secuencia para obtener el registro del Índice de O'Leary.

El porcentaje final de la placa dentobacteriana se obtuvo contando el número total de caras pigmentadas y multiplicándolo por 100. El resultado de esta multiplicación fue dividido entre el número de superficies dentales presentes en la cavidad bucal de cada individuo (Tabla II). El porcentaje de placa dentobacteriana registrado se empleó para clasificar la higiene bucal de los escolares (Tabla III).

Índice de O'Leary (PDB)	Total
Caras presentes	
Caras pigmentadas	
Porcentaje de placa	%
Clasificación	

Tabla 2. Registro para el Índice de O'Leary.

Porcentaje de PDB	Código
Incipiente (0%-20.9%)	1
Moderado (21%-49.9%)	2
Severo ($\geq 50\%$)	3

Tabla 3. Códigos para la clasificación del Índice de O'Leary

6.3.3 Tinción de la placa dentobacteriana.

El procedimiento para la tinción de la placa dentobacteriana se realizó por arcadas dentales, en el siguiente orden: 1) cuadrante superior derecho, 2) cuadrante superior izquierdo, 3) cuadrante inferior derecho y 4) cuadrante inferior izquierdo. Siguiendo esta secuencia, la aplicación del material para la tinción se inició sobre las superficies vestibulares, a partir del último órgano dentario, hasta llegar al último órgano dentario del lado contrario.



Figura 4. Aplicación del GC Tri Plaque ID Gel™ en las superficies dentarias.

Se continuó con las superficies palatinas en sentido inverso hasta regresar al órgano dentario inicial (Figura 3 A – D y Figura 4 A-C). Al finalizar la tinción de la placa dentobacteriana, se realizó el enjuague de las superficies con agua purificada, por 15 segundos, para eliminar los excesos del material (Figura 4 D).

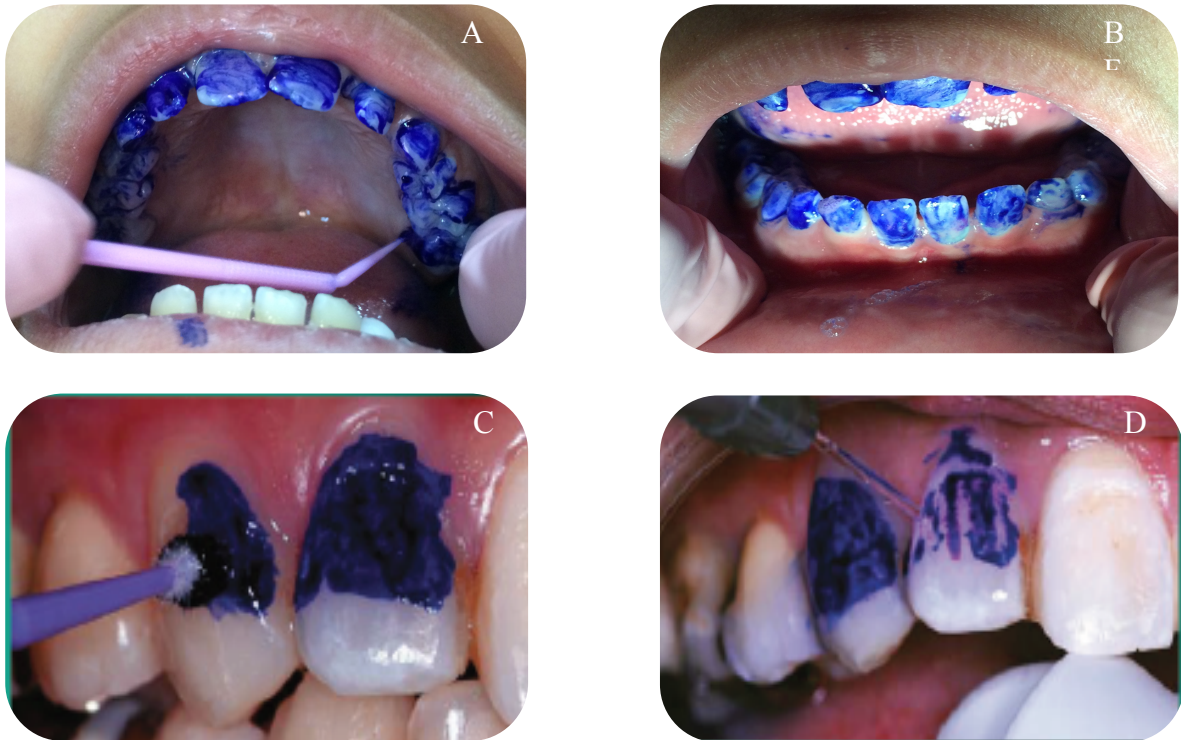


Figura 5. Aplicación del GC Tri Plaque ID Gel™ en las superficies dentarias.

Se realizó un registro fotográfico de la coloración obtenida en las superficies dentales de cada escolar que fue revisado y valorado clínicamente, esto con la finalidad de integrar un diagnóstico clínico (Figura 5 y 6).

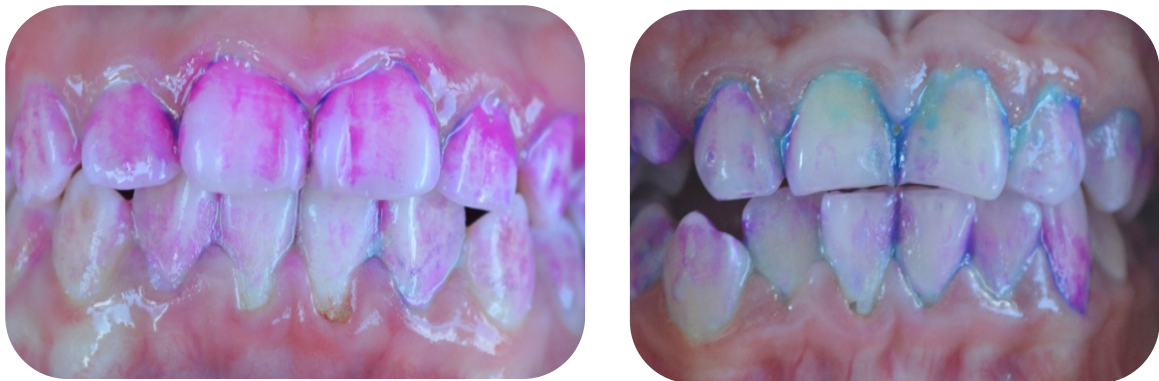


Figura 6. Coloración de la placa dentobacteriana pigmentada con GC Tri Plaque ID Gel™

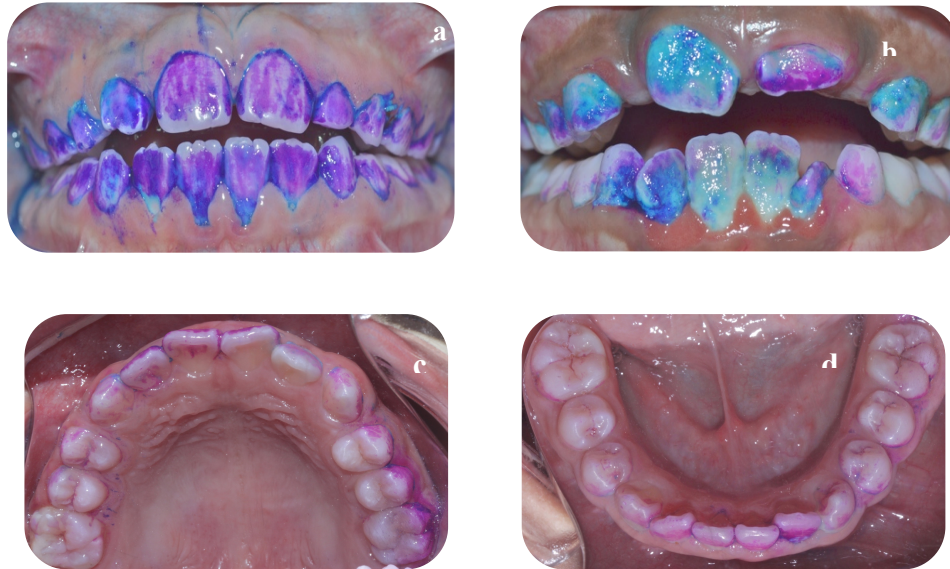


Figura 7. Coloración de la placa dentobacteriana: a–d) pigmentada con GC Tri Plaque ID Gel™

6.3.4 Índice ceod/CPOD para establecer la experiencia de caries dental.

Los índices ceod/CPOD señalan la experiencia de caries dental presente y pasada en dentición temporal y permanente. Es un índice fundamental para estudios odontológicos que cuantifican la prevalencia de esta enfermedad. Establece el promedio de órganos dentarios permanentes cariados, perdidos, obturados (CPOD) u órganos dentarios temporales cariados, indicados para exodoncia y obturados (ceod). La Organización Mundial de la Salud (OMS), establece una escala de gravedad de la afección con cinco niveles (Tabla IV).

Categoría	Rango
Muy bajo	0.0 – 1.1
Bajo	1.2 – 2.6
Moderado	2.7 – 4.4
Alto	4.5 – 6.5
Muy alto	+ 6.6

Tabla 4. Categorías de experiencia de caries OMS

Para realizar el procedimiento, el examinador se protegió con barreras de protección (bata, gorro, guantes y cubrebocas), empleó un juego de exploración básico en cada escolar al que se revisó. Al momento de realizar la exploración se codificó en el odontograma cada uno de los órganos dentarios presentes o ausentes de acuerdo con la Tabla V.

Código	Interpretación	Código	Interpretación
0	Sano	5	Ausente por otra razón
1	Cariado	6	Sellador
2	Obturado y cariado	7	Pilar de puente
3	Obturado	8	Diente no erupcionado
4	Ausente por caries	9	No registrado

Tabla 5. Codificación empleada en los Índices ceod/CPOD

Con la ayuda del espejo y el explorador se examinó la cavidad bucal, comenzando por el primer cuadrante de distal a mesial y continuar con el segundo cuadrante de mesial a distal. En la maxilar inferior comenzar la exploración en el tercer cuadrante de distal a mesial y finalizar con el cuarto cuadrante de mesial a distal.

6.3.5 Antropometría, mediciones clínicas y biológicos

Todos los datos de estatura, peso corporal, circunferencia abdominal, perímetro de la cadera, presión arterial sistólica y diastólica, fueron realizados por un examinador, apoyado de un asistente para la captura de los datos de cada individuo. Las muestras biológicas de sangre y saliva total, fueron obtenidas por personal previamente capacitado y apoyado por dos asistentes para el registro, procesamiento inicial y almacenamiento de cada muestra.

Con los registros de estatura y peso corporal obtenidos, se calculó el Índice de Masa Corporal, (IMC) aplicando la fórmula de Quetelet, la cual divide el peso en kilogramos, por el cuadrado de la altura en metros (kg/m^2) (46) y el z-score. Se usaron como referencia las tablas de percentiles de IMC por edad y sexo, desarrollado por el Centro Nacional de

Estadísticas de Salud en colaboración con el Centro Nacional para la Prevención de Enfermedades Crónicas y Promoción de Salud (ANEXOS 1 y 2).

Para este estudio, los principales puntos de corte y sus clasificaciones correspondientes utilizados fueron los siguientes: 1) bajo peso (<percentil 5), 2) normal (percentiles 5 y 84), 3) sobrepeso (percentiles 85 y 94) y 4) obeso (\geq percentil 95).

6.3.5.1 Procedimiento para registrar estatura

Para realizar el procedimiento de medición de la estatura, los escolares se colocaron descalzos, sobre una superficie plana, distribuyendo su peso en ambos pies, los talones juntos, hombros rectos, brazos colgando libremente y la cabeza mirando hacia delante, colocando el plano de Frankfurt paralelo al piso. Se colocó un cartón blanco, grande, fijo en la pared, donde se marcó un punto que correspondía a la parte más alta de la cabeza. La distancia entre el piso y el punto se registró, redondeándose al 0.1cm más cercano.

6.3.5.2 Procedimiento para registrar peso corporal

Para el procedimiento de medición del peso corporal, los escolares se mantuvieron con ropa ligera, sin zapatos, chamarras o cualquier objeto pesado. Cada escolar recibió la indicación de colocarse en la parte central de una báscula digital, con los pies ligeramente separados y mantenerse sin movimiento hasta que el peso apareciera en la pantalla. Las lecturas obtenidas fueron redondeadas al 0.1cm más cercano.

6.3.5.3 Procedimiento para registrar circunferencia abdominal y perímetro de cadera

La circunferencia abdominal y el perímetro de la cadera, fueron medidas por triplicado y se registró el promedio obtenido de las tres mediciones. Para realizar ambos procedimientos de medición, los escolares estuvieron con ropa ligera, de pie, con los brazos relajados a los lados. La circunferencia abdominal se midió al final de la espiración normal, colocando la cinta sobre el punto más alto de la cresta iliaca. El perímetro de la cadera fue tomado inmediatamente al de la circunferencia abdominal, la medida se tomó en el lugar más ancho, a la altura de los glúteos. Las medidas obtenidas fueron redondeadas al 0.1cm más cercano.

6.3.5.4 Procedimiento para registrar presión arterial

El procedimiento para el registro de la presión arterial inició cuando se colocó al paciente sentado, sin cruzar las piernas por un lapso mínimo de cinco minutos, retirando la ropa que pudiera cubrir el brazo del escolar, Se utilizó un brazalete de acuerdo al diámetro del brazo del escolar, con base en los rangos de la tabla VI. El brazalete fue colocado por encima del codo, alineando la marca ART sobre la arteria braquial, se tuvo cuidado de colocar la parte inferior del brazalete a una distancia de 1.5 o 2.5 de la zona donde se pliega el codo.

Las mediciones se realizaron en ambos brazos, colocando el brazalete a la altura del corazón. Se repitió la medición en el brazo que presentó la mayor presión arterial la cual fue registrada. Se consideró un lapso de 3 minutos como mínimo entre cada registro. El punto de corte para a presión arterial sistólica y diastólica se determinó con el percentil \geq p90, de acuerdo con la edad y el sexo, considerando los datos del National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents (70).

Perímetro del brazo (cm)	Talla del brazalete
17-22	Pequeño (S)
22 – 32	Mediano (M)
> 32	Grande (L)

Tabla 6. Medidas de la OMS para el diámetro del brazalete

6.3.5.5 Procedimiento para obtener muestras de saliva total

Los procedimientos para la recolección de las muestras de saliva total, se realizaron en horario de matutino, entre las 8:00 y 10:00 am. Cada escolar y tutor fueron instruidos de forma verbal y con indicaciones específicas por escrito, 24 horas antes de iniciar con los procedimientos. Antes de iniciar la recolección, se verificó con el tutor y el escolar verbalmente el cumplimiento de las indicaciones, las cuales fueron: 1) tener un periodo de ayuno de 2 a 2:30 horas, 2) no haber ingerido ningún tipo de bebida o alimento entre las

6:30 y 8:00 am (56)(62). Únicamente se permitió el consumo de agua purificada, previo al inicio de la recolección salival.

El examinador principal fue el encargado de realizar a cada escolar la remoción de los restos de alimentos que pudieran estar alojados en las superficies dentales interproximales de los órganos dentarios o adheridos a la mucosa bucal y lingual. En este procedimiento se utilizó un cepillo dental nuevo, esterilizado, sin pasta dental, permitiéndose el enjuague con agua purificada al finalizar la remoción de los restos presentes en la cavidad bucal. Posteriormente, a cada escolar se le realizó un profilaxis dental para eliminar la placa dentobacteriana; para este procedimiento se empleó un micromotor eléctrico y un cepillo para micromotor estéril, sin pasta profiláctica, irrigación indirecta de las superficies dentales con agua purificada.

Durante todo el procedimiento se tuvo el cuidado de evitar que el movimiento rotatorio del cepillo dañe la encía libre, lo que pudiera ocasionar irritación del tejido y hemorragia. Al finalizar la profilaxis de todas las estructuras en la cavidad bucal, se permitió a los niños enjuagarse con agua purificada durante 60 segundos para eliminar restos de saliva y cualquier residuo remanente (62).

El procedimiento para obtener la muestra de saliva total inició con las indicaciones a los escolares, las cuales fueron 1) enjuagarse la boca con agua purificada, 2) masticar una gasa, 3) escupir en un tubo Pепенador la saliva acumulada, 4) repetir los puntos 2 y 3. El tiempo para masticar la gasa fue cronometrado, ya que se pidió escupir en dos momentos, a los 30 y 60 segundos. Las muestras fueron almacenadas en un recipiente frío a 4° C hasta su centrifugación y procesamiento.

6.3.5.6 Procedimiento para obtener muestras de sangre y suero

El procedimiento para la obtención de muestras de sangre se basó en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Para la toma de las muestras se les indicó a los tutores y escolares que acudieran en ayuno de 8 horas (41,57). Cada muestra fue recolectada por personal capacitado, quién realizó una punción en las venas del antebrazo (antecubital), donde se

recolectaron 8ml de sangre total. Cada muestra fue registrada con un código asignado previamente al escolar. De las muestras recolectadas se midieron las concentraciones de glucosa plasmática, lipoproteínas de alta densidad (HDLc), triglicéridos, colesterol total, leptina y sRANKL. Las muestras fueron almacenadas en alícuotas, las cuales fueron refrigeradas a 4° C inmediatamente a su colección. Las muestras fueron trasladadas al área de procesamiento (CIPRES Grupo Médico A.C.) en un lapso no mayor a dos horas, donde fueron preparadas para su preservación y congeladas a una temperatura de -80° C hasta realizar las cuantificaciones. Se procurará que las muestras sanguíneas y salivales se recolecten simultáneamente (57,58,63).

6.3.6 Criterios de Síndrome Metabólico de la FDI (51).

Para este estudio se contextualizó al Síndrome Metabólico con los parámetros de la FDI, la cuál en el 2007, indicó y definió a cada uno de los componentes de la siguiente forma:

Obesidad central: circunferencia abdominal con valores específicos para la etnicidad. Además de la Obesidad Central, el individuo debió presentar al menos dos, de los siguientes cuatro factores:

Síndrome Metabólico	
Parámetro.	Rango
1. Nivel elevado de Triglicéridos (Tv)	< 150mg/dL (1.7mmol/L).
2. Nivel elevado de lipoproteínas de alta densidad (HDL):	<40mg/dL (1.03mmol/L) en varones y <50mg/dl (1.29mmol/L) en mujeres.
3. Presión sanguínea elevada: presión sistólica	> 130 o diastólica 85mm Hg
4. Glucosa plasmática elevada en ayunas (FPG):	>100mg/dL (5.6mmol/L).

Tabla 7. Parámetros de Síndrome Metabólico (FDI)

6.3.7 Criterios de Síndrome Metabólico en niños y adolescentes de la FID

6.3.7.1 Para el grupo de 6 a <10 años (43).

Parámetros	Rangos
a. Obesidad	Circunferencia abdominal \geq a percentil 90 específico para edad y género
1. Triglicéridos	$\geq 100\text{mg/dL}$
2. HDL	$< 50\text{mg/dL}$
3. Presión arterial	\geq percentil 90 para edad, género y altura
4. Glucosa plasmática en ayunas	$\geq 110\text{mg/dL}$

Tabla 8. Parámetros de Síndrome Metabólico Grupo 1 (FDI)

6.3.7.2 Para el grupo de 10 a >16 años (41,44,51)

Parámetros	Rangos
a. Obesidad	Circunferencia abdominal \geq a percentil 90 específico para edad y género
1. Triglicéridos	$> 1.7\text{mmol/L. } (>150\text{mg/dL.})$
2. HDL	$< 1.03\text{mmol/L. } (<40\text{mg/dL.})$
3. Presión arterial	$> 130/85\text{mm Hg.}$
4. Glucosa plasmática en ayunas	$> 5.6\text{mmol/L } (>100\text{mg/dL.})$

Tabla 9. Parámetros de Síndrome Metabólico Grupo 2 (FDI)

6.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Escolares que presenten el consentimiento informado firmado por el padre/tutor.
2. Escolares que presenten el asentimiento informado firmado por el mismo.
3. Escolares en el rango de edad indicado.

6.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Escolares con historia de enfermedad cardiovascular.
2. Escolares con historia de diabetes mellitus tipo I.
3. Escolares con prescripción de medicamentos hipotensivos.
4. Escolares con tratamiento farmacológico para reducir lípidos.
5. Escolares con tratamiento de ortopedia maxilar interceptiva y ortodondia.

6.6 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Escolares que no cumplan con las indicaciones de ayunas.
2. Escolares a los que no se pudo obtener muestras de sangre.
3. Muestras de saliva contaminadas con sangre o placa dentobacteriana.

6.7 INSTRUMENTOS

6.7.1 Tinción de placa dentobacteriana y registro de los Índices O'Leary, ceod/CPOD

Para la tinción de la placa dentobacterina, se empleó el gel revelador de placa dental GC Tri Plaque ID Gel™ (*GC Corporation NIMI Chemical Industrial CO. LTD, Yokohama, Japón*). El procedimiento de aplicación fue acorde a las instrucciones proporcionadas por el fabricante (Figura 1).



Figura 8. GC Tri Plaque ID Gel™ GC (*Corporation NIMI Chemical Industrial CO. LTD, Yokohama, Japón*).

Este material fue aplicado en las superficies de los órganos dentarios con un microaplicador desechable regular de 2mm (*Original microbrush, Microbrush International, WI, USA*) (Figura 2). Se registró la tinción bucal de cada escolar con una cámara digital Nikon (*ColdPlix L120, Nikon Corp. Japón*).



Figura 9. Microaplicador desechable regular de 2mm (*Original microbrush, Microbrush International, WI, USA*).

Para el examen clínico de la cavidad bucal se utilizó un espejo intraoral #5 estéril Hu-Friedy (*Hu-Friedy Mfg. Co, LLC. USA*), con el cual se observó todas las superficies de los órganos dentarios; un explorador de punta de redonda #1 (*YDM Co, Japan*) fue empleado para contabilizar las superficies pigmentadas. El registro de la tinción se registró en un odontograma (Figura 5 y 6). Se usó una lámpara frontal para mejorar la iluminación de la cavidad bucal.

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
17	16	15/55	14/54	13/53	12/52	11/51	21/61	22/62	23/63	24/64	25/65	26	27
47	46	45/85	44/84	43/83	42/82	41/81	31/71	32/72	33/73	34/74	35/75	36	37

Figuras 10. Ejemplos de odontograma para el registro de superficies pigmentadas y de odontograma registrando las superficies pigmentadas.

6.7.2 Profilaxis dental

La profilaxis dental se realizó para remover la placa dentobacteriana y remanentes de alimentos en la superficie dental (19). Para este fin, se utilizó un cepillo para micromotor estéril y un micromotor eléctrico Saeshin (*Saeshin Precision CO. LTD, Korea*) (Imagen 5).



Figura 11. Micromotor Saeshin y cepillos para realizar la profilaxis dental.

6.7.3 Antropometría y datos clínicos

Para medir el peso de los escolares se utilizó una báscula digital calibrada (*MicroLife WS 80-N Diagnostic scale, MicroLife, Co. Switzerland*). Para medir la estatura se utilizó un estadímetro portátil Seca 213 (*Seca, Hamburgo, Alemania*) (figura).



Figura 12. Báscula Microlife WS 80-N y Estadímetro Seca portátil 213

Para medir la circunferencia abdominal y el perímetro de la cadera se utilizó una cinta ergonómica para medir circunferencias marca Seca 201 (*Seca, Hamburgo, Alemania*). Para

el registro de la presión arterial se empleó un esfigmomanómetro ajustado al grupo de edad Riester CE 0124 (*Riester, Jungingen, Alemania*).



Figura 13. Cinta ergonómica Seca 201 para medir circunferencias y Esfigmomanómetro Riester

6.7.4 Saliva total y sangre

Para la obtención de la muestra de saliva total, se utilizaron gasas dentales Ambiderm estériles (*Ambiderm, S.A. de C.V., México*), pinzas de curación dental Hu-Friedy estériles (*Hu-Friedy Mfg. Co, LLC. USA*), tubos Eppendorf de 5 mL Quality™ incoloros, estériles (*Pependorf AG, Germany*).

Para la toma de muestras de sangre total se emplearon, torniquete, material de asepsia, desinfección y barreras de protección; Tubos BD Vacutainer® para suero con gel separador, equipo alado BD Vacutainer® Push Botton (*Becton Dickinson & Company*).

6.7.5 Material y equipo de laboratorio

Todas las muestras de sangre fueron analizadas para obtener las concentraciones de glucosa plasmática, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad y colesterol total con el analizador químico RX Imola (*Randox, Biosciences*). Para la cuantificación de sRANKL por la técnica de ELISA, se utilizó el human-specific Free Soluble RANKL kit (*Biomédica Immunoassays*). Estas pruebas fueron realizadas en los laboratorios de Investigación de Ciprés Grupo Médico S.C. Para la cuantificación de Leptina por la técnica de ELISA se

utilizó el Kit Leptin ELISA (Aviva Systems Biology, cat OKBB00206), estas pruebas se realizaron en las instalaciones de la Universidad Antonio Nariño, Colombia.

6.8 RECOLECCIÓN DE DATOS.

6.8.1 Datos estomatológicos

La secuencia de procedimientos para obtener los datos estomatológicos inició a las 8 am y finalizó previo al descanso escolar, el cual era a las 11:15am. La recolección de datos se realizó en un área abierta, con luz natural, apoyados con una lámpara frontal para iluminar la cavidad bucal. Se inició con la tinción de placa dentobacteriana, continuando con el enjuague de la cavidad bucal para eliminar los excesos del gel revelador. Se colocó un abre bocas de plástico estéril para separar tejidos blandos y se tomó una fotografía para registrar la coloración de la placa dentobacteriana (figura).



Figura 14. Registro fotográfico y clínico de la coloración obtenida

Con ayuda del espejo intraoral y el explorador dental de punta redondeada se contabilizaron las superficies teñidas, las cuales fueron registradas en el odontograma. Al terminar el conteo, se entregó un cepillo dental nuevo y se realizó el cepillado dental y el enjuague bucal para retirar la placa dentobacteriana y el gel revelador.

El registro del índice CPOD/ceod se realizó posterior al cepillado dental y por cuadrantes. Se utilizó una gasa estéril para secar las superficies de los órganos dentarios y posterior a esto, utilizando el espejo intraoral, el explorador de punta redondeada y la lámpara frontal,

se realizó la evaluación clínica de cada órgano dentario y su codificación en el odontograma.

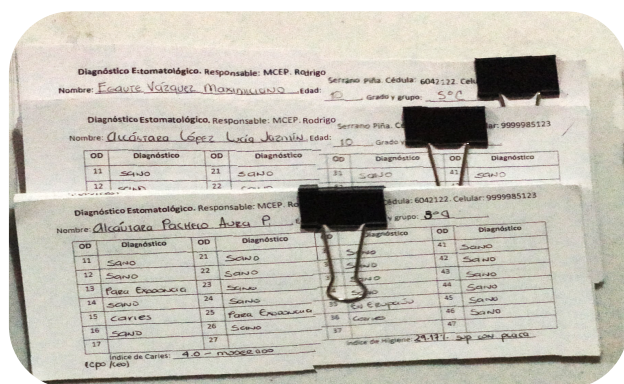


Figura 15. Hojas de Diagnóstico Estomatológico entregadas a los padres/tutores

Con base en los resultados del Índice de O'Leary, se seleccionaron a los individuos con $\leq 20\%$ de superficies dentales con placa dentobacteriana y clasificados en la categoría “aceptable o incipiente” para la segunda fase del trabajo, donde se realizaron los registros de antropometría, datos clínicos y se tomaron las muestras de saliva total y sangre.

6.8.2 Datos Antropométricos, clínicos y biológicos de saliva y sangre total

La obtención de todos los datos antropométricos, clínicos y biológicos se realizaron en un mismo día. El horario de inicio fue a las 8 am, verificando con los tutores y los escolares de forma verbal su interés por seguir participando en el trabajo, así como el recordatorio de las indicaciones dadas por escrito.

La secuencia de procedimientos se inició con la toma de muestras de saliva total, para lo cual se formaron grupos de 5 escolares, los cuales se mantuvieron sentados durante este procedimiento. Lo que permitió al investigador principal vigilar el control de la obtención de la muestra de saliva total y el procesamiento inmediato de la muestra obtenida. Las muestras de saliva fueron almacenadas a 4° C. Cada muestra fue centrifugada por un periodo de 10 a 15 minutos con la finalidad de mover el material insoluble. Las muestras del sobrenadante salival obtenidas, fueron divididas en alícuotas de 1ml en criotubos

preenfriados y se almacenaron a -80°C hasta el momento de su análisis cuantitativo (36,56,63).

Posteriormente se continuo con los procedimientos para la obtención de los datos antropométricos, siguiendo la siguiente secuencia 1) presión arterial, 2) peso, 3) talla, 4) circunferencia abdominal y 5) perímetro de cadera. Los cuales fueron realizados por personal previamente calibrado.

Se continuó con las obtención de muestras de sangre total, la cual fue realizado en un espacio separado de las otras áreas de trabajo, cumpliendo con los procedimientos de asepsia y desinfección estipulados en la norma. Este procedimiento fue realizado por personal experto en el área y apoyados por dos asistentes para el registro correcto de los datos y el almacenamiento y procesamiento inmediato de las muestras. Estas muestras fueron almacenadas a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

6.8.3 Cuantificación De Leptina En Saliva Total y Suero por técnica de ELISA

La cuantificación de Leptina en las muestras séricas y salivales mediante la técnica de ELISA fueron realizadas en las instalaciones de la universidad Antonio Nariño en Colombia. Las pruebas fueron realizadas de acuerdo a las indicaciones del fabricante, analizadas en duplicado. Las muestras salivares serán analizadas sin dilución (63).

6.8.4 Cuantificación De sRANKL En Saliva Total y Suero con técnica de ELISA

La cuantificación de sRANKL en las muestras de saliva total y suero fueron realizadas en el Laboratorio de Investigación de Ciprés Grupo Médico S.C. Las pruebas fueron realizadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante. (25)

6.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Se creó una base de datos en el software Microsoft Excel 2016 (*Redmond, EEUU*) para la captura de los datos obtenidos para cada variable considerada en este estudio. Los análisis estadísticos se realizaron en el software IBM® SPSS Statistics versión 23 (*Chicago, IL, EEUU*). Las pruebas estadísticas empleadas en este trabajo fueron las siguientes:

- 1) Pruebas de estadística descriptiva para cada una de las variables
- 2) Pruebas de normalidad de Kolmogorov–Smirnov / Shapiro–Wilk
- 3) Prueba t de student
- 4) Prueba U de Mann Whitney
- 5) Prueba de Kruskal Wallis
- 6) Prueba chi cuadrada
- 7) Prueba de correlación de Pearson
- 8) Prueba de correlación Rho de Spearman
- 9) Modelos de regresión múltiple
- 10) Modelos de regresión lineal
- 11) Modelos de regresión Poisson
- 12) Análisis de perceptron multicapa

Se consideró un valor $p \leq 0.05$ como significativa.

6.10 ASPECTO ÉTICO

Este trabajo de investigación fue presentado a los Comités de Investigación (Registro Cofepris 13 CI 15106068). y el Comité de Ética en Investigación (Registro Cofepris 13 CEI 15 106 073) del Hospital Materno Perinatal Mónica Pretelini Sáenz, los cuales dictaminaron la aprobación para su desarrollo y ejecución (Dictamen Favorable CONBIOETICA 15CEI00120130322).

Al ser una investigación que se realizó en seres humanos se guio en los conceptos éticos adoptados por la 18ª Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia (Junio 1964) y enmendada en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil en 2013.

De acuerdo al artículo 100 del reglamento de la Ley General de Salud (71), correspondiente al Título Quinto en Materia de Investigación para la Salud, este trabajo en seres humanos se adaptó a los principios científicos y éticos que justifican la investigación médica en donde hay seguridad de que no se expone a riesgos innecesarios al sujeto investigado.

Así mismo, se apegó a las especificaciones del código de Núremberg y de las buenas prácticas médicas. Por medio del consentimiento informado, el investigador principal, dio a conocer a los padres/tutores y escolares los objetivos de la investigación, en qué consistió su participación y se explicó con detalle cada uno de los procedimientos, así como los riesgos y beneficio que estos conllevan. Se propició a que se realicen preguntas por parte de los padres/tutores, se dio respuesta a éstas y se asesoró en caso de que fuera solicitado. Se privilegió la autonomía y se establecieron las condiciones necesarias para que se ejerza el derecho a decidir.

Después de ser informados adecuadamente, los padres/tutores tuvieron la posibilidad de otorgar o no el consentimiento, para que se ejecuten cada uno de los procedimientos. En caso de decidir participar, se solicitó la firma del consentimiento bajo información y del asentimiento bajo información a cada uno de los padres/tutores y escolares; el cual fue leído y firmado frente a dos testigos. Respetando ante todo la decisión autónoma, se preservó el derecho de retirar la participación del escolar en cualquier momento, sin comprometer su canalización a la atención odontológica.

Por último, el área de tratamiento, el equipo y el instrumental se prepararon con técnicas asépticas, de acuerdo con la Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-1994, para la prevención y control de enfermedades bucales, publicada el 6 de enero de 1995. Por ser un estudio prospectivo solamente se guardaron los preceptos del anonimato tanto del individuo participante como del personal que lo atendió

7. RESULTADOS

7.1 ARTÍCULO y/o CAPÍTULO DE LIBRO ACEPTADO

7.1.1 Título del artículo y/o capítulo de libro aceptado

sRANKL and its correlation with metabolic syndrome parameters in children

7.1.2 Página frontal del Manuscrito


Received: 12 June 2018 | Revised: 20 July 2018 | Accepted: 1 August 2018

DOI: 10.1111/ijpd.12422

ORIGINAL ARTICLE

WILEY INTERNATIONAL JOURNAL OF
PAEDIATRIC DENTISTRY

sRANKL and its correlation with metabolic syndrome parameters in children

Rodrigo Serrano-Piña^{1,2} | Martha Liliana Trujillo-Güiza³ | Rogelio J. Scougall
Vilchis⁴ | Cristian F. Layton-Tovar⁵ | Hugo Mendieta-Zerón⁶ 

¹Faculty of Nursery, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), Toluca, Mexico

²Faculty of Odontology, Autonomous University of Yucatan (UADY), Mérida, Mexico

³Faculty of Medicine, Antonio Nariño University, Bogotá, Colombia

⁴Faculty of Odontology, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), Toluca, Mexico

⁵Coordinación de Hospitales de Alta Especialidad (CHAE), Secretaría de Salud, Toluca, Mexico

⁶Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), Ciprés Grupo Médico S.C. (CGM) and "Mónica Pretelini Sáenz" Maternal-Perinatal Hospital (HMPMPS), Toluca, Mexico

Correspondence

Hugo Mendieta Zerón, PHD, Felipe Villanueva Sur 1209, Col. Rancho Dolores, C.P. 50170, Toluca, Edo. de México, México.
Email: dmendietaz@yahoo.com

Funding information

Ciprés Grupo Médico S.C. (CGM), Grant/Award Number: 2017-02, 2016-08-01

Background: Activating receptor ligand for nuclear factor (RANKL) has been identified as a ligand attached to the cell membrane of osteoblasts and odontoclasts

Aim: To determine a possible association of sRANKL in saliva and serum with the parameters of metabolic syndrome (MS) in paediatric population aged 8-12 years.

Design: This was a clinical, analytical and comparative study. Students between 6 and 12 years with good oral hygiene were included. Anthropometry, clinical analysis, dentobacterial plaque registration were registered as well as sRANKL in total saliva and serum through the ELISA technique.

Results: A total of 43 children were enrolled, with a mean age of 9.7 (± 0.8 years). Contrasting the groups by the presence or absence of the waist circumference above the normal limit, the difference in serum sRANKL concentration was statistically significant ($P \leq 0.05$). A negative statistical significance was found in the correlation between serum sRANKL and HDLc ($r^2 = -0.310$, $P = 0.046$). Saliva sRANKL did not show statistical difference between neither gender nor body mass index and was not correlated with any parameter of the MS.

Conclusions: A good oral hygiene seems to avoid the effects of MS on the oral cavity.

KEY WORDS

children, metabolic syndrome, saliva, sRANKL

7.1.3 Carta de Aceptación

Decision Letter (IJPDP-06-18-6808.R1)

From: danielar@usp.br
To: mezh_74@yahoo.com
CC: rodrigo.serrano@correo.uady.mx, mmalltg@gmail.com, rogelio_scougall@hotmail.com, cristianlayton@hotmail.com, mezh_74@yahoo.com
Subject: International Journal of Paediatric Dentistry - Decision on Manuscript ID IJPDP-06-18-6808.R1
Body: 01-Aug-2018

Dear Dr. Mendieta Zeron,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "sRANKL and its correlation with metabolic syndrome parameters in children" in its current form for publication in the International Journal of Paediatric Dentistry. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

The manuscript now becomes the copyright of this journal. In accordance with accepted practice, the research findings reported in this paper must not appear in another publication before its publication in this journal.

Your article cannot be published until you have signed the appropriate license agreement. Within the next few days you will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask you to log in and will present you with the appropriate licence for completion.

OnlineOpen

If you wish your paper to be OnlineOpen you are required to complete the OnlineOpen payment form available from our website at: <https://onlinelibrary.wiley.com/onlineOpenOrder>
OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

In addition to publication online via Wiley Online Library, authors of OnlineOpen articles are permitted to post the final, published PDF of their article on a website, institutional repository, or other free public server, immediately on publication

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

As part of the Journal's continued commitment to its authors, the Editorial Office and Publisher wish to keep you informed about what will happen next. The link below contains information regarding journal publication and services for authors, which you may find useful for future reference.
<http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/>

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the International Journal of Paediatric Dentistry, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Yours Sincerely,
Dr. Daniela Raggio
Editor-in-Chief, International Journal of Paediatric Dentistry
danielar@usp.br

P.S. Bring your research to life by creating a video abstract for your article! Wiley partners with Research Square to offer a service of professionally produced video abstracts. Learn more about video abstracts at <http://www.wileyauthors.com/videoabstracts> and purchase one for your article at <https://www.researchsquare.com/wiley> or through your Author Services account. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

7.1.4 Resumen

Background: Activating receptor ligand for nuclear factor (RANKL) has been identified as a ligand attached to the cell membrane of osteoblasts and odontoclasts.

Aim: To determine a possible association of sRANKL in saliva and serum with the parameters of metabolic syndrome (MS) in paediatric population aged 8-12 years.

Design: This was a clinical, analytical and comparative study. Students between 6 and 12 years with good oral hygiene were included. Anthropometry, clinical analysis, dentobacterial plaque registration were registered as well as sRANKL in total saliva and serum through the ELISA technique.

Results: A total of 43 children were enrolled, with a mean age of 9.7 (± 0.8 years). Contrasting the groups by the presence or absence of the waist circumference above the normal limit, the difference in serum sRANKL concentration was statistically significant ($P \leq 0.05$). A negative statistical significance was found in the correlation between serum sRANKL and HDLc ($r^2 = -0.310$, $P = 0.046$). Saliva sRANKL did not show statistical difference between neither gender nor body mass index and was not correlated with any parameter of the MS.

Conclusions: A good oral hygiene seems to avoid the effects of MS on the oral cavity.

KEY WORDS

children, metabolic syndrome, saliva, sRANKL

7.1.5 Apartados del artículo

1 | INTRODUCTION

Published data predict that 80%-85% of paediatric patients will be obese in adulthood.^{1,2} A recent study in Mexican children reports that 44.3% of children with obesity have Metabolic Syndrome (MS).³ It should be kept in mind that up to now there is no consensus for the definition of MS in the paediatric population.^{2,4} Over the course of time, several definitions of MS have been proposed.⁵ In 2007, the International Diabetes Federation (IDF) made the first definition of MS in paediatric patients using diagnostic criteria based on age, dividing the population into two groups: 6-9 years and 10 -16 years old.²

The majority of studies consider MS as the presence of at least two of the parameters mentioned by the IDF.^{1,6} The aetiology of MS is not known in its entirety; it is considered to be an interaction between different factors such as metabolism, diet, environment and genetic,⁴ as well as lifestyle also influences the development of MS.⁷ Accumulated knowledge indicates that only 10% of MS cases can be explained by genetic predisposition.² These findings also support the functional role of leptin in the dentin mineralization process and/or in dental pulp reparative and immune responses.⁷

On the other hand, the receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) is a protein belonging to the Tumour Necrosis Factor (TNF) superfamily.⁸ It has been identified as a ligand attached to the cell membrane (mRANKL) of osteoblasts, stromal cells, periodontal ligament fibroblasts, odontoclasts, gingival fibroblasts, synovial and dental follicle.^{9,10} It may also be attached to its RANK receptor on the surface of hematopoietic precursor cells.¹¹ RANKL can be released from the cell surface through a proteolytic scission into a soluble form (sRANKL)¹² by means of a metalloprotease known as TNF- α conversion enzyme.¹³ This facilitates the release of sRANKL in the extracellular environment through which it propagates its action.

In recent years, saliva is considered a fluid that has several key advantages for the diagnosis and early prognosis of several diseases. These advantages include low invasiveness, easy collection and processing, and low cost.¹² Gingival Crevicular Fluid (GCF) has also been

used to perform noninvasive tests.¹⁴ There are reports on the presence and levels of RANKL, TNF- α and osteoprotegerin in unstimulated total saliva; however, the results are too limited to allow conclusions about salivary diagnostic values.¹¹

Saliva contains multiple proteins with different functions. Many of these proteins are metabolic hormones, which come from various sources such as salivary glands or transudate plasma. Therefore, saliva is a dynamic fluid with changes in its composition caused by physiological or pathological factors.¹⁵ Local factors such as dental replacement, gingivitis or periodontal disease, and systemic factors such as growth, obesity or diabetes mellitus, modify the salivary proteome.

The aim of this project was to determine if an adequate dental hygiene can minimize at a local level the effect of MS by measuring salivary sRANKL.

2 | MATERIALS AND METHODS

This was a clinical, analytical and comparative study. The Ethics Committee of the “Mónica Pretelini Sáenz” Maternal-Perinatal Hospital, Health Institute of the State of Mexico, approved the protocol (code: 217B500402016054). All procedures were performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the General Health Law in Mexico. The signature of the informed consent was obtained by the parent or guardian and the informed consent of the scholar prior to performing any procedures.

Authorization was requested from the school principal prior to the school visit. During the first visit, 400 forms of assent and informed consent were given to the tutors. Only those participants who returned the forms with their signature and the signatures of their parents or guardians were included in this study.

3 | SUBJECTS

Children of the “Venustiano Carranza” Primary School in San Mateo Atenco, State of Mexico, between 6 and 12 years, were included in the study. The inclusion criteria were those students signing the inform and consent forms with adequate oral hygiene defined by the Plaque Control Record of O’Leary $\leq 20\%$. Individuals with a history of chronic

degenerative diseases, with hypotensive or lipid-reducing treatment, and under orthodontic or maxillofacial orthopaedic treatment were excluded.

3.1 | Sample

From a total scholar population of 600 children, 30% considered with overweight/obesity, with a 95% confidence interval and precision ± 15 percent units, and anticipating a replacement rate of 14%, a sample size of 43 subjects was obtained.

3.2 | Anthropometry

Weight and height were measured to one decimal place while wearing light clothing and without shoes, using a calibrated digital scale (*Microlife AG 9435, Switzerland*) and a stadiometer (*Seca 213, Hamburg, Germany*). Waist Circumference (WC) and Hip Circumference (HC) were measured using a fibreglass measuring tape to the nearest 0.1 cm, and for WC taking the midpoint between the last rib and the iliac crest (*Seca 201, Hamburg, Germany*). Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilo-grams divided by height in metres squared (kg/m^2). The BMI percentile tables were those for children developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Participants were classified as obese if they had a BMI at or above the 90th percentile.¹⁶

Participants remained seated for five minutes before recording their blood pressure. Registration was performed on both arms positioned at heart level using a sphygmomanometer adjusted to the age group. The highest blood pressure obtained was reported. Children were identified as prehypertensive or hypertensive if their systolic and diastolic blood pressure readings were at or above the 90th percentile, according to age and sex. Data from the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents were used as the reference.¹⁷

3.3 | Laboratory sampling

Sample collection was performed on a schedule from 8 to 11 am, after a fasting period of 8 hours. Each schoolchild was collected blood samples (plasma glucose, triglycerides, high-

density lipoprotein and total cholesterol) (*RX Imo-laTM, Randox*), and aliquots were kept frozen at -80°C until analysed for leptin and sRANKL. The definition of MS was based on the IDF criteria¹⁸ and adjusted by age group (Table 1).

Parameters	Criteria based on age	
	Between 6 and <10 y	Between 10 and <16 y
Obesity	Abdominal circumference ≥ 90 th percentile specific for age and gender	Abdominal circumference ≥ 90 th percentile specific for age and gender
Blood pressure	≥ 90 th percentile for age, gender and height	>130/85 mm Hg
Glucose	≥ 110 mg/dL	>5.6 mmol/L (>100 mg/dL)
HDL	<50 mg/dL	<1.03 mmol/L (<40 mg/dL)
Triglycerides	≥ 100 mg/dL	>1.7 mmol/L (>150 mg/dL)

T A B L E 1 Metabolic syndrome criteria for children (IDF)

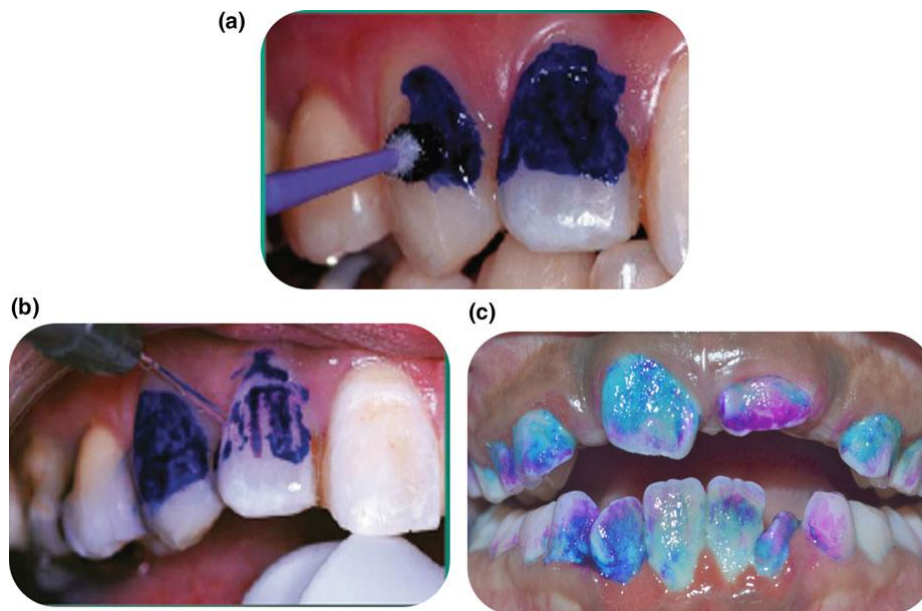
3.4 | Dental evaluation

The dental evaluation was performed in the morning by a single examiner. The intraoral revision was performed with natural light and the examiner used a lightweight portable examination during the procedure. The amount of dentobacterial plaque present in the oral cavity was counted. For dentobacterial plaque staining, we used dental plaque developer gel according to the manufacturer's instructions (*GC Plaque ID Gel™, GC Corporation Nimi Chemical Industrial Co. Ltd, Yokohama, Japan*). This material was applied with a regular 2 mm disposable microapplicator (*Original microbrush, Microbrush International, WI, USA*). Excess developer gel was removed with purified water rinses for 15 seconds (Figure 1 A, B, C). The O'Leary plaque index was used to calculate the percentage of stained surfaces in all the dental organs present in the oral cavity.¹⁹ For this study, a dentobacterial plaque was considered acceptable on 20% of the dental organ surfaces.

3.5 | Stimulated whole saliva samples

Saliva collection was performed after a fasting period of 2 hours (only the ingestion of purified water was allowed).²⁰ A dental prophylaxis was performed using a sterile micromotor brush without toothpaste placed in a Saeshin electric motor (*Saeshin Precision*

Co. Ltd, Korea). Dentobacterial plaque on oral mucosa and tongue was removed with a new toothbrush. Afterwards, teeth were rinsed with purified water for 60 seconds to eliminate any remnant.²¹ Prior to collecting saliva, schoolchildren rinsed their mouths with cold purified water and instructed them to chew sterile gauze for 60 seconds that was placed in the oral cavity with a sterile Hu-Friedy dental healing clamp (*Hu-Friedy Mfg. Co., LLC, Chi, USA*). In the end, the produced saliva was spit into a sterile Eppendorf tube. All samples were stored at 4°C until processing.



F I G U R E 1 Application of GC Tri Plaque ID Gel™. A) The application of the dentobacterial plate staining material begins on the vestibular surface. It is followed a reverse direction on the palatal surfaces until they return to the dental organ where the staining started. B) After rinsing, rinse with purified water for 15 seconds. C) Stained dentobacterial plate for the registration of the O'Leary index

3.6 | Quantification of sRANKL and leptin

The quantification of saliva concentrations of sRANKL was performed using the ELISA technique, with the human-specific Free Soluble RANKL kit (*Biomedica Immunoassays*) at the Research Laboratory of Ciprés Grupo Médico S.C. Serum leptin was measured using a Leptin ELISA Kit (*Aviva Systems Biology, cat. OKBB00206*) at the Antonio Nariño University, Colombia.

3.7 | Statistical analysis

The Kolmogorov-Smirnov test of normality was applied to all the quantitative variables. The Student's *t* test or Mann-Whitney test were used as indicated. The Pearson or Spearman correlation tests were used for continuous variables if they had a parametric or non-parametric distribution. All the tests were performed using the SPSS software v. 23 (IBM, USA). A difference with a $p \leq 0.05$ value was considered significant.

4 | RESULTS

A total of 43 scholars with an age range between 8.1 and 12.2 years were included in the study. Table 2 shows the general characteristics of the population, anthropometric data and laboratory results. By unknown reasons, in two serum samples it was not possible to measure leptin. There was no statistically significant difference in anthropometric, clinical or biochemical data between boys and girls.

Variable	n = 43		Boys (n = 22)		Girls (n = 21)		P
	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	Mean	(±SD)	
Age (years)	9.7	(±0.86)	9.5	(±0.8)	9.9	(±0.9)	–
Weight (kg)	35.2	(±8.1)	34.8	(±8.2)	35.7	(±8.2)	0.585 ^a
Height (cm)	135.4	(±7.2)	134.9	(±6.81)	136	(±7.7)	0.715 ^a
Waist (cm)	69.4	(±8.03)	69.9	(±9.05)	68.9	(±6.99)	0.770 ^a
Hip (cm)	73.9	(±8.6)	73.9	(±9.37)	74	(±7.97)	0.688 ^a
SBP (mm Hg)	96.7	(±13.8)	94.7	(±15.4)	98.8	(±12.0)	0.272 ^a
DBP (mm Hg)	60.7	(±8.6)	59.3	(±7.1)	62.1	(±9.9)	0.419 ^a
BMI (kg/m ²)	19.1	(±3.3)	18.9	(±3.1)	19.1	(±3.5)	0.913 ^a
Glucose (mg/dL)	91.2	(±9.7)	93.7	(±10.7)	88.5	(±8.04)	0.084 ^a
TC (mg/dL)	172.5	(±30.7)	174.4	(±30.87)	170.5	(±31.3)	0.684 ^b
HDL (mg/dL)	33.4	(±2.3)	34.5	(±2.4)	34.4	(±2.4)	0.942 ^b
TG (mg/dL)	105.1	(±39.3)	100.3	(±28.1)	109.9	(±48.6)	0.961 ^a
sRANKL saliva (pmol/L)	0.046	(±0.03)	0.036	(±0.026)	0.056	(±0.034)	0.152 ^a
sRANKL serum (pmol/L)	0.161	(±0.09)	0.0154	(±0.063)	0.167	(±0.111)	0.627 ^b
Leptin serum (pmol/L) (n = 41)	800.7	(±1327.3)	945.1	(±1445.5)	368.8	(±935.9)	0.095 ^a
			(n = 21)		(n = 20)		

BMI, Body Mass Index; DBP, Diastolic Blood Pressure; HDLc, High-Density Lipoprotein; SBP, Systolic Blood Pressure; sRANKL, soluble activating receptor ligand for nuclear factor; TC, Total cholesterol; TG, Triglycerides. ^aU Mann-Whitney test. ^b*t* student test.

T A B L E 2 Anthropometric, clinical characteristics and biochemical data of the population

The distribution of MS parameters in the population is presented in Table 3. The central obesity parameter, determined by the waist circumference, was the one with the highest prevalence (n = 34), while the high-density lipoprotein cholesterol (HDLc) parameter was low in 100% of the population. Therefore, according to the IDF definition, 32.6% of the schoolchildren (eight boys and six girls) in our study presented with MS.

Parameter of metabolic syndrome		N	sRANKL saliva Mean (±)	p	sRANKL serum Mean (±)	p
Glucose	Present	2	0.022 (± 028)	0.800	0.178 (±025)	0.602
	Absent	41	0.027 (± 034)		0.156 (±095)	
SBP	Present	4	0.024 (± 33)	0.856	0.214 (±047)	0.083
	Absent	39	0.027 (±034)		0.152 (±094)	
TG	Present	13	0.030 (±032)	0.648	0.183 (±084)	0.193
	Absent	30	0.026 (±034)		0.146 (±095)	
Waist	Present	34	0.025 (±034)	0.453	0.174 (±092)	0.017
	Absent	9	0.033 (±031)		0.094 (±064)	
HDLc	Present	43	0.027 (±033)	–	0.157 (±093)	–

HDL, High-Density Lipoprotein; SBP, Systolic Blood Pressure; sRANKL, soluble activating receptor ligand for nuclear factor; TG, Triglycerides

T A B L E 3 Concentration of sRANKL in saliva and serum by parameter of metabolic syndrome (n=43)

Serum and saliva concentrations of sRANKL, classified by the presence or absence of MS in each individual, are shown in Table 3. We found no statistically significant difference when contrasting the presence or absence of any MS criteria, with the exception of serum sRANKL and waist circumference ($p = 0.017$).

Parameter of metabolic syndrome		n	Leptin serum Mean (±SD)		p
Waist	Present	9	796.6	(±1380.1)	0.914
	Absent	32	192.6	(±167.4)	
Glucose	Present	2	2535.0	(±3452.7)	0.380
	Absent	39	568.0	(±1058.2)	
TG	Present	13	799.0	(±1037.6)	0.480
	Absent	28	601.3	(±1341.1)	
SBP	Present	4	619.3	(±879.4)	0.359
	Absent	37	668.8	(±1285.6)	
HDLc	Present	41	664.0	(±1243.3)	–

HDLc, High-Density Lipoprotein Cholesterol; SBP, Systolic Blood Pressure; TG, Triglycerides.

T A B L E 4 Concentration of leptin in serum by parameter of metabolic syndrome (N = 41)

Furthermore, no statistically significant differences were found when comparing serum leptin concentrations with the presence or absence of MS parameters in the study population (Table 4). Table 5 shows the concentrations of sRANKL and leptin by BMI category and shows no statistically significant differences between them.

BMI	sRANKL saliva Mean (\pm SD)	<i>p</i>	sRANKL serum Mean (\pm SD)	<i>p</i>	Leptin serum Mean (\pm SD)	<i>p</i>
Low-weight (n = 4)	0.067 (0.01)		0.065 (0.073)		159.9 (109.8)	
Normal-weight (n = 22)	0.040 (0.022)	0.264	0.182 (0.092)	0.132	580.7 (1031.2)	0.697
Obesity (n = 17)	0.047 (0.041)		0.157 (0.079)		1344.3 (1756.5)	

BMI, Body Mass Index; sRANKL, soluble activating receptor ligand for nuclear factor. ^a Kruskal-Wallis test

T A B L E 5 Distribution of sRANKL in saliva and serum and leptin in serum by BMI category ^a

BMI had strong, positive and statistically significant correlations with waist circumference, systolic blood pressure and triglycerides ($p \leq 0.01$). The correlation between serum leptin concentration and waist circumference was not significant ($r^2 = 0.337$, $p = 0.51$), but the correlation between leptin concentration and hip circumference was significant ($r^2 = 0.363$, $p = 0.035$). The correlation between sRANKL and HDLc was negative and statistically significant ($r^2 = -0.310$, $p = 0.046$).

5 | DISCUSSION

According to the literature, the Mexican population has a genetic predisposition to low levels of HDLc.^{22,23} Our results confirm this finding as all (100%) of the individuals in our study population had low HDLc values.

Previous studies of Mexican children indicate that the prevalence of MS is high in the presence of obesity. The results of this study reinforce this finding as 32% of the schoolchildren in our study had MS and 79% of our participants presented with central obesity. In addition, dyslipidaemias are determining factors for the development of MS³ and 100% of the children in this study had low HDLc values.

Metabolic risk factors can compromise quality of life at an early age. Unfortunately, there is a lack of a reliable biomarker associated with MS in the early stages of life. Previous

reports mention that the concentrations of sRANKL in serum are three times higher in boys than in girls and three times higher in adolescents than in children.²⁴ These data were not confirmed in our study and this could be due to the age range of the population reported here as growth processes may be in a period of latency prior to puberty and adolescence. As hypothesized, higher, statistically significant, values of serum sRANKL were found in schoolchildren with central obesity. The absence of statistically significant differences between boys and girls was expected, as their BMI values were similar.

The concentration of sRANKL found in saliva could be considered a reflection of the systemic condition of each individual. In our study, the concentration of sRANKL in saliva did not show statistical significance, and this is in accordance with Zeigler's report.²⁵ This can be partially explained by our selection of study participants with adequate oral hygiene conditions, thus limiting the production of sRANKL by local factors.

It is challenging to diagnose MS in schoolchildren. Therefore, the search for biomarkers associated with this syndrome is mandatory. In our study, we found a single significant correlation between sRANKL in serum and hip circumference, followed by waist circumference, and this is the only MS parameter that was close to being significant. The negative correlation between sRANKL in serum and the HDLc parameter reflects a novel field of research (Figure 2). This moderate correlation could confer a new tool to discern a subgroup of children that are at higher risk of metabolic disease in adulthood.

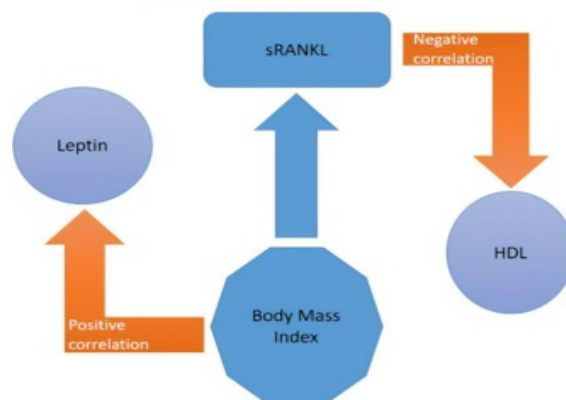


FIGURE 2 Leptin and serum sRANKL correlations with BMI and HDLc. BMI, Body Mass Index; HDLc, High-Density Lipoprotein; sRANKL, soluble activating receptor ligand for nuclear factor

The lack of correlation between MS parameters and salivary sRANKL suggests the possibility that maintaining a healthy mouth can be a useful tool to prevent, to some extent, the dental deterioration that is normally expected in individuals with MS. Yet, it will be necessary to carry out a clinical, prospective and comparative study between healthy children and those with MS, with and without healthy mouths, to calculate the odds ratio of each MS parameter in this population.

This study has some limitations. First, we did not test the complete signal pathway molecules of the RANKL/ RANK/OPG (osteoprotegerin) system involved in root resorption repair by cementum.²⁶ Second, the type of diet may have been a confounding variable despite avoiding biases in the quantification of sRANKL concentrations in saliva attributed to dental replacement and bone remodelling. Notwithstanding, this study adds some valuable information to possible associations between MS parameters and higher levels of RANK in serum.

Further studies are needed to elucidate the role of other pathways not analysed in this study such as that of Wnt/ β -catenin, which has proven to be important in dental resorption,²⁷ as well as the effect of insulin on RANKL-induced osteoclastogenesis via ERK1/2 activation and induction of NFATc1 and Atp6v0d2.²⁸

Finally, in searching for preventive actions in addition to a healthy diet aimed at the reduction in diabetogenic and obesogenic food, it is necessary to consider a reduction in cariogenic food or to add natural anti-inflammatory modulators that are effective against dental pulpal inflammation.²⁹

6 | CONCLUSIÓNS

The results obtained from this study suggest that, with good oral hygiene, the presence of metabolic parameters in scholars does not activate the RANKL/RANK/OPG pathway into an erosive phase. Furthermore, the lack of significance in our study means that we need to consider other sources of saliva, such as unstimulated total saliva or GCF, to determine more specifically the use of saliva sRANKL as a possible biomarker associated with MS in childhood.

REFERENCES

1. Guijarro de Armas MAG, Monereo Megías S, Merino Viveros M, Iglesias Bolaños P, Vega Piñero B. Prevalence of metabolic syndrome in a population of obese children and adolescents. *Endocrinol Nutr* 2012;59:155-159.
2. Weiss R, Bremer AA, Lustig RH. What is metabolic syndrome, and why are children getting it? *Ann N Y Acad Sci* 2013;1281:123-140.
3. Guzmán-Guzmán IP, Salgado-Bernabé AB, Muñoz Valle JF, Vences-Velázquez A, Parra-Rojas I. Prevalence of metabolic syndrome in children with and without obesity. *Med Clin (Barc)* 2015;144:198-203.
4. Villa JK, Silva AR, Santos TS, Ribeiro AQ, Sant'Ana LF. Metabolic syndrome risk assessment in children: use of a single score. *Rev Paul Pediatr* 2015;33:187-193.
5. Oquendo DY, Piñeiro LR, Duarte MC, Guillen DA. Síndrome metabólico en niños y adolescentes hipertensos obesos. *Rev Cubana Pediatr* 2010;82:31-40.
6. Mameli C, Zuccotti GV, Carnovale C, et al. An update on the assessment and management of metabolic syndrome, a growing medical emergency in paediatric populations. *Pharmacol Res* 2017;119:99-117.
7. Martín-González J, Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, et al. Leptin promotes dentin sialophosphoprotein expression in human dental pulp. *J Endod* 2015;41:487-492.
8. Nagy V, Penninger JM. The RANKL- RANK Story. *Gerontology* 2015;61:534-542.
9. Wada Y, Mizuno M, Tamura M. Enamel matrix derivative neutralized the effect of lipopolysaccharide on osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression of osteoblasts. *Arch Oral Biol* 2009;54:306-312.
10. Belibasakis GN, Meier A, Guggenheim B, Bostanci N. The RANKL- OPG system is differentially regulated by supragingival and subgingival biofilm supernatants. *Cytokine* 2011;55:98-103.
11. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL- OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol* 2012;39:239-248.
12. Zhang A, Sun H, Wang P, Wang X. Salivary proteomics in biomedical research. *Clin Chim Acta* 2013;415:261-265.
13. Belibasakis GN, Meier A, Guggenheim B, Bostanci N. Oral biofilm challenge regulates the RANKL- OPG system in periodontal ligament and dental pulp cells. *Microb Pathog* 2011;50:6-11.

14. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* 2007;34:370-376.
15. Zolotukhin S. Metabolic hormones in saliva: origins and functions. *Oral Dis* 2013;19:219-229.
16. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Health Statistics. <https://www.cdc.gov/growthcharts/index.htm> [Accessed June 11, 2018].
17. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114:555-576.
18. IDF. IDF consensus definition of metabolic syndrome in children and adolescents [Internet]. Available from: <https://www.idf.org/elibrary/consensus-statements/61-idf-consensus-definition-of-metabolic-syndrome-in-children-and-adolescents>
19. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43:38.
20. Fonteles CS, Dos Santos CF, da Silva Alves KS, de Miranda Mota AC, Damasceno JX, Fonteles MC. Comparative proteomic analysis of human whole saliva of children with protein–energy undernutrition. *Nutrition* 2012;28:744-748.
21. Nigro E, Piombino P, Scudiero O, et al. Evaluation of salivary adiponectin profile in obese patients. *Peptides* 2015;63:150-155.
22. Beltrán-Sánchez H, Crimmins EM. Biological risk in the Mexican population at the turn of the 21st century. *J Cross-Cult Gerontol* 2013;28:299-316.
23. Wall-Medrano A, Ramos-Jiménez A, Hernández-Torres RP, et al. Cardiometabolic risk in young adults from northern Mexico: revisiting body mass index and waist-circumference as predictors. *BMC Public Health* 2016 Mar;8(16):236.
24. Wasilewska A, Rybi-Szuminska AA, Zoch-Zwierz W. Serum osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappaB (RANKL) in healthy children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009;22:1099-1104.
25. Zeigler CC, Persson GR, Wondimu B, Marcus C, Sobko T, Modéer T. Microbiota in the oral subgingival biofilm is associated with obesity in adolescence. *Obes (Silver Spring)* 2012;20:157-164.
26. Iglesias-Linares A, Hartsfield JK. Cellular and molecular pathways leading to external root resorption. *J Dent Res* 2017;96:145-152.

27. Lim WH, Liu B, Hunter DJ, Cheng D, Mah S, Helms JA. Downregulation of Wnt causes root resorption. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2014;146:337-345.
28. Oh JH, Lee JY, Joung SH, Oh YT, Kim HS, Lee NK. Insulin enhances RANKL-induced osteoclastogenesis via ERK1/2 activation and induction of NFATc1 and Atp6v0d2. *Cell Signal* 2015;27:2325-2331.
29. Hirao K, Yumoto H, Nakanishi T, et al. Tea catechins reduce inflammatory reactions via mitogen-activated protein kinase pathways in toll-like receptor 2 ligand-stimulated dental pulp cells. *Life Sci* 2010;86:654-660.

7.2 ARTÍCULO y/o CAPÍTULO DE LIBRO ENVIADO



7.2.1 Título del artículo y/o capítulo de libro enviado

Prevalence of obesity in elementary school children and its association with dental caries

7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo

Responder a todos | Eliminar | Correo no deseado | ...

Oral Health and Preventive Dentistry- OHPD-2018-340 - (5349): Co-author manuscript submission confirmation

 Oral Health and Preventive Dentistry <natalie@quintpub.co.uk>
vie 21/09/2018 12:39 p.m.
Para:  Rodrigo Serrano Piña

Bandeja de entrada

Submission: OHPD-2018-340 - (5349) - Prevalence of obesity in elementary school children and its association with dental caries

Attention: Prof Serrano Piña

Automatic notification:

The above manuscript has been submitted online to Oral Health and Preventive Dentistry. You have been included as a contributing author for this manuscript.

Please contact the editorial office at the email below if you are NOT a contributing author for the above manuscript.

You can follow the progress of this manuscript by logging onto the website using the login link below. (copy and paste this link into the address line of a web-browser if it is de-activated)

All correspondence regarding this manuscript will be sent to the submitting author from the editorial office.

Sincerely,

The Editorial Office

Website: <https://www.manuscriptmanager.net/ohpd>
Email: rodrigo.serrano@correo.uadvmx

7.2.3 Resumen

A B S T R A C T

Aim: To determine any associations between obesity and caries activity in the mixed dentition stage among school children in a low-income Mexican Primary School.

Methods: **Study Design:** This cross-sectional study was performed in Mexican schoolchildren aged 8 to 12 years. The Body Mass Index (BMI) was obtained, and children were classified as overweight/obese considering age and sex. The experience of caries in permanent and temporary dentition was established with the sum of decayed/missing/filled teeth (DMFT or deft index for permanent or temporal dentition); besides it was considered a caries index for all teeth [Total Decay (TD)]. Mann-Whitney U-test was used to contrast the distribution between sexes of the quantitative variables, the Kruskal Wallis test was used to test the distribution of the quantitative variables between the categories of each variable. Spearman's Rho test was used to establish the correlation between the quantitative variables. Multiple linear regression models were performed to find the relationship between the O'Leary index and the BMI. A Multilayer Perceptron was constructed as follows: a) dependent variables: deft, DMFT, TD and O'Leary index, b) factor: BMI, c) covariable: age.

Results A total of 331 children were included in the study. Dental caries prevalence was 32.4% (95% CI 29.7-35.2), while the mean DMFT was 0.64 (\pm SD 1.00). Children with obesity or overweight presented higher dental caries experience.

Conclusions: This study confirms the high prevalence of obesity in school children. It also shows that rates of dental caries activity are inversely proportional to obesity.

Keywords: Dental caries; Obesity; Oral health; Exercise; Overweight.

7.2.4 Apartados del Artículo

1 | I N T R O D U C T I O N

Despite improved preventive regimens and advances in early diagnostic techniques, dental caries remain a highly prevalent childhood disease (1,2). Possible variables associated with dental caries have been extensively investigated, and some are well known in children, such

as sex, skin color, diet, tooth brushing habits, along with socioeconomic factors, such as family income and type of school (8, 23). Because high-calorie diets are a major cause of obesity, it is speculated that these diets could also cause dental caries. On the other hand, discussions about the relationship between dental caries and other less studied factors such as obesity or physical activity have only increased recently (22). Numerous studies have been performed to determine whether an association exists between being overweight or obese and caries; however, the results of these studies are inconsistent (4,14).

Overweight and obesity are serious public health problems (9,28). The prevalence of obesity has increased rapidly worldwide in all ages and socioeconomic groups, both in developed and developing countries (25). In Mexico, obesity is a problem across all ages. In preschoolers, the prevalence of obesity was reported to be 34.4% (24). Although studies investigating obesity among Mexican students of primary schools have been published previously, there are no published works targeting the possible association between obesity, type of dentition, and caries. The aim of this study was to determine if any associations exist between obesity and caries activity in the mixed dentition stage among school children in a low-income Mexican primary school.

2 | MATERIALS AND METHODS

This was a clinical, descriptive, cross-sectional and prospective study. The targeted population included all of the children in the 4th, 5th, and 6th grade at the elementary school “Venustiano Carranza” in San Mateo Atenco, State of Mexico. Third-grade school children aged 8-12 years were also selected to ensure that all subjects were in a stage of mixed dentition. Approval was obtained from the school principal prior to the school visit. Moreover, during the first visit, consent forms with information about the study were distributed to the students. Students were encouraged to bring back the consents on the following morning. A total of 400 consent forms was distributed. At the next school visit, the children who had brought back a signed consent form were examined. Children were eligible to participate if they had returned the signed parental consent form. All measurements were made between 8 and 11 am.

2.1 | Anthropometric measurements

Height, weight, and waist circumference (WC), of all of the students were recorded by a single examiner supported by an assistant for the registration of the obtained data. Height was recorded using a commercial, non-elastic measuring tape. The children stood barefoot on a flat surface, with their weight distributed on both feet, the heels together, with shoulders straight, arms hanging freely, and head looking straightforward. A point was marked on a large white piece of cardboard fixed to the wall that corresponded to the highest point of the head. The tape was used to measure the distance from the floor to that point. Height was rounded to the nearest 0.1 cm.

An electronic weight scale (*Microlife AG 9435 model*) was used to measure body weight with light clothing and without shoes, jackets, or heavy accessories. Each child was instructed to stand in the center of the scale with the feet slightly apart and not to move until the weight appeared on the counter. The readings were rounded to the nearest 100 g.

WC was measured using a non-elastic measuring tape (*seca 201, Hamburg, Germany*), at the highest point of the iliac crest when the child was standing at minimal respiration. The measurement was obtained with each child standing with the arms raised in a horizontal position. WC was rounded to the nearest 0.1 cm. Body mass index (BMI) was calculated for each student by dividing the weight in kilograms by the square of the height in meters (kg/m^2).

In this study, BMI was categorized using the percentile charts for age and sex. The principal cut-off points and their corresponding classifications were as follows: underweight (<5th percentile), normal (5th-84th percentiles), overweight (85th-94th percentiles), and obese (≥ 95 th percentile). With regard to WC, a cut-off of ≥ 90 th percentile for age-specific and gender-specific measurements was used to define obesity (17). Diseased scores (d/D) were used to assess the presence of caries in the primary and permanent teeth.

2.2 | Dental evaluation

The dental evaluation was performed in the morning by a single examiner. The physical space of work was conditioned and organized previously. The intraoral evaluation was performed with natural light and the examiner used a lightweight portable examination kit

during the procedure. Children were seated in front of the examiner on a school chair during the examination. First, the amount of dentobacterial plaque present in the oral cavity was counted. For dentobacterial plaque staining, GC Plaque ID Gel™ dental plaque developer gel (*GC Corporation NIMI Chemical Industrial CO. LTD, Yokohama, Japan*) was used according to the manufacturer's instructions. This material was applied with a regular 2 mm disposable micro applicator (*Original micro brush, Microbrush International, WI, USA*). The excess developer gel was removed with purified water rinses for 15 seconds. The O'Leary index was used to calculate the percentage of stained surfaces in all the dental organs present in the oral cavity (19).

After staining of dentobacterial plaque, a dental prophylaxis treatment was performed to remove the remaining stains, plaque, and food on the tooth surface, using a sterile brush, prophylactic paste, and a Saeshin electric micromotor (*Saeshin Precision CO. LTD, Korea*); the mouth was then rinsed for 30 seconds with cold purified water.

Later, the number of caries in permanent and temporary dentition was established with the sum of decayed/missing/filled teeth (DMFT) or the deft index for permanent or temporal dentition, which was considered a caries index for all teeth [Total Decay (TD)]. A round-ended dental probe, a sterile, flat-surfaced non-magnifying mouth mirror (*Hu-friedy Mfg. Co, LLC. USA*), gauze, and cotton rolls were used. The criteria for the diagnosis of the state of each dental organ and the coding of the WHO were used.³⁰ After the dental examination, a confidential report was sent to the parents informing them about their child's oral health status and treatment needs.

2.3 | Statistical analysis.

Continuous data were expressed as means \pm Standard Deviation (SD). Frequencies and percentages were reported for the categorical characteristics, as well as obesity status and caries status in the primary and permanent teeth. The Kolmogorov-Smirnov / Shapiro-Wilks normality tests were performed on all quantitative variables. U Mann-Whitney tests were used to contrast the distribution between the sexes for the quantitative variables. The Kruskal Wallis test was used to test the distribution of the quantitative variables between the categories for each variable (TD, DMFT, deft, O'Leary, BMI-for-age and z~score). The Spearman's Rho test was used to establish the correlation between the quantitative

variables. Multiple linear regression models were performed to find the relationship between the O'Leary index and the BMI. The models considered the BMI as a continuous and categorical variable and the categories by means of z-score. Additionally, the same relationship was studied and regression models were carried out for the categories of the O'Leary index. Poisson linear regression models were used to evaluate the relationship between caries and BMI. The associations between obesity status, caries, and gender, were analysed using the Chi-square test, as were the associations between obesity status and caries in the primary, permanent, and both primary and permanent teeth. Pearson correlation was used to evaluate correlations between BMI and the evaluated indices (TD, deft, DMFT, and O'Leary). A Multilayer Perceptron was constructed as follows: a) dependent variables: deft, DMFT, TD, and O'Leary index, b) factor: BMI, c) covariable: age. In all cases, the significance level was set at $p < 0.05$, using SPSS version 23.0 software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

2.4 | Ethics

The ethics committee of the “Mónica Pretelini Sáenz” Maternal-Perinatal Hospital (HMPMPS), Health Institute of the State of Mexico (ISEM), approved the protocol (registered at the informatics platform of the ISEM, code: 217B500402016054). All procedures were performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the General Health Law in Mexico. Informed consents were obtained with the signature of the parent or guardian and the student prior to performing any procedures

3 | RESULTS

The study included 331 elementary school children, 171 boys and 160 girls. The mean age of the participants was 10.2 ± 0.9 years, with a range of 8.1-12.4 years. Table 1 shows the general characteristics of the population: anthropometric data, BMI-for-age, dental caries experience (TD, DMFT, deft), and oral hygiene. The number of temporary and permanent dental organs in the full population and per gender are shown in Table 2.

	Total (n = 331)		Boys (n=171)		Girls (n=160)		P
	Mean ± SD	range	Mean ± SD	range	Mean ± SD	range	
Age (years)	10.2 ± 0.98	8.0 – 12.4	10.2 ± 0.99	8.1 – 12.4	10.2 ± 0.9	8.1 – 12.2	-
Weight (kg)	37.5 ± 9.8	19.6 – 87.7	30.1 ± 10.4	21.8 – 87.7	36.9 ± 9.2	19.6 – 66.8	0.548
Height (cm)	140.2 ± 8.3	121 – 168.5	140.2 ± 8.4	123.5 – 168.5	140.1 ± 8.2	121 – 160.5	0.890
BMI-for-age (kg/m²)	18.8 ± 3.5	11.8 – 33.0	19.1 ± 3.6	13 – 33	18.6 ± 3.4	11.8 – 31.3	0.406
DMFT	1.5 ± 1.9	0 – 11	1.4 ± 1.9	0-11	1.7 ± 1.9	0 – 11	0.057
Deft	3.6 ± 2.9	0 – 12	3.6 ± 2.9	0-11	3.5 ± 3.0	0 – 12	0.505
TD	5.1 ± 3.3	0-14	5.0 ± 3.3	0-14	5.2 ± 3.3	0-14	0.586
O’Leary Index	26.3 ± 6.1	12.5 – 52.2	26.1 ± 5.4	14.5 – 40.6	26.5 ± 6.6	12.5 – 52.1	0.761

SD: Standard Deviation. BMI: Body Mass Index; DMFT: decayed, missed or filled permanent teeth; deft: decayed, extracted or filled primary teeth; TD: Total Decay.

Table 1 Distribution of age, weight, height, BMI, DMFT, deft, TD and O’Leary index

	Full population (n=331)	Boys (n=171)	Girls (n=160)	P
	Total dental organs	Total dental organs	Total dental organs	
Total teeth	7974	4089	3885	0.047
Deciduous teeth	2381	1312	1069	0.078
Permanent teeth	5593	2777	2816	0.050

Table 2 Type dentition in the study

Table 3 shows the comparison of variables between gender. In comparison, weight, experience of caries (DMFT, TD) and oral hygiene were slightly higher in women; however, these differences between sexes were not statistically significant. For the age range, the study population presented with mixed dentition, for instance, the mean Dental Organs (DO) present in the oral cavity was 24.09 with a range of 20-28. By sex, the average DO present was 23.9 in males and 24.3 in females. Our results demonstrate that 70.14% of the examined dental organs belonged to the permanent dentition. A statistically significant difference by sex was found in the total number of DOs ($p = 0.047$), as well as in the number of permanent teeth ($p = 0.05$).

Variable	Type of analysis	<i>p</i>	95% CI	
			Low	High
Age (years)	Equal variances assumed	0.805	-0.187	0.241
	Equal variances not assumed	0.805	-0.187	0.241
TD	Equal variances assumed	0.667	1.871	0.558
	Equal variances not assumed	0.667	-0.872	0.558
deft	Equal variances assumed	0.688	-0.509	0.770
	Equal variances not assumed	0.689	-0.510	0.771
DMFT	Equal variances assumed	0.159	-0.702	0.115
	Equal variances not assumed	0.159	-0.702	0.116
O'Leary Index	Equal variances assumed	0.566	-1.699	0.931
	Equal variances not assumed	0.568	-1.708	0.940
Weight (kg)	Equal variances assumed	0.296	-1.000	3.275
	Equal variances not assumed	0.294	-0.991	3.266
Height (cm)	Equal variances assumed	0.901	-1.691	1.920
	Equal variances not assumed	0.901	-1.690	1.919
BMI (kg/m²)	Equal variances assumed	0.222	-0.289	1.230
	Equal variances not assumed	0.222	-0.288	1.238
Deciduous teeth	Equal variances assumed	0.051	-0.003	1.985
	Equal variances not assumed	0.051	-0.005	1.988
Permanent teeth	Equal variances assumed	0.024	-2.543	-0.178
	Equal variances not assumed	0.025	-2.548	-0.173
Dental Organs	Equal variances assumed	0.026	-0.693	-0.045
	Equal variances not assumed	0.026	-0.694	-0.044

BMI: Body Mass Index; deft: Decayed/extracted/filled teeth; DMFT: decayed/missing/filled teeth; TD: Total Decay.

Table 3 Student t test comparison between girls (n=160) and boys (n=171)

Table 4 shows the distribution of the caries experience and oral hygiene index by categories of BMI-for-age and z-score. With regards to BMI-for-age, 54% of the population was classified as normal weight, 25.07% overweight, 13.89% obese and morbidly obese, and 6.64% underweight. The total experience of caries was greater in the low-weight and normal-weight groups (TD 5.27 and 5.26, respectively). The overweight group showed a

greater experience of caries in permanent dentition (DMFT 1.69), while in the primary dentition it was greater in the underweight group (deft 4.0). Regarding oral hygiene, our study showed that the presence of dentobacterial plaque was higher in the obesity and low weight categories (O’Leary 27.97 and 27.15, respectively), while school children with morbid obesity had a lower O’Leary index (25.4). No statistically significant differences were found in the caries experience and oral hygiene among the BMI-for-age categories.

Cat	N = 331	TD			DMFT			deft			O’Leary Index		
		Mean ± SD	Range	p	Mean ± SD	Range	p	Mean ± SD	Range	p	Mean ± SD	Range	p
BMI-for-age Category													
LW	22	5.27 ± 3.89	0 – 14		1.22 ± 1.82	0 – 7		4.0 ± 3.38	0 – 11		27.15 ± 4.0	19.32 – 36.46	
NW	180	5.26 ± 3.23	0 – 13		1.48 ± 1.77	0-11		3.77 ± 2.93	0 – 12		25.96 ± 6.12	12.50 – 45.83	
OW	83	4.81 ± 3.41	0 – 13	.734	1.69 ± 2.25	0-11	.658	3.12 ± 3.0	0-10	.363	26.92 ± 5.81	14.13 – 43.48	.156
Ob	17	4.58 ± 2.85	1 – 9		1.05 ± 1.56	0 – 5		3.52 ± 2.15	0 – 8		27.97 ± 8.25	17.71 – 52.17	
MOB	29	4.86 ± 3.22	1 – 14		1.44 ± 1.7	0-5		3.41 ± 2.94	0 – 10		25.4 ± 6.34	14.58 – 38.54	
z~score Category													
LW	19	4.73 ± 3.64	0 – 13		0.89 ± 1.28	0 – 4		3.82 ± 3.18	0-10		26.92 ± 3.6	19.32 – 32.29	
NW	119	5.58 ± 3.2	0 – 14	.140	1.47 ± 1.63	0 – 7	.555	4.11 ± 3.0	0 – 12	.070	26.41 ± 6.22	14.58 – 45.83	.189
OW	101	4.86 ± 3.24	0 – 13		1.59 ± 2.06	0-11		3.27 ± 2.88	0 – 10		27.11 ± 6.60	14.58 – 52.17	
Ob	92	4.7 ± 3.38	1 – 14		1.55 ± 2.1	0 – 11		3.18 ± 2.82	0-10		27.11 ± 6.60	14.58 – 52.17	

CAT: Category, BMI: Body Mass Index; DMFT: decayed, missed or filled permanent teeth; deft: decayed, extracted or filled primary teeth; SD: Standard Deviation, TD: Total Decay, LW: Low weight, NW: Normal weight, OW: Overweight, Ob: Obesity, MOB: Morbid Obesity. p=≤0.05

Table 4 Distribution of caries experience, oral hygiene between categories of BMI-for-age and z~score

The distribution of the study population in the z~score categories was presented as follows: 35.95% were normal weight, 30.51% were overweight, and 27.79% were obese. The total

caries experience was greater in the normal weight group (TD 5.58); the experience of caries in permanent dentition was greater in the overweight group (DMFT 1.59), while in the primary dentition it was higher in the normal weight group (deft 4.11). The greater presence of dentobacterial plaque was reported in the overweight and obesity groups with a mean of 27.11.

A moderately negative correlation, which was statistically significant, was found between BMI-for-age with the total experience of caries ($r^2 = -0.127$, $p = 0.021$) and with experience of caries in the deciduous dentition (deft) ($r^2 = -0.195$, $p \leq 0.001$).

Linear and logistic regression models were adjusted to analyse the relationship between the O'Leary index and the other variables with a focus on the BMI. When an adjustment was made for sex and age, these variables were not statistically significant, so in the final models only adjusted for the percentage of permanent teeth and BMI.

Table 5 shows the results of the models adjusted for the O'Leary index, being the three adjusted models (1, 2 and 3) significant ($p \leq 0.01$). Being more specific, the variable percentage of permanent DO was significant in all three cases ($p \leq 0.01$). The Model 1 presented a better general fit ($r^2 = 0.04$) and the temporal DO-total DO ratio had a coefficient of 0.06 ($p \leq 0.01$). When using the logistic regression models (4, 5 and 6), the O'Leary categorical variable was dichotomous, with models 4 and 6 being statistically significant overall. Interestingly, the percentage of permanent DO in the three cases was significant in the same direction as the previous models; the BMI in its different forms was not significant in any model.

O'Leary index						O'Leary Category*					
Mod	Independent	C	95% CI	p	F	Mod	Independent	C	95% CI	p	F
1	% permanent teeth	0.06	(2.66 – 9.49)	≤0.01	≤0.01 ^a	4	% permanent teeth	1.02	(1 – 1.03)	≤0.01	0.03 ^a
	BMI-for-age (continuous)	0.04	(-0.23 – 0.15)	0.68			BMI-for-age (continuous)	0.98	(0.92 – 1.05)	0.60	
	% permanent teeth	0.06	(2.42 – 9.09)	≤0.00			% permanent teeth	1.01	(1 – 1.03)	≤0.01	
	BMI-for-age category						BMI-for-age category				
2	Normal (reference)				≤0.01 ^a	5	Normal (reference)				0.058
	Overweight	0.48	(-1.07 – 2.03)	0.54	Overweight		1.19	(0.71 – 2.01)	0.51		
	Obesity	0.21	(-1.71 – 2.14)	0.83	Obesity		1.22	(0.64 – 2.34)	0.55		
	% permanent teeth	0.06	(2.76 – 9.39)	≤0.01	% permanent teeth		1.02	(1 – 1.03)	≤0.01		
	Z~score category					Z~score category					
3	Normal (reference)				≤0.01 ^a	6	Normal (reference)				≤0.01 ^a
	Overweight	1.38	(-2.92 – 0.16)	0.08	Overweight		0.62	(0.36 – 1.06)	0.08		
	Obesity	0.29	(-1.29 – 1.88)	0.71	Obesity		1.03	(1.03 – 1.77)	0.91		

C: coefficient, CI: Confidence interval. BMI: Body Mass Index. * Dichotomous variable. a: chi square test.

Table 5 Regression models for O'Leary index

Table 6 shows the models for the caries experience. Adjustments were tested for the variables; however, the majority of variables were not statistically significant. Only the percentage of permanent DOs showed statistical significance. Therefore, the final model considered three variables: percentage of permanent DO, O'Leary index, and BMI. The O'Leary index was significant in all three models, with a Relative Risk (RR) = 1.02 (95% CI: 1.01-1.02, $p \leq 0.01$). The percentage of permanent DO was significant in all three models ($p \leq 0.01$). No statistically significant relationship with BMI was found in any of the models.

Model	Independent	RR	CI 95%	p	F*
1	% permanent teeth	0.99	(0.99-0.99)	≤0.01	
	O’Leary	1.02	(1.01-1.02)	≤0.01	≤0.01
	BMI-for-age (continuous)	0.99	(0.98-1.01)	0.23	
2	% permanent teeth	0.99	(0.99-0.99)	≤0.01	
	O’Leary	1.02	(1.01-1.02)	≤0.01	
	BMI-for-age Normal (reference)		(0.0) (0.0)		≤0.01
	Overweight	0.97	(0.86-1.09)	0.58	
	Obesity	0.90	(0.78 -1.05)	0.17	
3	% permanent teeth	0.99	(0.99 – 0.99)	≤0.01	
	O’Leary	1.02	(1.01 – 1.02)	≤0.01	≤0.01
	Z~score category Normal (reference)		(0.0) (0.0)		
	Overweight	0.96	(0.86 – 1.08)	0.49	
	Obesity	0.91	(0.81 – 1.02)	0.11	

BMI: Body Mass Index. CI: Confidence interval. *chi square test.

Table 6. Poisson regression models for decay experience

With the Multilayer Perceptron analysis, for the prediction of caries and O’Leary index, there appears to be less error in the prediction of deft than the other indexes in the primary school children (Table 7).

Model summary			
Training	Sum of Squares Errors	432.738	
	Average Overall Relative Error	0.957	
	Relative Error for Scale	DMFT 1.002	
	Dependents	deft	0.883
		Total Decay	0.948
		O’Leary	0.997
	Stopping Rule Used	1 consecutive step(s) with no decrease in error ^a .	
Tests	Training time	0:00:00.18	
	Sum of Squares Errors	62.110	
	Average Overall Relative Error	0.911	
	Relative Error for Scale	DMFT 0.875	
	Dependents	deft	0.795
		Total decay	1.073
		O’Leary	0.980

a. Error computations are based on the testing sample.

Table 7 Multilayer perceptron analysis

4 | DISCUSSION

Several reports have shown that the prevalence of being overweight or obese among children is increasing in developed and developing countries, and this issue is becoming a public health concern (7,12). It is plausible that a high BMI can be harmful to the dental health status of a child (20). On this subject, sugar-sweetened, carbonated beverages have been found to be associated with a higher BMI and poor dietary choices involving, for example, frequent desserts, savoury snacks, and total sugar consumption, as well as with lower milk consumption (5). Our research showed no significant difference in the prevalence of obesity between boys and girls based on BMI. This finding is in agreement with the findings of the 2015 National Health and Nutrition Examination Survey (18).

Obesity and caries are concomitant conditions in many populations, largely because of common risk factors, including consumption of highly caloric and cariogenic substances. Our data adds to the reports of high the prevalence of obesity in low socioeconomic status groups.¹⁶ Even more, this finding is consistent with reports of significantly higher percentages of caries in older children (21).

The current data show an association between anthropometric variables, especially between BMI and caries, but there has been conflicting evidence in the literature with regard to the nature and direction of this association. Similar to our results, it has been shown that dental caries is inversely associated with all anthropometric outcomes in Saudi children, including height and weight, suggesting that untreated caries is associated with poorer growth (3). Furthermore, a survey conducted in 2012 showed that a smaller proportion of obese children present with dental caries at their dental initial examinations compared with normal-weight children (27).

Some effects of dental caries on weight homeostasis that should be considered with regard to reduced weight gain are pain while chewing (3), and alterations due to immune, endocrine, or metabolic responses (11). The relationship in our sample population is not clear, as there was an inverse relationship between the BMI and the presence of caries, possibly explained by the deciduous teeth change.

Willershausen found a significantly lower percentage of obese children to have caries-free teeth than normal-weight children (29). Further, an association between high BMI and incidence of permanent molar smooth surface caries was documented in another study (13). Nevertheless, some investigators have found no correlation between childhood obesity and dental caries (15,26).

The role of diet, for example, is significant in the development of both diseases. Healthy eating, with the inclusion of fruits and vegetables, promotes better overall health. Children who make good food choices including vegetables experience lower risk of caries (10). By the moment, the specific analysis of the effect of each group of nutrients on the presence of caries was beyond the scope of this study.

Fortunately, dental caries is mostly preventable, and even reversible, if detected in early stages and if effective intervention is available (6). It seems that public intervention against caries in children are not been as effective as expected, this is in part due to the conditions and variations in the implementation of the oral health program for school children in Mexico. For example, it is common for health promoters not to consider the indications for the application of topical fluoride in schools, such as previous training in children to retain fluoride in the mouth for one minute, the necessity of the child to have control of the swallowing reflex and even the preparation of the fluoride solution that will be applied, as well as the correct amount of fluoride for each child. The incorrect combination of these situations will decrease the efficacy of topical fluoride application in mixed dentition.

Some limitations of this study are the lack of information about nutritional habits, socioeconomic status, and the activity level of the children. Furthermore, no radiographs were used to confirm the presence of caries.

5 | CONCLUSIONS

This study confirms the high prevalence of obesity in school children. It also shows that rates of dental caries activity are inversely proportional to obesity. In conclusion, the behaviour observed with the oral indices shows a better prediction of deft index based on BMI. Opportunities for future research would be beneficial in the fields of neural networks and health processes as caries prevalence is very diverse, including data pre-processing and

representation, architecture selection, and application. An improved input would help in discerning which age each caries index is most useful in order to confirm the role of obesity.

Future studies containing larger samples are needed to evaluate the effect of obesity on specific types of caries (fissure versus smooth surface caries and anterior versus posterior caries). Furthermore, investigators are encouraged to further evaluate the effect of “junk food” on caries prevalence depending on the child’s BM

REFERENCES

1. Al Agili DE. A systematic review of population-based dental caries studies among children in Saudi Arabia. *Saudi Dent J.* 2013;25(1):3-11.
2. Alayyan W, Al Halabi M, Hussein I, Khamis A, Kowash M. A systematic review and meta-Analysis of school children’s caries studies in gulf cooperation council states. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2017;7(5):234-241.
3. Alkarimi HA, Watt RG, Pikhart H, Sheiham A, Tsakos G. Dental Caries and Growth in School-Age Children. *Pediatrics.* 2014;133(3):e616-23.
4. Bennett S, Woods T, Liyanage WM, Smith DL. A simplified general method for cluster-sample surveys of health in developing countries. *World Health Stat Q.* 1991;44(3):98-106.
5. Collison KS, Zaidi MZ, Subhani SN, Al-Rubeaan K, Shoukri M, Al-Mohanna FA. Sugar-sweetened carbonated beverage consumption correlates with BMI, waist circumference, and poor dietary choices in school children. *BMC Public Health.* 2010 May 9;10:234.
6. Edasserli A, Barnett TA, Kâ K, Henderson M, Nicolau B. Oral Health–Promoting School Environments and Dental Caries in Québec Children. *Am J Prev Med.* 2017;53(5):697-704.
7. Farsi DJ, Elkhodary HM, Merdad LA, Farsi NM, Alaki SM, Alamoudi NM, Bakhaidar HA, Alolayyan MA. Prevalence of obesity in elementary school children and its association with dental caries. *Saudi Med J.* 2016;37(12):1387-1394.
8. Ferreira Antunes JL, Peres MA, de Campos Mello TR. Determinantes individuais e contextuais da necessidade de tratamento odontológico na dentição decídua no Brasil. *Ciênc. saúde coletiva.* 2006;11(1):79–87.
9. Gerdin EW, Angbratt M, Aronsson K, Eriksson E, Johansson I. Dental caries and body mass index by socio-economic status in Swedish children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2008;36(5):459-65.

10. Gonçalves Jde A, Moreira EA, Rauen MS, Rossi A, Borgatto AF. Associations Between Caries Experience, Nutritional Status, Oral Hygiene, and Diet in a Multigenerational Cohort. *Pediatr Dent*. 2016;38(3):203-11.
11. Grigalauskiene R, Slabšinskiene E, Vasiliauskiene I. Biological approach of dental caries management. *Stomatologija*. 2015;17(4):107-12.
12. Güngör NK. Overweight and Obesity in Children and Adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2014;6(3):129-43.
13. Hilgers KK, Kinane DE, Scheetz JP. Association between childhood obesity and smooth surface caries in posterior teeth: a preliminary study. *Pediatr Dent*. 2006;28(1):23-8.
14. Kantovitz KR, Pascon FM, Rontani RM, Gavião MB. Obesity and dental caries--A systematic review. *Oral Health Prev Dent*. 2006;4(2):137-44.
15. Kumar S, Kroon J, Lalloo R, Kulkarni S, Johnson NW. Relationship between body mass index and dental caries in children, and the influence of socio-economic status. *Int Dent J*. 2017;67(2):91-97.
16. Meisel JD, Sarmiento OL, Olaya C, Lemoine PD, Valdivia JA, Zarama R. Towards a novel model for studying the nutritional stage dynamics of the Colombian population by age and socioeconomic status. *PLoS One*. 2018 Feb 8;13(2):e0191929.
17. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 2004;114(2 Suppl 4th Report):555-76.
18. Ogden CL, Carroll MD, Fryar CD, Flegal KM. Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2011-2014. *NCHS Data Brief*. 2015;(219):1-8.
19. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43:38.
20. Paisi M, Kay E, Kaimi I, Witton R, Nelder R, Christophi C, Lapthorne D. Obesity and dental caries in young children in Plymouth, United Kingdom: a spatial analysis. *Community Dent Health*. 2018;35(1):58-64.
21. Patnaik L, Pattanaik S, Sahu T, Rao EV. Overweight and obesity among adolescents – A comparative study between government and private schools. *Indian Pediatr*. 2015;52(9):779-81.
22. Peng SM, Wong HM, King NM, McGrath C. Association between dental caries and adiposity status (general, central, and peripheral adiposity) in 12-year-old children. *Caries Res*. 2014;48(1):32-8.

23. Peres MA, Peres KG, de Barros AJ, Victora CG. The relation between family socioeconomic trajectories from childhood to adolescence and dental caries and associated oral behaviours. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61(2):141-5.
24. Shamah-Levy T, Cuevas-Nasu L, Rivera-Dommarco J, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. 2016. Cuernavaca, México. Retrieved from http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf
25. Strauss RS. Childhood obesity and self-esteem. *Pediatrics*. 2000;105(1):e15.
26. Tang RS, Huang MC, Huang ST. Relationship between dental caries status and anemia in children with severe early childhood caries. *Kaohsiung J Med Sci*. 2013;29(6):330-6.
27. Werner SL, Phillips C, Koroluk LD. Association between childhood obesity and dental caries. *Pediatr Dent*. 2012;34(1):23-7.
28. Willerhausen B, Blettner M, Kasaj A, Hohenfellner K. Association between body mass index and dental health in 1,290 children of elementary schools in a German city. *Clin Oral Investig*. 2007;11(3):195-200.
29. Willershausen B, Haas G, Krummenauer F, Hohenfellner K. Relationship between high weight and caries frequency in German elementary school children. *Eur J Med Res*. 2004;9(8):400-4.
30. World Health Organization. Oral Health Surveys. Basic Methods. 5th edition. Geneva, Switzerland. World Health Organization. 2013. Retrieved from: http://www.who.int/oral_health/publications/9789241548649/en/

RESULTADOS ADICIONALES

Este trabajo no arrojó resultados adicionales. Debido a que los objetivos planteados fueron cumplidos durante el desarrollo de la investigación, los resultados obtenidos se documentaron en los productos que derivaron de este estudio.

DISCUSIÓN GENERAL

El aumento de la obesidad a nivel mundial, puede deberse a la globalización, que ha generado un aumento en la proporción del consumo de alimentos altamente procesados, y a que se utilicen ingredientes ultraprocesados, los cuales pierden gran parte sus propiedades y proporcionan elevados niveles de harinas, grasas y azúcares invisibles a la población.

Estudios previos reportan la tendencia que existe en el mundo sobre el aumento de la obesidad (4). En México los resultados de la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad se reportan en la ENSANUT 2012, la cual fue del 34.4%, mientras que en la ENSANUT 2016 esta prevalencia fue de 33.2% (49,79). Este trabajo reportó una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad del 39.5% en la población de estudio. Los reportes de la ENSANUT menciona que los intervalos de confianza del 2016 son muy amplios, por lo cual no concluyen que la diferencia porcentual entre los resultados de ambos años sea una disminución real en la prevalencia del sobrepeso y obesidad. Los resultados de este reporte evidencia un mayor porcentaje que la ENSANUT esto puede deberse al tamaño de la población y que la prevalencia de ambos padecimientos sigue en aumento, revelando la realidad en los escolares mexicanos.

Se ha reportado que el Síndrome Metabólico se ha convertido en un problema en la población pediátrica, donde los estilos de vida, aspectos socioeconómicos y ambientales tienen incidencia directa sobre la obesidad y por ende con el aumento de la prevalencia (80). Estudios ha reportado un rango que va del 27-50% de prevalencia de Síndrome Metabólico en diversas poblaciones (81,82). En México es poco el conocimiento sobre la prevalencia de este síndrome, sin embargo existen reportes previos donde mencionan una prevalencia del 44.3%, datos mayores a los reportados en este trabajo (34.9%).

Aunque la muestra es menor en el presente estudio, la presencia del Síndrome Metabólico es alta. La obesidad infantil en conjunto con las características genéticas, étnicas y etapas de desarrollo del individuo, llevan a predisponer el desarrollo de algunos parámetros de Síndrome Metabólico, como las bajas concentraciones de HDLc, parámetro que el 100% de la población de estudio presentó, en contraste con el 27.1% reportado en otra población de escolares mexicanos (46).

Los hábitos saludables inician en etapas tempranas de la vida y las estrategias para su adopción en los estilos de vida en México no han tenido el impacto deseado en los escolares. Este trabajo reporta una experiencia de caries en la población del 5.1, lo que indica una alta presencia de la enfermedad; al mismo tiempo se reporta que la prevalencia de placa dentobacteriana fue del 26.6%, considerándose moderada.

Estos resultados, en conjunto con la prevalencia de obesidad y de Síndrome Metabólico indican la necesidad de considerar las características, estilos de vida y genética de las poblaciones a fin de tener un impacto mayor en la prevalencia de las diversas enfermedades, puesto que los programas para la prevención de estos padecimientos existen y quizás por el tipo de abordaje y enfoque, no se está disminuyendo ni erradicando la enfermedad, por el contrario, prevalecen y aumentan a pesar de los esfuerzos realizados por los promotores de salud.

CONCLUSIONES GENERALES

La prevalencia de enfermedades bucales en la población de estudio se mantiene acorde con el parámetro nacional. Sin embargo, la presencia de placa dentobacteriana, que es uno de sus factores etiológicos se halló en niveles moderados, lo que limita en algún grado su severidad.

La obesidad infantil en los escolares mexicanos es alta y en conjunto con la predisposición genética de la población a presentar niveles bajos de HDLc, favorecen el desarrollo del Síndrome Metabólico a edades tempranas de la vida. Esta combinación llevaría a desarrollar enfermedades crónico degenerativas desde edades tempranas.

El presente trabajo puede considerarse un estudio piloto, que guíe la exploración de las concentraciones salivales de diversas proteínas y su relación con otro tipo de padecimientos sistémicos, a fin de validar a la saliva como un medio de diagnóstico y explotar sus ventajas sobre otros fluidos corporales.

Este estudio se delimitó a una muestra de escolares con buenas condiciones de higiene bucal, lo que no es una realidad de la población mexicana. Por lo cual, se debe replicar el presente trabajo, mejorando su metodología y en individuos con diversas condiciones estomatológicas; a fin de validar si las características locales de la cavidad bucal tiene algún efecto sobre las concentraciones salivales de los biomarcadores que en ella se expresan.

También se debe continuar con la caracterización del proteoma saliva, si las concentraciones tienen algún grado de correlación con la expresión sérica de los mismos biomarcadores, a fin de establecer y validar su utilidad como un medio de diagnóstico.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

1. Gröschl M, Rauh M, Wagner R, Neuhuber W, Metzler M, Tamgüney G, et al. Identification of leptin in human saliva. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001;86(11):5234–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11701683>
2. Weiss R, Bremer AA, Lustig RH. What is metabolic syndrome, and why are children getting it? *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1281(The Year in Diabetes and Obesity):123–40.
3. Theodore Kelesidis, Iosif Kelesidis, Sharon Chou CSM. Review Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging. *Ann Intern Med*. 2010;152(2):93–101.
4. Ueda H, Yagi T, Amitani H, Asakawa A, Ikeda S, Miyawaki S, et al. The roles of salivary secretion, brain-gut peptides, and oral hygiene in obesity. *Obes Res Clin Pract* [Internet]. 2013;7(5):e321–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.orcp.2013.05.001>
5. Hernández Guitián J, Guitián H. Papel de la leptina en la fisiología y fisiopatología oral Leptin's role in oral physiology and physiopathology. *Invest Clin Investig Clínica Invest Clin* [Internet]. 2015;56(564):421–31. Available from: <http://www.scielo.org.ve/pdf/ic/v56n4/art09.pdf>
6. Magarinos MP, Sanchez-Margalet V, Kotler M, Calvo JC, Varone CL. Leptin Promotes Cell Proliferation and Survival of Trophoblastic Cells. *Biol Reprod* [Internet]. 2007;76(2):203–10. Available from: <http://www.biolreprod.org/cgi/doi/10.1095/biolreprod.106.051391>
7. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol*. 2000;62:413–37.
8. Denver RJ, Bonett RM, Boorse GC. Evolution of leptin structure and function. *Neuroendocrinology*. 2011;94(1):21–38.
9. Martín-González J, Sánchez-Jiménez F, Pérez-Pérez A, Carmona-Fernández A, Sánchez-Margalet V, Segura-Egea JJ. Leptin expression in healthy and inflamed human dental pulp. *Int Endod J*. 2013;46(5):442–8.
10. Aydin S, Halifeoglu İ, Ozercan İH, Erman F, Kilic N, Aydin S, et al. A comparison of leptin and ghrelin levels in plasma and saliva of young healthy subjects. *Peptides* [Internet]. 2005;26(4):647–52. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978104005078>
11. Bohlender J, Rauh M, Zenk J, Gröschl M. Differential distribution and expression of leptin and the functional leptin receptor in major salivary glands of humans. *J Endocrinol* [Internet]. 2003;178(2):217–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12904169>
12. Hussain SR, Naqvi H, Gupta S, Mahdi AA, Kumari P, Waseem M, et al. A study on oncogenic role of leptin and leptin receptor in oral squamous cell. *Tumor Biol* [Internet]. 2015;36(8):6515–23. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13277-015-3342-1>
13. Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, Myers DE, Hodge JM, Malakellis M, et al. Leptin inhibits osteoclast generation. *J bone Miner Res*. 2002;17(2):200–9.

14. Gröschl M, Rauh M, Dörr HG, Blum WF, Rascher W, Dötsch J. Salivary leptin levels during the menstrual cycle and their relation to progesterone. *Fertil Steril*. 2002;77(6):1306–7.
15. Randeve HS, Karteris E, Lewandowski KC, Sailesh S, O’Hare P, Hillhouse EW. Circadian rhythmicity of salivary leptin in healthy subjects. *Mol Genet Metab*. 2003;78(3):229–35.
16. Nakamura Y, Sanematsu K, Ohta R, Shirosaki S, Koyano K, Nonaka K, et al. Diurnal Variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. *Diabetes*. 2008;57:2661–5.
17. Thanakun S, Watanabe H, Thaweboon S, Izumi Y. An effective technique for the processing of saliva for the analysis of leptin and adiponectin. *Peptides* [Internet]. 2013;47:60–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2013.06.010>
18. Wasilewska A, Rybi-Szuminska A, Zoch-Zwierz W. Serum RANKL, osteoprotegerin (OPG), and RANKL/OPG ratio in nephrotic children. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(10):2067–75.
19. Lu H-K, Chen Y-L, Chang H-C, Li C-L, Kuo MY-P. Identification of the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* [Internet]. 2006;41(4):354–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16827732>
20. Nagy V, Penninger JM. The RANKL-RANK Story. *Gerontology*. 2015;61(6):534–42.
21. Belibasakis GN, Rechenberg DK, Zehnder M. The receptor activator of NF-κB ligand-osteoprotegerin system in pulpal and periapical disease. *Int Endod J*. 2013;46(2):99–111.
22. Wada Y, Mizuno M, Tamura M. Enamel matrix derivative neutralized the effect of lipopolysaccharide on osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression of osteoblasts. *Arch Oral Biol*. 2009;54(4):306–12.
23. Fukushima H, Kajiya H, Takada K, Okamoto F, Okabe K. Expression and role of RANKL in periodontal ligament cells during physiological root-resorption in human deciduous teeth. *Eur J Oral Sci* [Internet]. 2003;111(4):346–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12887401>
24. Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R, Hormdee D, Lu H, Kunze M, et al. Roles of receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL) and osteoprotegerin in periodontal health and disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 2007;43:65–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17214836>
25. Bostanci N, İlgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, et al. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2007;34(5):370–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-051X.2007.01061.x>
26. Belibasakis GN, Meier A, Guggenheim B, Bostanci N. The RANKL-OPG system is differentially regulated by supragingival and subgingival biofilm supernatants. *Cytokine* [Internet]. 2011;55(1):98–103. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21474331>

27. Liu D, Yao S, Pan F, Wise GE. Chronology and regulation of gene expression of RANKL in the rat dental follicle. *Eur J Oral Sci*. 2005;113(5):404–9.
28. Sakellari D, Menti S, Konstantinidis A. Free soluble receptor activator of nuclear factor- κ b ligand in gingival crevicular fluid correlates with distinct pathogens in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2008;35(11):938–43. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-051X.2008.01314.x>
29. Munoz-Calvo MT, Barrios V, Garcia de Alvaro MT, Lefort M, Mendez-Davila C, Argente J, et al. Maintained malnutrition produces a progressive decrease in (OPG)/RANKL ratio and leptin levels in patients with anorexia nervosa. *Scand J Clin Lab Invest* [Internet]. 2007;67(4):387–93. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=17558893>
30. Belibasakis GN, Bostanci N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. *J Clin Periodontol*. 2012;39(3):239–48.
31. Monov G, Strbac GD, Baron M, Kandler B, Watzek G, Gruber R. Soluble RANKL in Crevicular Fluid of Dental Implants: A Pilot Study. *Clin Implant Dent Relat Res* [Internet]. 2006;8(3):135–41. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1708-8208.2006.00012.x>
32. Belibasakis GN, Meier A, Guggenheim B, Bostanci N. Oral biofilm challenge regulates the RANKL-OPG system in periodontal ligament and dental pulp cells. *Microb Pathog* [Internet]. 2011;50(1):6–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21075196>
33. Belibasakis GN, Reddi D, Bostanci N. *Porphyromonas gingivalis* induces RANKL in T-cells. *Inflammation*. 2011;34(2):133–8.
34. Han X, Lin X, Seliger a R, Eastcott J, Kawai T, Taubman M a. Expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand by B cells in response to oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 2009;24(3):190–6.
35. Chuang F-H, Hsue S-S, Wu C-W, Chen Y-K. Immunohistochemical expression of RANKL, RANK, and OPG in human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2009;38(10):753–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.2009.00793.x>
36. Lin H, Maeda K, Fukuhara A, Shimomura I, Ito T. Molecular expression of adiponectin in human saliva. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2014;445(2):294–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X14001983>
37. Oh JH, Lee JY, Joung SH, Oh YT, Kim HS, Lee NK. Insulin enhances RANKL-induced osteoclastogenesis via ERK1/2 activation and induction of NFATc1 and Atp6v0d2. *Cell Signal* [Internet]. 2015;27(12):2325–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2015.09.002>
38. Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlicki J, Chao M, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal

- kinase in T cells. *J Biol Chem*. 1997;272(40):25190–4.
39. Gurav AN. The association of periodontitis and metabolic syndrome. *Dent Res J (Isfahan)* [Internet]. 2014;11(1):1–10. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3955301&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 40. Barrio R, López-Capapé M, Colino E, Mustieles C, Alonso M. Obesidad y síndrome metabólico en la infancia. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2005 Feb [cited 2015 Sep 28];52(2):65–74. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1575092205709906>
 41. Guijarro de Armas MG, Monereo Megías S, Merino Viveros M, Iglesias Bolaños P, Vega Piñero B. Prevalencia de síndrome metabólico en una población de niños y adolescentes con obesidad. *Endocrinol y Nutr*. 2012;59(3):155–9.
 42. Lee K-S, Lee SG, Kim E-K, Jin H-J, Im S-U, Lee H-K, et al. Metabolic syndrome parameters in adolescents may be determinants for the future periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2015;42(2):105–12.
 43. Villa JKD, e Silva AR, Santos TSS, Ribeiro AQ, Sant'Ana LFDR. Metabolic syndrome risk assessment in children: use of a single score. *Rev Paul Pediatr (English Ed)* [Internet]. 2015;33(2):187–93. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2359348215300506>
 44. Kâ K, Rousseau M-C, Lambert M, Tremblay A, Tran SD, Henderson M, et al. Metabolic syndrome and gingival inflammation in Caucasian children with a family history of obesity. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2013;40(11):986–93. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jcpe.12146>
 45. Pacifico L, Anania C, Martino F, Poggiogalle E, Chiarelli F, Arca M, et al. Management of metabolic syndrome in children and adolescents. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2011;21(6):455–66. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939475311000391>
 46. Guzmán-Guzmán IP, Salgado-Bernabé AB, Muñoz Valle JF, Vences-Velázquez A, Parra-Rojas I. Prevalence of metabolic syndrome in children with and without obesity. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2014;144(5):198–203. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775314001614>
 47. Fadel HT, Pliaki A, Gronowitz E, Mårild S, Ramberg P, Dahlén G, et al. Clinical and biological indicators of dental caries and periodontal disease in adolescents with or without obesity. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2014;18(2):359–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23515945>
 48. Elizondo-Montemayor L, Ugalde-Casas P a, Lam-Franco L, Bustamante-Careaga H, Serrano-González M, Gutiérrez NG, et al. Association of ALT and the metabolic syndrome among Mexican children. *Obes Res Clin Pract* [Internet]. 2014;8(1):e79-87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24548580>
 49. Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. [Internet]. 1a ed. Reveles F, editor. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2013. Available from:

- <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales2Ed.pdf>
50. Federation ID. New consensus definition of the metabolic syndrome. *Br J Cardiol*. 2005;12(3):180.
 51. Federation ID. Criteria of metabolic syndrome in children and adolescents. [Internet]. 2014. p. 2–3. Available from: <https://www.idf.org/metabolic-syndrome/children/criteria>
 52. Oquendo-de la Cruz Y, Piñeiro-Lamas R, Caridad-Duarte M, Guillen-Dosal M. Síndrome metabólico en niños y adolescentes hipertensos obesos. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. 2010;82(4):31–40. Available from: http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312010000400004&lng=es.
 53. Zhang A, Sun H, Wang P, Wang X. Salivary proteomics in biomedical research. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2013;415:261–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.11.001>
 54. Mikkonen JJW, Singh SP, Herrala M, Lappalainen R, Myllymaa S, Kullaa AM. Salivary metabolomics in the diagnosis of oral cancer and periodontal diseases. *J Periodontol Res*. 2015;
 55. Lamy E, Mau M. Saliva proteomics as an emerging, non-invasive tool to study livestock physiology, nutrition and diseases. *J Proteomics* [Internet]. 2012;75(14):4251–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.05.007>
 56. Fonteles CSR, dos Santos CF, da Silva Alves KS, de Miranda Mota AC, Damasceno JX, Fonteles MC. Comparative proteomic analysis of human whole saliva of children with protein–energy undernutrition. *Nutrition* [Internet]. 2012;28(7–8):744–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0899900711003686>
 57. Yetkin Ay Z, Kırzioğlu FY, Öztürk Tonguç M, Sütçü R, Kapucuoğlu N. The gingiva contains leptin and leptin receptor in health and disease. *Odontology* [Internet]. 2012;100(2):222–31. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10266-011-0043-0>
 58. Mamali I, Roupas ND, Armeni AK, Theodoropoulou A, Markou KB, Georgopoulos N a. Measurement of salivary resistin, visfatin and adiponectin levels. *Peptides* [Internet]. 2012;33(1):120–4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978111004785>
 59. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofacial Res* [Internet]. 2015;1–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212426815000895>
 60. Modéer T, Blomberg CC, Wondimu B, Julihn A, Marcus C. Association Between Obesity, Flow Rate of Whole Saliva, and Dental Caries in Adolescents. *Obesity* [Internet]. 2010;18(12):2367–73. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2010.63>
 61. Khan A. Detection and quantitation of forty eight cytokines, chemokines, growth factors and nine acute phase proteins in healthy human plasma, saliva and urine. *J Proteomics* [Internet]. 2012;75(15):4802–19. Available from:

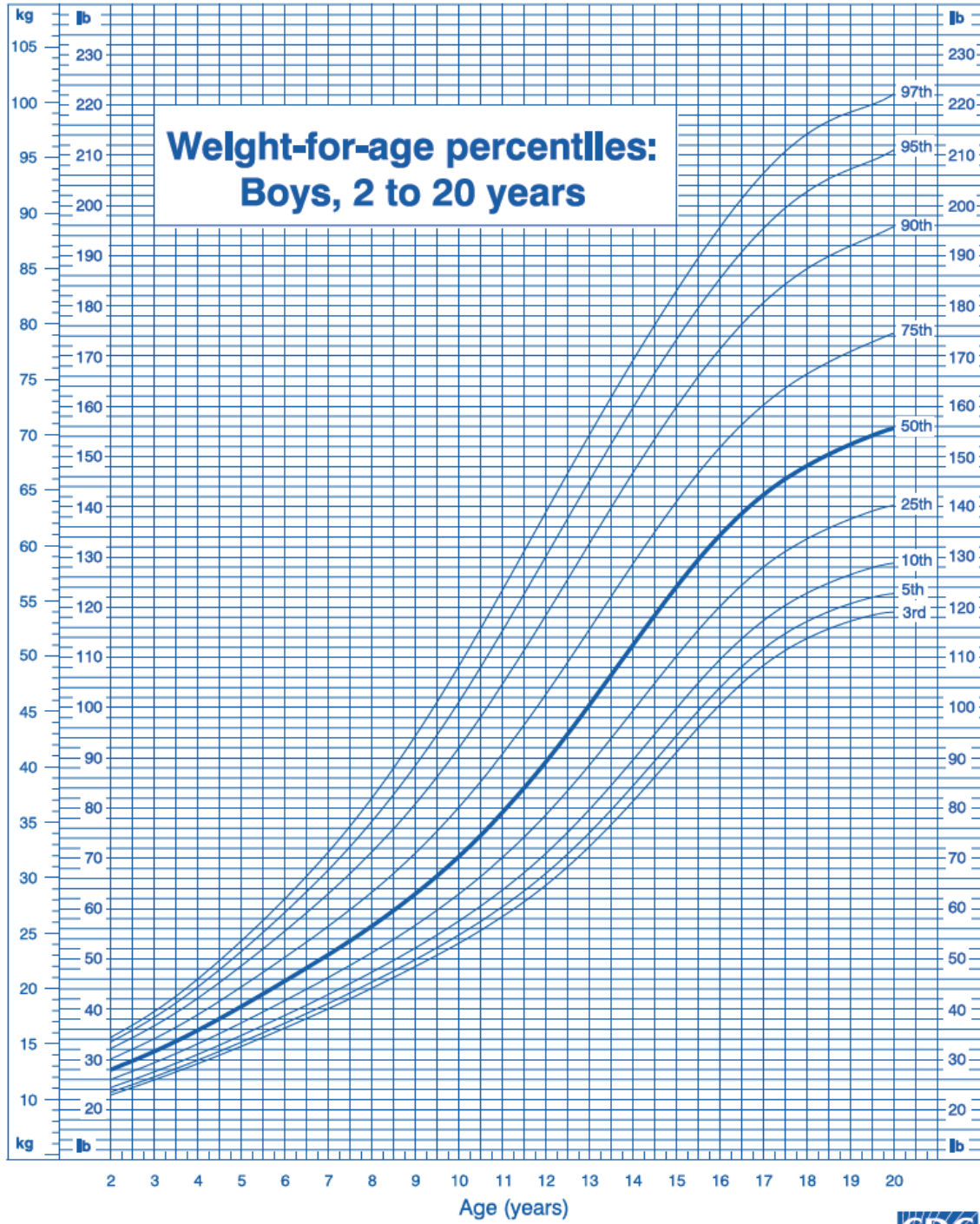
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.05.018>

62. Nigro E, Piombino P, Scudiero O, Monaco ML, Schettino P, Chambery A, et al. Evaluation of salivary adiponectin profile in obese patients. *Peptides* [Internet]. 2015;63:150–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0196978114003428>
63. Thanakun S, Watanabe H, Thaweboon S, Izumi Y. Comparison of salivary and plasma adiponectin and leptin in patients with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. 2014;6(1):19. Available from: <http://www.dmsjournal.com/content/6/1/19>
64. Shimada Y, Tabeta K, Sugita N, Yoshie H. Profiling biomarkers in gingival crevicular fluid using multiplex bead immunoassay. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2013;58(6):724–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.11.012>
65. Wassall RR, Preshaw PM. Clinical and technical considerations in the analysis of gingival crevicular fluid. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):65–79.
66. Sanchez-Perez L, Irigoyen-Camacho E, Saenz-Martinez L, Zepeda Zepeda M, Acosta-Gio E, Mendez-Ramirez I. Stability of unstimulated and stimulated whole saliva flow rates in children. *Int J Paediatr Dent*. 2015;1–5.
67. Idris A, Khamis AG, Ghazali NB, Steele M, Koh D, Tuah NA. Salivary leptin concentrations in Bruneian secondary school children. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2016;6(4):335–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2221169115309060>
68. Lamster I, Oshrain R, Gordon J. Enzyme activity in human gingival crevicular fluid: considerations in data reporting based on analysis of individual crevicular sites. *J Clin Periodontol*. 1986;13:799–804.
69. O’Leary J, Drake B, Naylor JE. The Plaque Control Record. *J Periodontol* [Internet]. 1972;43(1):38. Available from: <http://www.joponline.org/doi/pdf/10.1902/jop.1972.43.1.38>
70. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation and T of HBP in C and A. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 2004;114:555–76.
71. Salud S de. *Ley General de Salud*. Mexico; 2015 p. 1–257.
72. Al Agili DE. A systematic review of population-based dental caries studies among children in Saudi Arabia. *Saudi Dent J*. 2013 Jan;25(1):3–11.
73. Alayyan W, Halabi MA, Hussein I, Khamis A, Kowash M. A systematic review and meta-Analysis of school children’s caries studies in gulf cooperation council states. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2017 Oct;7(5):234–41.
74. Antunes. JLF, Peres. MA, Mello TR de C. Determinantes individuais e contextuais da necessidade de tratamento odontológico na dentição decídua no Brasil Individual and contextual determinants of dental treatment needs of children with primary dentition in Brazil. *Cien Saude Colet*. 2006;11(1):79–87.
75. Peres MA, Peres KG, de Barros AJD, Victora CG. The relation between family socioeconomic trajectories from childhood to adolescence and dental caries and associated oral behaviours. *J Epidemiol Community Health*. 2007 Feb;61(2):141–5.

76. Peng SM, Wong HM, King NM, McGrath C. Association between dental caries and adiposity status (general, central, and peripheral adiposity) in 12-year-old children. *Caries Res.* 2014;48(1):32–8.
77. Bennett S, Woods T, Liyanage WM, Smith DL. A simplified general method for cluster-sample surveys of health in developing countries. *World Health Stat Q.* 1991;44(3):98–106.
78. Kantovitz KR, Pascon FM, Rontani RMP, Gavião MBD. Obesity and dental caries--A systematic review. *Oral Health Prev Dent.* 2006;4(2):137–44.
79. Hernández-Avila M, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Cuevas- Nasu L, Gómez-Acosta LM, Gaona-Pineda EE, et al. ENSANUT MC 2016 Informe final de resultados. *Inst Nac Salud Publica.* 2016;2016(Ensanut):149.
80. Eckert RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* [Internet]. 2005;305:1415–28. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66378-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66378-7)
81. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescent. *N Engl J Med* [Internet]. 2004;351(11):1147–8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=psyc4&NEWS=N&AN=2004-18290-006>
82. Cook S. The metabolic syndrome: Antecedent of adult cardiovascular disease in pediatrics. *J Pediatr.* 2004;145(4):427–30.

ANEXOS

Anexo 1. Gráfico De crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Peso De Los Niños Por Edad



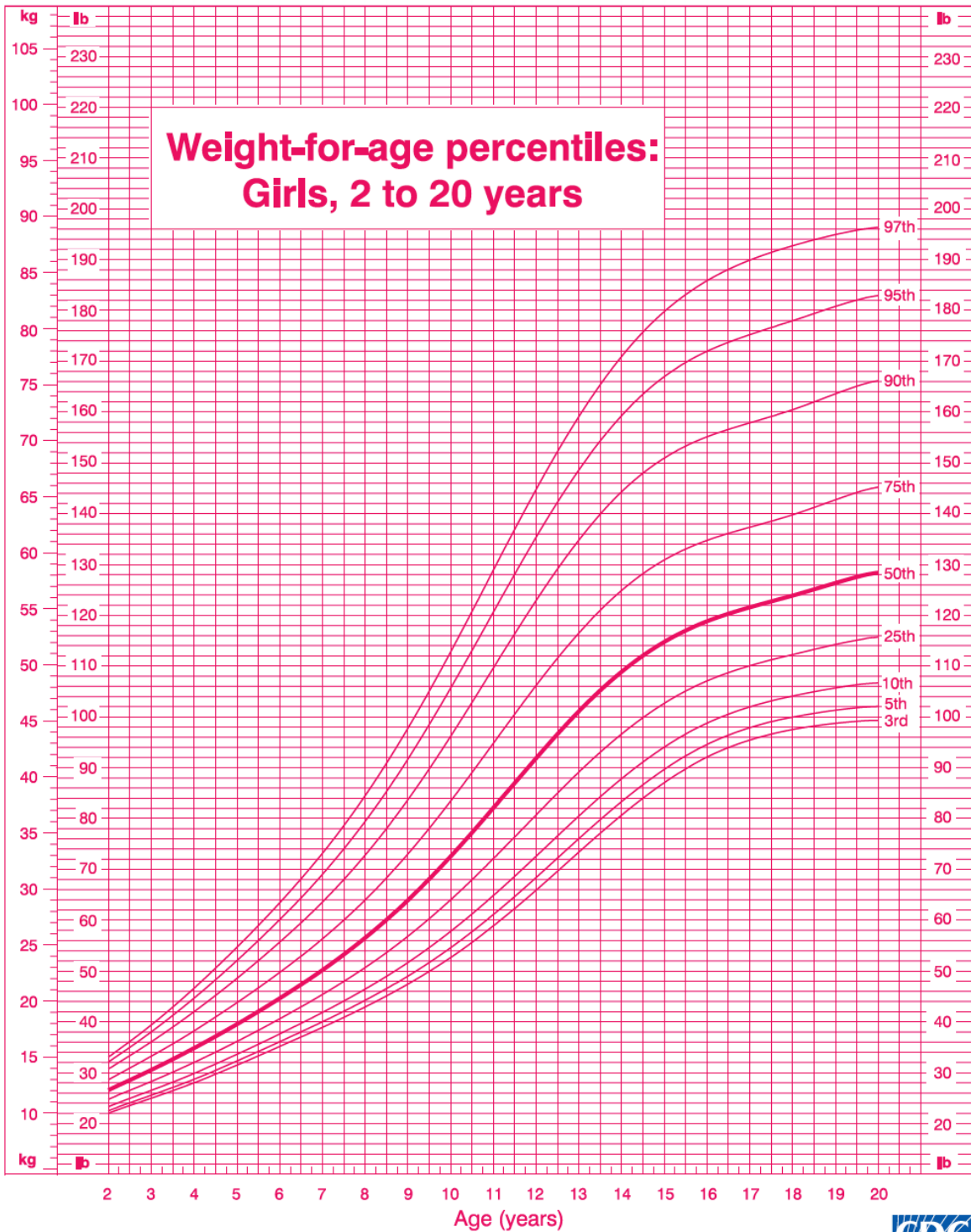
Published May 30, 2000.

SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

Anexo 2. Gráfico De crecimiento Individual. Percentiles 3, 5,10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Peso De Las Niñas Por Edad

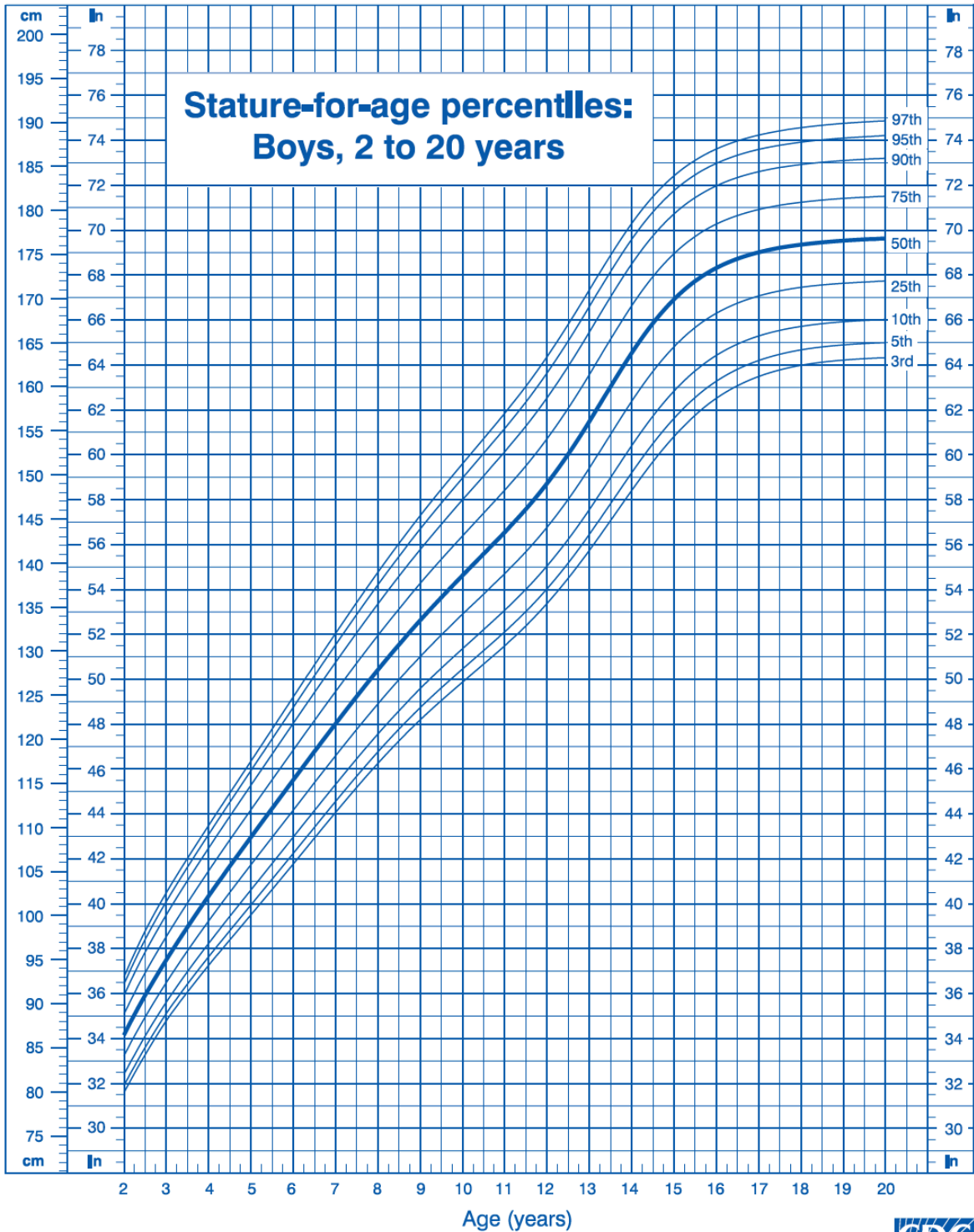


Published May 30, 2000.

SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).



Anexo 3. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Estatura De Los Niños Por Edad



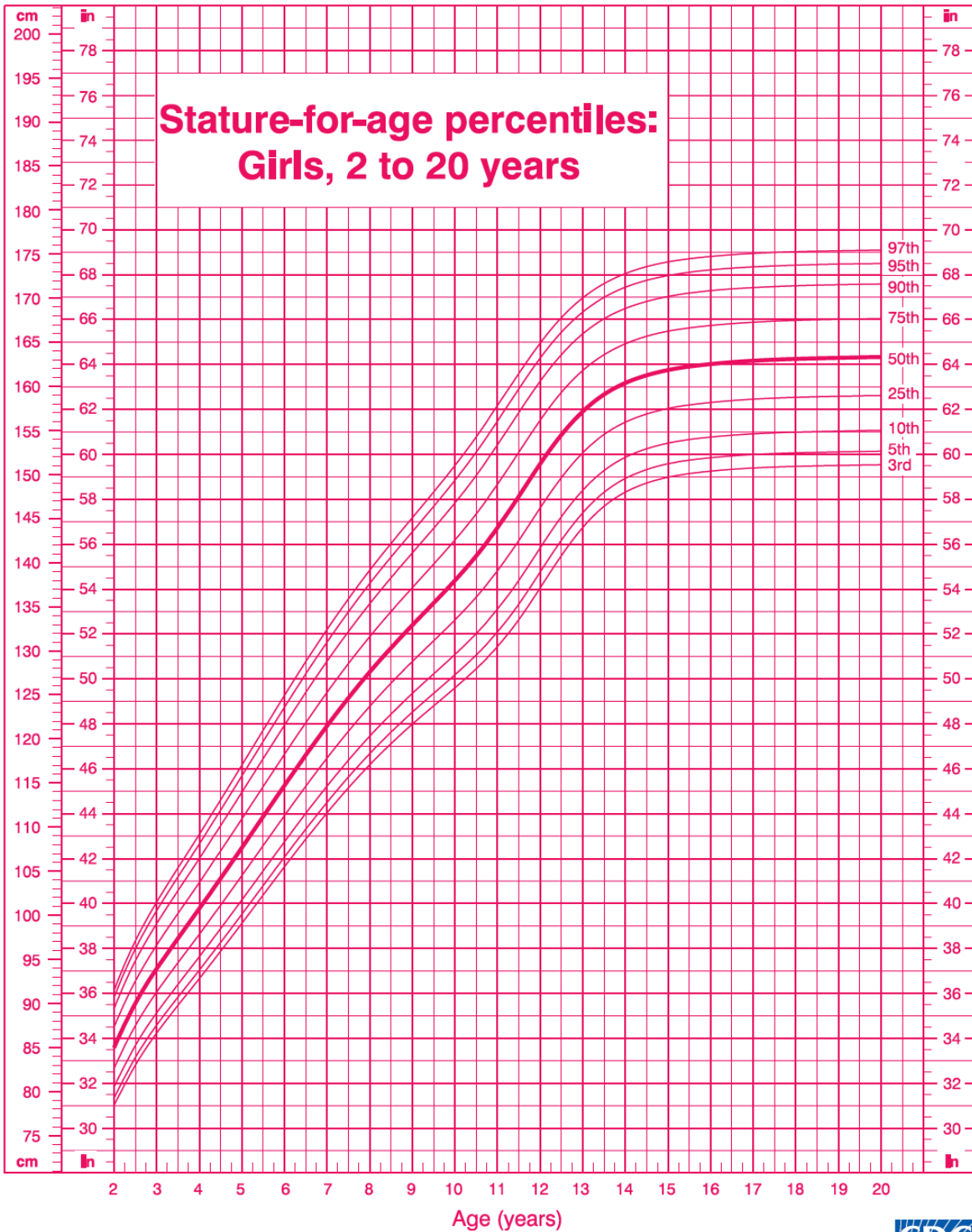
Published May 30, 2000.

SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

Anexo 4. Gráfico De Crecimiento Individual. Percentiles 3, 5, 10, 25, 50, 75, 90, 95, 97, De 2 A 20 Años: Estatura De Las Niñas Por Edad



Published May 30, 2000.

SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

Anexo 5. Dictamen Comité de Investigación



"2016. Año del Centenario de la instalación del Congreso Constituyente.

No. Registro Cofepris: 13 CI 15 106 068

MINUTA DE SESIÓN ORDINARIA DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Siendo las 14:00 horas del día 08 de septiembre del 2016, reunidos en las aulas del Hospital, se convoca de manera ordinaria al Comité de Investigación del Hospital Materno Perinatal "Mónica Pretelini Sáenz", para evaluar Proyecto De investigación, titulado:

"EXPRESIÓN DE LEPTINA Y sRANKL SALIVAL Y SU CORRELACIÓN CON PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO EN JÓVENES."

Nombre del solicitante: **M.C.E.P. RODRIGO SERRANO PINA** Tutor. Ph. D. **HUGO MENDIETA ZERÓN**

No. De registro de la investigación **2016-09-478**

NIVEL DE RIESGO:	<input type="checkbox"/> SIN RIESGO	<input type="checkbox"/> RIESGO MÍNIMO	<input checked="" type="checkbox"/> RIESGO MAYOR AL MÍNIMO
AVANCES:	<input checked="" type="checkbox"/> NO APLICA	<input type="checkbox"/> % PRESENTADO	<input type="checkbox"/> % PROGRAMADO
DICTAMEN:	<input checked="" type="checkbox"/> APROBADO	<input type="checkbox"/> PENDIENTE DE APROBACIÓN	<input type="checkbox"/> NO APROBADO

Habiéndose leído el contenido de este instrumento, se da por terminada la sesión siendo las 14:30 horas del día 08 de septiembre del 2016, el C. Miguel Ángel López Esquivel Presidente del Comité de Investigación y vocales del mismo firman la presente minuta.

PRESIDENTE

MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ ESQUIVEL
TELEMEDICINA

VOCAL

MARÍA ESTHER BLANCO AGUIRRE
INVESTIGACIÓN

VOCAL SECRETARIO

JAVIER EDMUNDO HERRERA VILLALOBOS
UNIDAD DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y CAPACITACIÓN

VOCAL

PAMELA MONTSERRAT NAVA DÍAZ
NUTRICIÓN

SECRETARÍA DE SALUD
COORDINACIÓN DE HOSPITALES DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL MATERNO PERINATAL "MONICA PRETELINI SAENZ"

Anexo 6. Dictamen Comité de Ética en Investigación



• "2016. Año del Centenario de la instalación del Congreso Constituyente.

DICTAMEN FAVORABLE: CONBIOETICA15CEI00120130322
No. Registro Cofepris: 13 CEI 15 106 073

MINUTA DE SESIÓN ORDINARIA DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Siendo las 14.00 horas del día 08 de septiembre del 2016, reunidos en las aulas del Hospital, se convoca de manera ordinaria al Comité de Ética en Investigación del Hospital Materno Perinatal "Mónica Pretelini Sáenz", para evaluar Proyecto De investigación, titulado

"EXPRESIÓN DE LEPTINA Y sRANKL SALIVAL Y SU CORRELACIÓN
CON PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO EN JÓVENES."

Nombre del solicitante: **M.C.E.P. RODRIGO SERRANO PIÑA** Tutor: Ph. D. HUGO MENDIETA ZERÓN

No. De registro de la investigación: **2016-09-478**

NIVEL DE RIESGO:	<input type="checkbox"/> SIN RIESGO	<input type="checkbox"/> RIESGO MINIMO	<input checked="" type="checkbox"/> RIESGO MAYOR AL MINIMO
AVANCES:	<input checked="" type="checkbox"/> NO APLICA	<input type="checkbox"/> % PRESENTADO	<input type="checkbox"/> % PROGRAMADO
DICTAMEN:	<input checked="" type="checkbox"/> APROBADO	<input type="checkbox"/> PENDIENTE DE APROBACIÓN	<input type="checkbox"/> NO APROBADO

Habiéndose leído el contenido de éste instrumento, se da por terminada la sesión siendo las 14:30 horas del día 08 de septiembre de 2016; El C. Jorge Antonio Gutiérrez Ramírez Vocal Secretario del Comité de Ética en Investigación y vocales del mismo firman la presente minuta

VOCAL SECRETARIO

JORGE ANTONIO GUTIERREZ RAMIREZ
MEDICO ADSCRITO

VOCAL

NANCY HITAYETZY SANTAMARIA BENHUMEA
ADMINISTRATIVO

VOCAL

VERÓNICA BEJARANO ORTHUELA
PSICOLOGA

VOCAL

EVERADO BARRA ESTRADA
ENSEÑANZA MEDICA

VOCAL

ACELA MARLEN SANTAMARIA BENHUMEA
INVESTIGADOR

SECRETARIA DE SALUD
COORDINACIÓN DE HOSPITALES DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL MATERNO PERINATAL "MÓNICA PRETELINI SAENZ"



CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL PROYECTO: “Expresión de leptina y sRANKL salival y su correlación con parámetros de síndrome metabólico.”

Fecha: _____.

Nombre del estudiante: _____.

Nombre del padre o tutor: _____.

Estimados padre (tutor) y estudiante:

Investigadores del Doctorado en Ciencias de la Salud de la Facultad de Enfermería y Obstetricia, Universidad Autónoma del Estado de México, estamos realizando un estudio sobre **“EXPRESIÓN DE LEPTINA Y sRANKL SALIVAL Y SU CORRELACIÓN CON PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO.”** Su aporte sería de gran ayuda para futuros pacientes, ya que con base en estos datos se pretende establecer los primeros registros de estas proteínas, las cuales son importantes para el metabolismo energético y óseo, en individuos entre 6 y 16 años.

Dicha participación consiste en:

1. El consentimiento para realizar al participante una historia clínica y un interrogatorio anónimo.
2. Su aprobación para la revisión bucal que permitirá tomar dos muestras salivales, una de saliva total (aproximadamente 5ml) y otra del líquido gingival crevicular, así como el registro del estado de salud bucal.
3. Su aprobación para medir y registrar la estatura, el peso, la presión arterial y el diámetro de la cintura en el participante.
4. Su aprobación para la toma de una muestra de sangre venosa (aproximadamente 8 ml), en instalaciones acondicionadas de la escuela.
5. Su consentimiento para que a dichas muestras de sangre y de saliva se realicen las determinaciones de leptina y sRANKL por medio de la técnica de ELISA en el laboratorio de biología molecular del Grupo Médico CIPRES.
6. En caso de que acepten, la información que proporcione se utilizará de forma confidencial y para propósitos exclusivos de la investigación científica. Bajo ninguna circunstancia podrá esta información ser objeto de transacciones comerciales o similares.
7. Por su seguridad, las muestras serán codificadas de tal forma que nadie podrá saber a quién le pertenecen, únicamente los investigadores tendrán acceso a dicha información
8. La participación del individuo es voluntaria y el tratamiento o atención que reciba en las instituciones participantes no se verá afectado si deciden no participar en este estudio.
9. Además, están en libertad de retirarse cuando: lo considere conveniente, si no está de acuerdo con el estudio o si tiene algún impedimento social, cultural o

religioso.

10. La investigación tendrá una duración total de un año y los procedimientos para obtener las mediciones y muestras tendrán un máximo de tres días.
11. Al decidir participar en esta investigación no se genera un beneficio económico.
12. A cada participante se le entregarán sus resultados en forma individual y secreta.
13. En caso de diagnosticar cualquier padecimiento bucal (caries, abscesos, inflamación de tejidos periodontales) se canalizará para su atención odontológica.
14. Pueden realizar las preguntas que consideren pertinentes en cualquier momento del estudio.
15. Este consentimiento informado ha pasado por revisión y aprobación del comité de Ética e Investigación del Hospital Materno Perinatal Mónica Pretelini Sáenz (ISEM).
16. El participar en este estudio no significa riesgo alguno, salvo la molestia del piquete para tomar la muestra de sangre.

Habiendo sido enterado(a) del contenido de la presente y resueltas todas mis inquietudes acerca de la investigación, yo _____
_____.

Acepto que mi hijo (tutorado) participe en este estudio.

Nombre del Padre o Tutor _____

Firma: _____

Testigo 1

Testigo 2

Nombre: _____.

Nombre: _____.

Firma: _____.

Firma: _____.



ASENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROYECTO: EXPRESIÓN DE LEPTINA Y sRANKL SALIVAL Y SU CORRELACIÓN CON PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO EN JÓVENES.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: MCEP. Rodrigo Serrano Piña.

GRUPOS DE INVESTIGACIÓN A CARGO: Investigación Clínica.

Este documento de asentimiento informado es para niños y jóvenes entre **seis (6)** y **dieciséis (16)** años de edad que asisten a la Escuela: Venustiano Carranza de la comunidad: San Mateo Atenco, en el Estado de México, a quienes se les invita a participar de la investigación:

“Expresión de leptina y sRANKL salival y su correlación con parámetros de síndrome metabólico en jóvenes.”

Estimado paciente:

La Facultad de Enfermería de la Universidad Autónoma del Estado de México, está realizando un trabajo que nos permitirá conocer las concentraciones de dos proteínas en tu organismo llamadas leptina y sRANKL, las cuales han sido identificadas en diferentes tejidos del cuerpo humano a través de exámenes en sangre y saliva. Simultáneamente, se quiere establecer tu peso, estatura, el diámetro de tu cintura, presión arterial y tu grado de higiene bucal .

Tu participación sería de gran ayuda para otros niños, ya que con base en los datos que se obtengan se podría saber tu estado de salud, como se encuentran tus dientes y la higiene de tu boca, si existe en tu persona algún signo que pueda ocasionar que desarrolles enfermedades crónico – degenerativas y si es necesario que requieras de cierto tratamiento médico y dental, etc. La importancia de hacer este estudio en este grupo de edad reside en que no se sabe hasta el hoy las concentraciones de estas dos proteínas, también se desconoce como el peso, la estatura, la presión arterial, el diámetro de tu cintura y la higiene de tu boca pudieran ejercer cierto grado de influencia para que las concentraciones de leptina y el sRANKL se presenten en tu saliva.

Te vamos a dar la información sobre el trabajo que estamos haciendo y te vamos a invitar a formar parte del estudio. Puedes elegir si participas o no. Ya hemos discutido esta investigación con tus padres/tutores y ellos saben que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación. Si vas a participar en la investigación tus padres o tutores también tienen que aceptarlo, pero si no deseas formar parte del estudio no tienes por qué hacerlo, aun cuando ellos hayan aceptado. Puedes discutir cualquier aspecto de este documento con tus padres, amigos o cualquier otra personas con la que te sientas cómodo y decidir participar o no, después de haberlo discutido. No tienes que decidirlo inmediatamente.

Es posible que haya algunas palabras que no entiendas o cosas que quieras que te las expliquen mejor porque estás preocupado por ellas. En tal caso puedes preguntarle a tu familiar, médico o a la persona del grupo de investigación que esté a cargo.

Si decides ingresar al estudio se seguirá el siguiente proceso:

1. Se realizará una revisión de todos tus dientes donde se colocará un pintura especial que nos mostrará como es tu higiene bucal y que órganos dentarios necesitan mayor higiene.
2. Se te pedirá que realices el cepillado dental y el enjuague de tu boca con agua purificada para eliminar todos los restos de pasta dental, comida y pintura que permanezcan en la boca.
3. Se te pedirá que vuelvas a enjuagar tu boca con agua fría la cual embucharas en un lapso de 30 segundos.
4. Se entregará una gasa estéril, la cual será colocada en tu boca durante un lapso de 2 minutos para obtener una muestra de tu saliva. Esta saliva será depositada en un tubo especial para su almacenamiento.
5. Se te pedirá que te recuestes en una silla para limpiar dos zonas específicas de tu boca. Esto se realizará con un cepillo para profilaxis dental y micromotor; en estas zonas se tomará otra muestra de tu saliva empleando una tira de papel absorbente.
6. Se va a registrar tu peso, tu estatura, tu presión arterial y el diámetro de tu cintura.
7. Se tomará una muestra de tu sangre con un aparato especial que se colocará en una vena de tu brazo.

En total participarás en el estudio por un máximo de tres días. No diremos a otras personas que estás en esta investigación y no compartiremos información sobre ti con nadie que no trabaje en el grupo de investigación. A cada participante se le entregarán sus resultados. Esta información no será compartida ni dada a nadie excepto a tu médico. Ni a ti ni a tus padres o tutores se les entregará dinero porque tú ingreses al estudio. No es obligatorio que participes y nadie se enfadará o molestará si decides decir que no. Eres libre de tomar la decisión. Puedes pensar en ello y responder más tarde si quieres. Puedes decir "SI" ahora y cambiar más tarde de opinión y también estará bien.

Puedes hacer preguntas ahora o más tarde. Existe un número y dirección donde puedes localizarnos. Puedes llamar al (045) 9999985123 y preguntar por Rodrigo Serrano Piña. Si quieres hablar con alguien más que conoces como tu profesor o médico o un familiar, puedes hacerlo también. Si elegiste ser parte de esta investigación, te entregaremos una copia de esta información para ti. Puedes pedir a tus padres o acudiente que lo examinen si quieres.

“Entiendo que la investigación consiste en

.....
.....

Sé que puedo retirarme cuando quiera. He leído esta información y la entiendo. Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde si las tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo.

“Acepto participar en esta investigación” _____ (coloca una cruz en la línea.)

“Yo no deseo participar en la investigación y no he firmado el asentimiento que sigue:
_____ (Coloca tus iniciales)

Si estás de acuerdo en participar, completa los siguientes datos:

Nombre _____

Firma _____

Fecha _____

Nombre del padre o tutor _____

Firma del padre o tutor _____

Testigo 1

Testigo 2

Nombre: _____ Nombre: _____

Firma

Firma

Anexo 9. Hoja para el registro de los Índices de O'Leary y ceod/CPOD

Nombre: _____, Edad: _____, Grado y grupo _____.

Caries.	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37
Índice de Placa	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Anexo 10. Hoja de Diagnostico Estomatológico Entregada a los padres/tutores

Diagnóstico Estomatológico. Responsable: MCEP. Rodrigo Serrano Piña. Cédula: 6042122. Celular: 9999985123

Nombre: _____, Edad: _____, Grado y grupo: _____.

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

Índice de Caries: _____, Índice de Higiene: _____