



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS

**LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS SON FACTORES DE RIESGO PARA LA
ESTOMATITIS AFTOSA RECURRENTE (AFTAS): REVISIÓN SISTEMÁTICA**

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la
Universidad de Talca como parte de los requisitos exigidos
para la obtención del título de Cirujano Dentista.

ESTUDIANTES: ANTONIETA MUÑOZ ESPINOZA
CAROLINA PUENTES TORRES
DOCENTE GUÍA: DR. CÉSAR RIVERA MARTÍNEZ
PROFESOR INFORMANTE: DR. BERNARDO VENEGAS ROJAS

TALCA - CHILE

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2020

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias, quienes estuvieron con nosotras en cada paso que dimos en este camino. Por el apoyo incondicional, el amor y el cariño que siempre nos brindaron. Sin ustedes no habríamos podido llegar donde estamos.

A nuestros amigos, quienes nos acompañaron en la felicidad y en la tristeza, que a través de una visita al box, nos alegraban un largo día. Estamos seguras de que seguirán acompañándonos y apoyándonos como el primer día.

A nuestros docentes y funcionarios, con los que pasábamos la mayor parte del día, que nos formaron y nos entregaron las herramientas necesarias para poder ser profesionales. En especial al Dr. César Rivera, por su incondicional voluntad de apoyarnos en este último proceso, sin duda estaremos eternamente agradecidas.

ÍNDICE

1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	5
3. MÉTODOS	7
3.1. Diseño general	7
3.2. Estrategia de búsqueda.....	7
3.3. Extracción de datos	7
3.4. Criterios de inclusión y exclusión.....	8
3.5. Artículos incluidos en la síntesis cualitativa	8
3.6. Evaluación de calidad	9
4. RESULTADOS.....	10
4.1. Artículos filtrados	10
4.2. La mayoría de los factores son polimorfismos genéticos en moléculas proinflamatorias	11
4.3. Los artículos elegidos son de buena calidad	15
5. DISCUSIÓN	16
6. REFERENCIAS.....	18

1. RESUMEN

Aún se desconoce la causa y cómo prevenir la estomatitis aftosa recurrente (más conocida como aftas). En esta revisión sistemática (registro PROSPERO #CRD42019122214) mostramos que la mayoría de los factores de riesgo para la enfermedad son polimorfismos genéticos de un solo nucleótido en genes relacionados con el funcionamiento del sistema inmune (TLR4, MMP9, E-selectin, IL-1 beta y TNF-alfa). Ello indica que, al menos en parte, la susceptibilidad para las aftas es hereditaria y que esos factores no pueden ser modificados.

Palabras clave: estomatitis aftosa, factores de riesgo, polimorfismo genético, análisis multivariante, revisión sistemática.

2. INTRODUCCIÓN

Hasta siete de cada 10 personas pueden llegar a presentar alguna vez en su vida estomatitis aftosa recurrente (en adelante, aftas). Las aftas son las lesiones ulcerosas más comunes de la mucosa oral (1). La etiología exacta de las aftas no está clara, pero se cree que hay posibles factores involucrados en su desarrollo. Estos incluyen factores locales, como el trauma en personas que son genéticamente susceptibles a aftas, disbiosis de la microbiota oral, deficiencias hematínicas (hierro, ácido fólico o vitamina B12), factores inmunológicos y estrés psicosocial (2). Además, una predisposición genética podría predisponer a la presencia de úlceras. Se pueden encontrar antecedentes familiares positivos en hasta el 40% de los pacientes (3). La probabilidad para las aftas es del 90% cuando ambos padres están afectados, pero solo del 20% cuando ninguno de los padres tiene aftas (4). El reconocimiento de ciertos patrones familiares de las aftas ha llevado al descubrimiento de factores genéticos que tienen un papel patogénico. Los factores genéticos, más específicamente, los polimorfismos genéticos relacionados con el funcionamiento del sistema inmune, se han estudiado recientemente para determinar su papel en el desarrollo de las úlceras orales (5).

Pese a la evidencia acumulada, las aftas no son prevenibles. Ello puede deberse en parte al desconocimiento de los factores de riesgo presentes en las personas susceptibles. Para predecir y explicar el riesgo de desarrollo de enfermedades debemos identificar quiénes están en riesgo y/o cuál sería una intervención efectiva (6). Los factores de riesgo son determinantes asociados con el mayor riesgo de una enfermedad. Existen 3 tipos: los factores de riesgo variables, causales y los marcadores fijos (no se pueden modificar) (7). Ellos pueden ser genéticos o un aspecto del comportamiento personal, estilo de vida o exposición ambiental (8). Los factores de riesgo juegan un papel central en la predicción y prevención (7). En su determinación pueden utilizarse flujos estadísticos evaluando diversas variables independientes para determinar su relevancia en la presencia o ausencia de una enfermedad (9).

Teniendo en cuenta que se ha informado una amplia variedad de factores de riesgo para la aparición de aftas en varios estudios a lo largo de los años, el objetivo de esta

revisión sistemática fue agrupar los datos disponibles y resumir los factores de riesgo asociados al desarrollo de úlceras.

3. MÉTODOS

3.1. Diseño general

En esta investigación realizamos una revisión sistemática de la literatura (registro PROSPERO #CRD42019122214). Las variables independientes fueron los factores de riesgo informados por las investigaciones seleccionadas y la variable dependiente fue el desarrollo de aftas. Establecimos que un factor de riesgo es una característica clínica o una molécula obtenida a partir de un artículo que realizó un análisis de regresión logística binaria o un modelo de riesgos proporcionales de Cox. La potencia de un factor de riesgo puede definirse como la máxima discrepancia que se puede lograr utilizando el factor para dividir a la población en grupos de alto y bajo riesgo (7). En cada artículo seleccionado existió una asociación estadísticamente significativa entre el factor y el desencadenamiento de úlceras. El valor de riesgo debió ser reportado como una comparación entre un grupo de referencia (sujetos sin el factor) y el grupo con el factor de riesgo (casos). Un número mayor a 1 indicó un riesgo elevado y un número menor a 1 indicó un bajo riesgo (factor protector).

3.2. Estrategia de búsqueda

Realizamos una búsqueda sistemática de toda la literatura en inglés en MEDLINE/PubMed hasta el 29 de enero de 2019. Nuestra estrategia de búsqueda fue el resultado de la combinación de los siguientes grupos de palabras clave: 1) stomatitis aphthous OR Sutton disease y 2) risk factor OR epidemiologic studies OR odds ratio OR multivariate analysis OR logistic models OR risk.

3.3. Extracción de datos

La identificación de las tendencias de investigación es útil para comprender la estructura temática de un dominio científico. Para entender los dominios representados por todos los artículos identificados importamos los títulos, resúmenes y palabras clave al

programa VOSviewer (versión 1.6.13, <https://www.vosviewer.com/>). Este programa utiliza minería de texto para construir y visualizar redes de coincidencia (aparición conjunta) de términos importantes extraídos de un cuerpo de literatura científica (10).

Luego, para filtrar los artículos de acuerdo con los objetivos de la investigación, analizamos los títulos y resúmenes en la aplicación en línea Rayyan (<https://rayyan.qcri.org>). Esta aplicación se desarrolló específicamente para acelerar la selección inicial de resúmenes y títulos mediante un proceso de semiautomatización (11). Resolvimos las discrepancias por consenso.

3.4. Criterios de inclusión y exclusión

Seleccionamos artículos en idioma inglés, que realizaron los estudios en humanos y que indicaron un valor de riesgo para el factor de riesgo y el desarrollo de aftas. Excluimos artículos donde el afta no fue el resultado del estudio (*outcome*), aquellos que no presentaron resumen, investigaciones cuyo objetivo fue terapéutico y aquellos realizados en subpoblaciones (por ejemplo, personas con VIH/SIDA). Luego de la evaluación de texto completo excluimos artículos que no realizaron análisis multivariado para evaluar riesgo, que no especificaron las variables en el modelo, estudios sin resultados significativos (para reportar solo resultados relevantes), modelos que no especificaron el número de grupos y artículos reportando lesiones fuera de la cavidad oral (por ejemplo, úlceras genitales).

3.5. Artículos incluidos en la síntesis cualitativa

De los artículos que seleccionamos obtuvimos la siguiente información: referencia, país, nombre del factor de riesgo, diseño del estudio, técnica y muestra, número de sujetos en los grupos de contraste, conclusiones principales, número de eventos dentro de los grupos y valores de riesgo (incluyendo valores-p e intervalos de confianza).

3.6. Evaluación de calidad

Realizamos la evaluación de calidad utilizando la escala de Newcastle-Ottawa. Esta es una herramienta para la evaluación del riesgo de sesgo para estudios observacionales (12). Se evalúan tres perspectivas amplias: la selección de los grupos de estudio; la comparabilidad de los grupos; y la determinación de la exposición o el resultado de interés para estudios de casos y controles o estudios de cohortes, respectivamente. Las escalas de evaluación se muestran en el archivo suplementario S1 (<http://doi.org/10.5281/zenodo.3533858>). En nuestra investigación utilizamos una adaptación, donde asignamos 1 punto cuando el mejor criterio de la escala se cumplió (13). Los puntajes 7-8, 5-6, 4 y 0-3 clasificaron los estudios de muy buena calidad, buena calidad, satisfactorios o insatisfactorios respectivamente. Adicionalmente evaluamos la adherencia de los reportes a los lineamientos STROBE (*The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology*). Reportamos el grado de cumplimiento como porcentajes (14).

4. RESULTADOS

4.1. Artículos filtrados

El mapa bibliométrico de todos los artículos identificados puede consultarse en la Figura Suplementaria S1 (<http://doi.org/10.5281/zenodo.3533858>). De los artículos identificados, excluimos 201 que no cumplieron con los criterios de elegibilidad. Obtuvimos 18 artículos, de los cuales excluimos 12 por diferentes razones, siendo la principal la ausencia de un modelo multivariado para evaluar el riesgo (Figura 1, flujograma PRISMA). El listado completo de los artículos puede consultarse en el Archivo Suplementario S2 (<http://doi.org/10.5281/zenodo.3533858>).

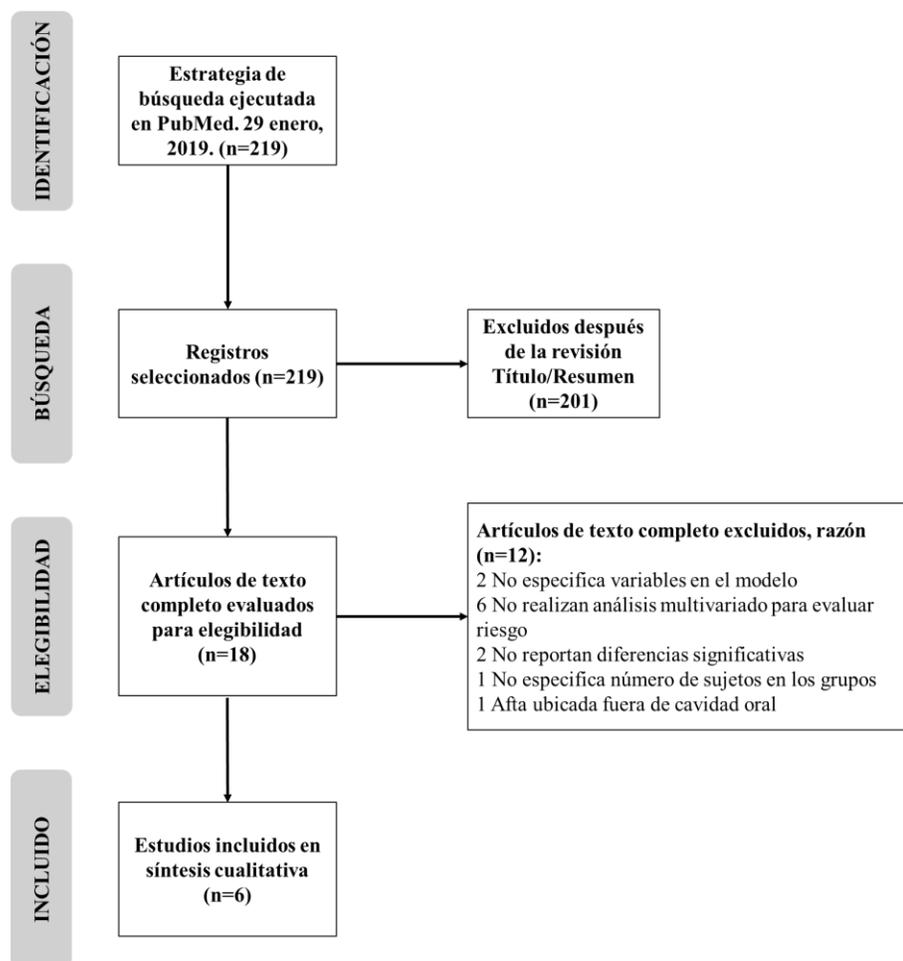


Figura 1. Flujograma PRISMA. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la bibliografía sobre los factores de riesgo para estomatitis aftosa recurrente.

4.2. La mayoría de los factores son polimorfismos genéticos en moléculas proinflamatorias

Examinamos los artículos seleccionados, extrayendo las características y conclusiones principales. Todos los estudios son caso-control y usaron OR ajustado para evaluar riesgo. Seis artículos evaluaron 9 factores de riesgo (15-20). La mayoría de los factores de riesgo son polimorfismos genéticos evaluados mediante genotipificación. Esos datos son resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de los artículos incluidos.

Referencia	Factor	Técnica y muestra	Conclusión principal
Karasneh et al. Jordania, 2015 (15)	Polimorfismo de Toll-like receptor 4 (TLR4, rs10759931 , genotipo AA)	Genotipificación Sangre	Permitiría una presentación más superficial de TLR4 en el epitelio oral de los pacientes con aftas.
Karasneh et al. Jordania, 2014 (16)	Polimorfismo de Matrix metalloproteinas e-9 (MMP9, rs11697325 , genotipo AA)	Genotipificación Sangre	Puede dar lugar a una mayor actividad de MMP-9. Ello puede contribuir a un aumento en el reclutamiento de células inflamatorias y degradación de la membrana basal.
Alkhateeb et al. Jordania, 2013 (17)	Polimorfismo de E-selectina (rs5361 , genotipo AA)	Genotipificación Sangre	Mejora el reclutamiento de leucocitos y células T reclutadas en respuesta a un estímulo.
	Polimorfismo de E-selectina (rs5361 , genotipo AC)		
Guimarães et al. Brasil, 2007 (18)	Polimorfismo de Interleukin-1 beta (IL-1 beta, rs1143634 , genotipo CT)	Genotipificación Mucosa oral	Una alta producción de IL-1 beta y TNF-alfa facilita la migración de células inflamatorias.
	Polimorfismo de Tumor necrosis factor-alfa (TNF-alfa, rs1800629 , genotipo GA)		
Çiçek et al. Turquía, 2004 (19)	Lateralidad manual	Auto-reporte No aplica	Las personas que escriben con la mano izquierda presentan un mayor número de desórdenes inmunológicos.
	Fumar		En los fumadores aumenta la queratinización de la mucosa oral que constituiría una barrera para la posible causa etiológica de las aftas
Grady et al. Estados Unidos, 1992 (20)	Tabaco para mascar	Auto-reporte No aplica	Induce queratosis que puede prevenir las úlceras aftosas a través de un efecto protector local.

Descripción de estudios seleccionados por autor, país, año, factor de riesgo, técnica, muestra y conclusiones principales. Cuando estuvieron disponibles, insertamos enlaces a dbSNP (*the NCBI database of genetic variation*) y SNPedia. Los polimorfismos genéticos corresponden a diferentes secuencias de ADN entre individuos (21). Todos los polimorfismos informados son polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNPs).

Fueron usados diferentes tamaños de muestra, con un rango de a 128 a 11.360. Obtuvimos el número de sujetos por grupo, los valores de riesgo, los intervalos de confianza de cada uno. Los principales resultados de los estudios son presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos extraídos de los artículos seleccionados.

Referencia	Factor	Grupos	Frecuencias*	OR	Valor-p	IC
Karasneh et al. (15)	TLR4, <u>rs10759931</u> , genotipo AA	EAR (93/241) vs. sanos (148/241)	Aftas (17/93) vs. sanos (13/148)	3,89	0,0100	1,20-6,70
Karasneh et al. (16)	MMP9, <u>rs11697325</u> , genotipo AA	EAR (96/249) vs. sanos (153/249)	Aftas (29/96) vs. sanos (24/153)	3,11	0,0080	1,30-7,20
Alkhateeb et al. (17)	E-selectina, <u>rs5361</u> , genotipo AA	EAR (96/249) vs. sanos (153/249)	Aftas (75/96) vs. sanos (102/249)	10,90	0,0230	1,40-85,30
	E-selectina, <u>rs5361</u> , genotipo AC	EAR (96/249) vs. sanos (153/249)	Aftas (19/96) vs. sanos (36/153)	9,00	0,0420	1,10-75,70
Guimarães et al. (18)	IL-1 beta, <u>rs1143634</u> , genotipo CT	EAR (64/128) vs. sanos (64/128)	Aftas (36/64) vs. sanos (23/64)	2,40	0,0300	1,11-5,20
	TNF-alfa, <u>rs1800629</u> , genotipo GA	EAR (64/128) vs. sanos (64/128)	Aftas (22/64) vs. sanos (10/64)	3,07	0,0200	1,22-7,74
Çiçek et al. (19)	Lateralidad manual	Izquierda (761/11.360) vs. Derecha (10.599/11.360)	Izquierda (49/761) vs. Derecha (254/10.599)	2,80	0,0001	2,05-3,84
	Fumar	No fumadores (5.435/11.360) vs. fumadores (245/5.925)	No fumadores (245/5.925) vs. fumadores (58/5.435)	3,99	0,0001	2,99-5,34
Grady et al. (20)	Tabaco para mascar	No usa (643/1.188) vs. usa (545/1.188)	No usa (18/643) vs. usa (7/545)	0,40**	0,0400	No reportado

*Los primeros 4 artículos informan las frecuencias de los polimorfismos en los pacientes con aftas y controles sanos. Los últimos 2 artículos informan el número de diagnósticos en cada factor. **Factor protector. OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza al 95%. Todos los valores fueron reportados como los muestra cada estudio.

Ocho variables clinicopatológicas fueron incorporadas en 6 análisis multivariados (6 estudios generaron 6 modelos significativos y 24 covariables). Las variables más

comúnmente incluidas para el ajuste de los modelos fueron la edad (6 modelos, 100%), el sexo de los individuos (5 modelos, 83,3%) y el hábito de fumar (4 modelos, 66,7%). Puede consultarse el Archivo Suplementario S2 (<http://doi.org/10.5281/zenodo.3533858>) para más detalles. En la Tabla 3 presentamos una revisión narrativa para los factores de riesgo identificados.

Tabla 3. Resumen de los factores de riesgo propuestos.

Factor de riesgo	Información
TLR4	Reconoce específicamente el lipopolisacárido bacteriano, junto con varios otros componentes de patógenos y moléculas endógenas producidas durante situaciones anormales, como el daño tisular (22). Induce respuestas inmunes innatas. El polimorfismo rs10759931 se ubica en la región promotora del gen (23). El aumenta la expresión génica de TLR4 (24).
MMP9	Degrada proteínas de la matriz extracelular y activa las citoquinas y quimioquinas para regular la remodelación de los tejidos (25). El polimorfismo rs11697325 ocurre en la región 5' no transcrita del gen (que podría tener un elemento potenciador o <i>enhancer</i>) lo que aumenta la transcripción y la vida media de la proteína (26).
E-selectina	Se expresa en las células endoteliales después de la activación por IL-1 beta y TNF-alfa. Es importante en la extravasación y acumulación de leucocitos en las respuestas inflamatorias (27). El polimorfismo rs5361 se presenta en el exón del gen. El altera la especificidad de unión del dominio extracelular de E-selectina, facilitando la unión de sus ligandos, lo que a su vez mejora la adhesión de las células inflamatorias al endotelio vascular (28).
IL-1 β	Es un mediador clave de la respuesta inflamatoria. Es esencial para la respuesta del hospedero, la resistencia a los patógenos y también exacerba el daño durante enfermedades crónicas y lesiones tisulares agudas (29). El polimorfismo rs1143634 se asocia con una mayor secreción de IL-1 β en vitro (30).
TNF-alfa	Es una de las citoquinas proinflamatorias más potentes y desempeña un papel en la lesión tisular inducida por el sistema de respuesta inmune (31). El polimorfismo rs1800629 se encuentra en la región promotora del gen. Ello lleva a un aumento en el nivel de expresión esta citoquina (32).
Lateralidad manual	Se refiere a la diferencia en la habilidad entre las manos como resultado de factores biológicos, experiencia y entrenamiento (33). Se ha sugerido que escribir con la mano izquierda podría ser un marcador de exposición en el útero materno a altos niveles de testosterona, asociado también a un mayor riesgo de trastornos autoinmunes e inmunes (34). Recientemente se ha demostrado un vínculo en el polimorfismo rs386770867 del gen SETDB2, un fuerte candidato para mediar la lateralidad manual, con el asma y otras enfermedades atópicas (35).
Fumar/tabaco	Es un factor de riesgo para el cáncer oral (36). Produce hiperqueratosis del epitelio oral y otras lesiones potencialmente malignas (37, 38).

La información de cada factor es descrita de acuerdo con la revisión de la literatura. Los SNPs pueden promover enfermedades, ya que tienen la capacidad de influir en la actividad de la región promotora de un gen (expresión génica), en la conformación del ARN mensajero (estabilidad) y en la localización subcelular de las proteínas (39). Ello puede ayudar a determinar la probabilidad de que alguien desarrolle una enfermedad. Por ejemplo, en el Alzheimer la apolipoproteína E contiene dos SNPs (rs4420638 y rs7412), que dan como resultado tres posibles alelos para su gen: ϵ_2 , ϵ_3 y ϵ_4 . Heredar una copia de ϵ_4 otorga un riesgo de entre 2-3 veces para la enfermedad de Alzheimer, mientras que dos copias (ϵ_4/ϵ_4) aumentan el riesgo a 15 veces (40).

4.3. Los artículos elegidos son de buena calidad

Presentamos el resumen de la evaluación global de los artículos en la Tabla 4. Basado en la escala de Newcastle-Ottawa, 4 de los 6 estudios son de muy buena calidad y los 2 restantes son de buena calidad. Estos dos últimos fueron realizados antes del año 2007. En cuanto al estándar de los reportes analizado de acuerdo con los lineamientos STROBE, la mayoría de los estudios muestra una buena adherencia a los elementos clave a comunicar (sobre 18 de 23 ítems posibles). Puede consultarse el archivo suplementario S3 para más detalles.

Tabla 4. Calidad de los artículos seleccionados.

Referencia	Newcastle-Ottawa (score)*	STROBE (porcentaje)**
Karasneh <i>et al.</i> (15)	Buena calidad (6,0)	Pobre adherencia (39,1)
Karasneh <i>et al.</i> (16)	Buena calidad (6,0)	Buena adherencia (82,6)
Alkhateeb <i>et al.</i> (17)	Muy buena calidad (7,0)	Excelente adherencia (87,0)
Guimarães <i>et al.</i> (18)	Muy buena calidad (7,0)	Buena adherencia (78,3)
Çiçek <i>et al.</i> (19)	Muy buena calidad (7,0)	Excelente adherencia (95,7)
Grady <i>et al.</i> (20)	Muy buena calidad (7,0)	Excelente adherencia (91,3)

*Escala de Newcastle-Ottawa adaptada para evaluar la calidad de los estudios según Takahashi *et al.* (13).

**Los ítems de STROBE fueron evaluados de acuerdo a la escala modificada de Limaye *et al.* (14).

5. DISCUSIÓN

En nuestra investigación identificamos que la mayoría de los factores de riesgo que determinan la susceptibilidad individual a las aftas son polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNPs). A ellos le siguieron como factor protector la exposición a tabaco.

Identificamos que SNPs en los genes de TLR4, MMP9, E-selectin, IL-1 beta y TNF-alfa facilitan la migración de células inflamatorias en el contexto de las aftas. Además, que dos variables conductuales, la lateralidad manual -al parecer determinada por un SNP (35)- y el hábito de fumar están asociados con el desarrollo de las lesiones. De acuerdo con nuestra revisión de la literatura (Tabla 3), salvo el hábito de fumar, el resto de los factores son marcadores fijos. A nuestro entender eso da pocas posibilidades hoy para la prevención de las aftas. Ello debido al hecho de que en enfermedades complejas, un número considerable de personas que no son portadoras de un genotipo en riesgo puede desarrollar una enfermedad debido a factores ambientales (41). Aquí los SNPs reportados hablan de una probabilidad de entre 2 a 11 veces para el desarrollo de aftas, sin embargo, estos números tienen una utilidad limitada si no se conoce el desencadenante de las lesiones. Sabemos por ahora, en base a un pequeño número de artículos, que los sujetos portadores de los SNPs estarían en un estado de “sensibilización”. Ello está en línea con la visión actual que propone que la susceptibilidad genética a úlceras orales puede llevar a una respuesta tisular desproporcionada (5). Esa respuesta está caracterizada por la desregulación de la respuesta mediada por células locales conduce a una acumulación focal inapropiada de poblaciones de linfocitos T citotóxicos dentro de la mucosa oral después de desencadenantes menores, lo que lleva a daño tisular y manifestación clínica como ulceración oral (1, 2).

Sumado a que los SNPs no constituyen un riesgo modificable, la evidencia que mostró que los sujetos fumadores o mascadores de tabaco presentan menos aftas. Esta evidencia se refuerza con resultados manifestando que las aftas son un resultado común en personas que dejan de fumar (42). El hábito de fumar o mascar tabaco produce un aumento en la queratinización de la mucosa oral (43). Esta queratinización protegería a los tejidos orales contra la penetración del eventual agente etiológico de las aftas. Además, la nicotina o sus metabolitos disminuyen citoquinas pro-inflamatorias como IL-1 beta, TNF-alfa, y

aumento de la citoquina antiinflamatoria IL-10 (44). Estos hechos siguieron un rol inmunosupresor o reductor de la respuesta inflamatoria en el hábito de fumar. Sin embargo, de un punto de vista clínico no es viable la recomendación de usar este hábito como factor protector. Esto no es compatible con los principios generales preconizadas por los profesionales de la salud sobre los efectos nocivos del consumo de tabaco y el hábito de fumar. Menos aun cuando el hábito de fumar es el principal factor de riesgo para el cáncer de pulmón (45) y para el cáncer oral (36).

Pese a que hay más de 200 artículos que fueron recuperados inicialmente, solo una pequeña parte de ellos fue incluida en nuestros análisis. Un gran número fue excluido porque si bien reportaron relaciones significativas, estas asociaciones fueron fruto de análisis bivariados. Además, la mayoría de los artículos no reportó valores de riesgo luego un análisis multivariado. Las variables significativas en los análisis bivariados pueden volverse insignificantes en un modelo multivariado. Este punto crítico ha sido explicado previamente para las aftas y el cigarro. Donde la asociación informada en la mayoría de los artículos puede deberse a la falta de ajuste a otros antecedentes clínicos, como la edad, el número de cigarrillos consumidos, la depresión o estrés (al dejar el hábito) (43). Las técnicas multivariadas permiten a los investigadores observar las relaciones entre factores de una manera general y cuantificar la relación entre ellos. Ellas especifican las condiciones bajo las cuales tiene lugar una asociación. Comparadas con los análisis bivariados, las técnicas multivariadas proporcionan una prueba de significación más poderosa (46). Por lo tanto, pese a que nuestras conclusiones provienen de un bajo número de artículos, la evidencia que arrojan los artículos incluidos en nuestra síntesis es confiable. Y a esto se suma que todos los artículos son de buena o muy buena calidad, teniendo una buena adherencia a las características formales que deben cumplir para reportar los resultados.

La etiología y patogénesis de las aftas continúan sin estar claras. El protagonismo de los SNPs, en lo que llamamos un estado de sensibilización, pone de manifiesto que esta enfermedad corresponde en parte a un trastorno genético. En conjunto nuestros resultados muestran que existe un grupo de marcadores fijos hereditarios asociados al desarrollo de las lesiones, los cuales probablemente hacen susceptibles a los sujetos que los poseen a respuestas inmunes focales desproporcionadas en la mucosa oral.

6. REFERENCIAS

1. Rivera C. Essentials of recurrent aphthous stomatitis (Review). *Biomed Rep.* 2019;11(2):47-50. doi: 10.3892/br.2019.1221.
2. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. *Dent Clin North Am.* 2014;58(2):281-97. doi: 10.1016/j.cden.2013.12.002.
3. Slebioda Z, Szponar E, Kowalska A. Recurrent aphthous stomatitis: genetic aspects of etiology. *Postepy Dermatol Alergol.* 2013;30(2):96-102. doi: 10.5114/pdia.2013.34158.
4. Aphthous ulcers. *BMJ Best Practice.* 2018;<<https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/564/guidelines/>>, [accessed 08 November 2019].
5. Dudding T, Haworth S, Lind PA, Sathirapongsasuti JF, Tung JY, Mitchell R, et al. Genome wide analysis for mouth ulcers identifies associations at immune regulatory loci. *Nat Commun.* 2019;10(1):1052. doi: 10.1038/s41467-019-08923-6.
6. Schooling CM, Jones HE. Clarifying questions about "risk factors": predictors versus explanation. *Emerg Themes Epidemiol.* 2018;15:10. doi: 10.1186/s12982-018-0080-z.
7. Offord DR, Kraemer HC. Risk factors and prevention. *Evid Based Mental Health.* 2000;3(3):70-1. doi: 10.1136/ebmh.3.3.70.
8. Latest research and news by subject: Risk factors. *Naturecom.* 2019;<<https://www.nature.com/subjects/risk-factors/>>, [accessed 08 November 2019].
9. Sedgwick P, Joeques K. What are the risks? *Bmj.* 2015;350:h2931. doi: 10.1136/bmj.h2931.

10. van Eck NJ, Waltman L. Citation-based clustering of publications using CitNetExplorer and VOSviewer. *Scientometrics*. 2017;111(2):1053-70. doi: 10.1007/s11192-017-2300-7.
11. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev*. 2016;5(1):210. doi: 10.1186/s13643-016-0384-4.
12. Lo CK, Mertz D, Loeb M. Newcastle-Ottawa Scale: comparing reviewers' to authors' assessments. *BMC Med Res Methodol*. 2014;14:45. doi: 10.1186/1471-2288-14-45.
13. Takahashi N, Hashizume M. A systematic review of the influence of occupational organophosphate pesticides exposure on neurological impairment. *BMJ Open*. 2014;4(6):e004798. doi: 10.1136/bmjopen-2014-004798.
14. Limaye D, Limaye V, Pitani RS, Fortwengel G, Sydymanov A, Otzipka C, et al. Development of a quantitative scoring method for STROBE checklist. *Acta Pol Pharm*. 2018;75(5):1095-106. doi: 10.32383/appdr/84804.
15. Karasneh J, Bani-Hani M, Alkhateeb A, Hassan A, Alzoubi F, Thornhill M. TLR2, TLR4 and CD86 gene polymorphisms in recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2015;44(10):857-63. doi: 10.1111/jop.12298.
16. Karasneh JA, Bani-Hani ME, Alkhateeb AM, Hassan AF, Thornhill MH. Association of MMP but not TIMP-1 gene polymorphisms with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis*. 2014;20(7):693-9. doi: 10.1111/odi.12190.
17. Alkhateeb A, Karasneh J, Abbadi H, Hassan A, Thornhill M. Association of cell adhesion molecule gene polymorphisms with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2013;42(10):741-6. doi: 10.1111/jop.12100.

18. Guimaraes AL, Correia-Silva Jde F, Sa AR, Victoria JM, Diniz MG, Costa Fde O, et al. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1beta, IL-6, IL-10 and TNF-alpha in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol.* 2007;52(3):268-72. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.08.008.
19. Cicek Y, Canakci V, Ozgoz M, Ertas U, Canakci E. Prevalence and handedness correlates of recurrent aphthous stomatitis in the Turkish population. *J Public Health Dent.* 2004;64(3):151-6. doi: 10.1111/j.1752-7325.2004.tb02745.x.
20. Grady D, Ernster VL, Stillman L, Greenspan J. Smokeless tobacco use prevents aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992;74(4):463-5. doi: 10.1016/0030-4220(92)90296-3.
21. Teama S. DNA Polymorphisms: DNA-Based Molecular Markers and Their Application in Medicine. In: Liu Y, editor. *Genetic Diversity and Disease Susceptibility.* Rijeka: IntechOpen; 2018.
22. Vaure C, Liu Y. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality in different animal species. *Front Immunol.* 2014;5:316. doi: 10.3389/fimmu.2014.00316.
23. Kohailan M, Alanazi M, Rouabhia M, Al Amri A, Parine NR, Semlali A. Two SNPs in the promoter region of Toll-like receptor 4 gene are not associated with smoking in Saudi Arabia. *Onco Targets Ther.* 2017;10:745-52. doi: 10.2147/ott.S111971.
24. Tang AT, Choi JP, Kotzin JJ, Yang Y, Hong CC, Hobson N, et al. Endothelial TLR4 and the microbiome drive cerebral cavernous malformations. *Nature.* 2017;545(7654):305-10. doi: 10.1038/nature22075.
25. Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease. *Physiology (Bethesda).* 2013;28(6):391-403. doi: 10.1152/physiol.00029.2013.

26. Chen L, Wang X, Carter SA, Shen YH, Bartsch HR, Thompson RW, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase 9 gene (-8202A/G) is associated with thoracic aortic aneurysms and thoracic aortic dissection. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006;131(5):1045-52. doi: 10.1016/j.jtcvs.2006.01.003.
27. Silva M, Videira PA, Sackstein R. E-Selectin Ligands in the Human Mononuclear Phagocyte System: Implications for Infection, Inflammation, and Immunotherapy. *Front Immunol.* 2017;8:1878. doi: 10.3389/fimmu.2017.01878.
28. Yararbas K, Atalay PB. Association of E-selectin S128R Polymorphism with Hereditary Breast Carcinoma Susceptibility in Turkish Patients Without BRCA1/2 Germline Mutations. *Balkan J Med Genet.* 2018;21(1):27-31. doi: 10.2478/bjmg-2018-0004.
29. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1beta secretion. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(4):189-95. doi: 10.1016/j.cytogfr.2011.10.001.
30. Wang B, Yuan F. The association between interleukin-1beta gene rs1143634 polymorphism and the risk of breast cancer. *Cytokine.* 2019;113:475-6. doi: 10.1016/j.cyto.2018.07.030.
31. Wei XM, Chen YJ, Wu L, Cui LJ, Hu DW, Zeng XT. Tumor necrosis factor-alpha G-308A (rs1800629) polymorphism and aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis of 16 case-control studies. *Sci Rep.* 2016;6:19099. doi: 10.1038/srep19099.
32. Li M, Han Y, Wu TT, Feng Y, Wang HB. Tumor necrosis factor alpha rs1800629 polymorphism and risk of cervical lesions: a meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(8):e69201. doi: 10.1371/journal.pone.0069201.
33. van der Feen FE, Zickert N, Groothuis TGG, Geuze RH. Does hand skill asymmetry relate to creativity, developmental and health issues and aggression as markers of fitness? *Laterality.* 2019:1-34. doi: 10.1080/1357650x.2019.1619750.

34. Gardener H, Munger K, Chitnis T, Spiegelman D, Ascherio A. The relationship between handedness and risk of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2009;15(5):587-92. doi: 10.1177/1352458509102622.
35. Crespi B, Read S, Hurd P. The SETDB2 locus: evidence for a genetic link between handedness and atopic disease. *Heredity (Edinb).* 2018;120(1):77-82. doi: 10.1038/s41437-017-0004-7.
36. Rivera C. Essentials of oral cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):11884-94. doi: 10.5281/zenodo.192487.
37. Naveen-Kumar B, Tatapudi R, Sudhakara-Reddy R, Alapati S, Pavani K, Sai-Praveen KN. Various forms of tobacco usage and its associated oral mucosal lesions. *J Clin Exp Dent.* 2016;8(2):e172-7. doi: 10.4317/jced.52654.
38. Hallikeri K, Naikmasur V, Guttal K, Shodan M, Chennappa NK. Prevalence of oral mucosal lesions among smokeless tobacco usage: A cross-sectional study. *Indian J Cancer.* 2018;55(4):404-9. doi: 10.4103/ijc.IJC_178_18.
39. Shastry BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol.* 2009;578:3-22. doi: 10.1007/978-1-60327-411-1_1.
40. Liu CC, Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol.* 2013;9(2):106-18. doi: 10.1038/nrneurol.2012.263.
41. Manolio TA, Collins FS. The HapMap and genome-wide association studies in diagnosis and therapy. *Annu Rev Med.* 2009;60:443-56. doi: 10.1146/annurev.med.60.061907.093117.
42. McRobbie H, Hajek P, Gillison F. The relationship between smoking cessation and mouth ulcers. *Nicotine Tob Res.* 2004;6(4):655-9. doi: 10.1080/14622200410001734012.

43. Sawair FA. Does smoking really protect from recurrent aphthous stomatitis? *Ther Clin Risk Manag*. 2010;6:573-7. doi: 10.2147/term.S15145.
44. Subramanyam RV. Occurrence of recurrent aphthous stomatitis only on lining mucosa and its relationship to smoking--a possible hypothesis. *Med Hypotheses*. 2011;77(2):185-7. doi: 10.1016/j.mehy.2011.04.006.
45. Walser T, Cui X, Yanagawa J, Lee JM, Heinrich E, Lee G, et al. Smoking and lung cancer: the role of inflammation. *Proc Am Thorac Soc*. 2008;5(8):811-5. doi: 10.1513/pats.200809-100TH.
46. Jackson J. Multivariate Techniques: Advantages and Disadvantages. *The Classroom*. 2018;<<https://www.theclassroom.com/multivariate-techniques-advantages-disadvantages-8247893.html/>>, [accessed 04 November 2019].