



UNIVERSITAT  VALÈNCIA
Departament d'Estomatologia

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO BUCODENTAL Y SALIVAL EN UNA POBLACION DE DIABÉTICOS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO.

Programa de Doctorado:
Fisiopatología del Aparato Estomatognático

Presentada por:

PEDRO SERRANO SÁNCHEZ

Dirigida por:

Prof. Dr. JOSÉ VICENTE BAGÁN SEBASTIÁN

Dr. JUAN CARLOS FERRER GARCÍA

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO BUCODENTAL Y SALIVAL EN UNA POBLACION DE DIABÉTICOS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO.

Presentada por:

PEDRO SERRANO SÁNCHEZ

Dirigida por:

Prof. Dr. JOSÉ VICENTE BAGÁN SEBASTIÁN

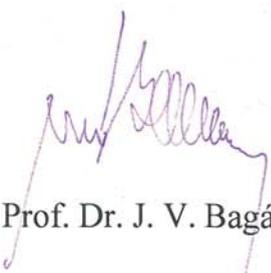
Dr. JUAN CARLOS FERRER GARCÍA

Prof. Dr. JOSÉ VICENTE BAGÁN SEBASTIÁN, Jefe del Servicio de Estomatología y Cirugía Maxilofacial. Catedrático de Estomatología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universitat de València,

CERTIFICO:

Que Don PEDRO SERRANO SÁNCHEZ, Licenciado en Odontología, ha efectuado bajo mi dirección la presente tesis Doctoral, titulada "ESTUDIO BUCODENTAL Y SALIVAL EN UNA POBLACION DE DIABÉTICOS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO " para optar al Grado de Doctor.

Para que así conste, firmo la presente en Valencia, a 29 de Septiembre de dos mil quince.



Fdo.: Prof. Dr. J. V. Bagán Sebastián

Dr. JUAN CARLOS FERRER GARCÍA, Médico Adjunto del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario de Valencia. Profesor Asociado de Endocrinología de la Universitat de València

CERTIFICO:

Que Don PEDRO SERRANO SÁNCHEZ, Licenciado en Odontología, ha efectuado bajo mi dirección la presente tesis Doctoral, titulada "ESTUDIO BUCODENTAL Y SALIVAL EN UNA POBLACION DE DIABÉTICOS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO " para optar al Grado de Doctor.

Para que así conste, firmo la presente en Valencia, a 29 de Septiembre de dos mil quince.



Fdo.: Dr. Juan Carlos Ferrer García

AGRADECIMIENTOS

A mis directores; al Prof. Dr. José Vicente Bagán Sebastián, por su esfuerzo personal, dedicarme su tiempo y la confianza que demuestra en mí delegándome este proyecto. Al Dr. Juan Carlos Ferrer por su implicación, disponibilidad y cercanía.

A la plantilla de médicos adjuntos, de enfermería y secretaria del Servicio de Estomatología y Cirugía Maxilofacial del Hospital General Universitario de Valencia (HGUV). Incluyo y no me olvidaré nunca, de Manolo ni de Ricardo Cebrián aunque ya no estén entre nosotros.

Al equipo del Servicio de Endocrinología y Nutrición del HGUV: Amparo Muñoz, enfermera responsable de la Unidad de Diabetes y Raquel Albalat, encargada de laboratorio y ensayos clínicos.

A mis compañeros del departamento de patología médico-quirúrgica de la Universidad de Valencia; Marigracia, Margaix, Bego, Ari, Aisha, Laura, Marzal, Marta, Carlos, Silvi, Laura Carlos y Silver. A Yolanda, Carmen y Sergio.

A Leticia Bagán por llevar a cabo las pruebas de laboratorio y muy especialmente, a mi compañera la Dra. Estela Hontanilla, por las horas que hemos compartido juntos trabajando, codo con codo, en este proyecto.

También agradecer las palabras de aliento y apoyo durante estos años brindadas por mi querido Quincho, WinterSong, Juan Guarinos y a la profesora Amparo Ruiz.

Ante todo agradecer públicamente a mis padres su amor sin condiciones ni reglas, por lo que han luchado y siguen luchando por mí, y sobre todo por brindarme siempre un apoyo sin fisuras para el logro mis metas personales.

A mis padres, a Damián, a Leti y a la pequeña Eugenia

Al amor de mi vida, a Elena Hens

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus. Resumen	1.
Relación entre la diabetes mellitus y la enfermedad periodontal	5.
Saliva como fluido diagnóstico y su aplicación en el paciente diabético	41.
Estrés oxidativo	49.
Antioxidantes y la patología en el ser humano	59.
Diabetes mellitus y antioxidantes	71.
Enfermedad periodontal, antioxidantes y estrés oxidativo en saliva	73.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	77.
---------------------------------	-----

MATERIAL Y MÉTODO	81.
-------------------------	-----

I. Criterios de inclusión y exclusión	86.
II. Parámetros bucodentales estudiados	89.
III. Parámetros salivales estudiados	94.
IV. Determinación del estrés oxidativo	96.
V. Metodología estadística empleada	97.

RESULTADOS	99.
------------------	-----

I. Datos y hallazgos estudiados exclusivamente en el grupo diabéticos:	
A. Descripción de las determinaciones en sangre	103
B. Complicaciones secundarias y tiempo de evolución	104.
II. Comparación del grupo diabético y control	105.
III. Estudio descriptivo de la saliva	113.
IV. Determinación del estatus antioxidante a través del malondialdehído	114.
V. Diferencias entre los parámetros de malondialdehído en STR y STE en el grupo de diabéticos y su relación con la variable genero y variable complicaciones de la diabetes.	115.

DISCUSIÓN.....	119.
I. Discusión sobre material y método empleado	123.
II. Discusión sobre determinaciones realizadas en sangre	124.
III. Discusión sobre valores obtenidos en los parámetros dentales	128.
IV. Discusión sobre parámetros periodontales estudiados	130.
V. Discusión sobre la cuantificación salival en diabetes.....	134.
VI. Discusión sobre antioxidantes. Malondialdehido	135.
CONCLUSIONES.....	139.
BIBLIOGRAFÍA.....	143.
ANEXOS.....	167

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus. Resumen	1.
Relación entre la diabetes mellitus y la enfermedad periodontal	5.
Saliva como fluido diagnóstico y su aplicación en el paciente diabético	41.
Estrés oxidativo	49.
Antioxidantes y la patología en el ser humano	59.
Diabetes mellitus y antioxidantes	71.
Enfermedad periodontal, antioxidantes y estrés oxidativo en saliva	73.

DIABETES MELLITUS. RESUMEN

Concepto

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por un aumento de los niveles de glucosa plasmáticos. Esta alteración de la glucemia es el resultado de un defecto en la secreción de la insulina, en la acción o comportamiento de la misma, o porque sucedan ambas alteraciones al mismo tiempo. La insulina es una hormona secretada por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas que juega un papel fundamental en la regulación del aprovechamiento de los hidratos de carbono por parte de las células del organismo. La función de la insulina es ayudar al paso de la glucosa al interior de la célula, y así permitir su metabolismo energético (ya que la cantidad de glucosa que puede pasar a las células por difusión es muy escasa), además de posibilitar su almacenamiento en el organismo mediante la activación de las rutas anabólicas y mantener la glucosa plasmática y tisular en niveles óptimos(1).

La secreción basal de insulina es la que tiene lugar en situación de ayuno. En los momentos postprandiales, dicha secreción se eleva para compensar el efecto hiperglucemiante de la ingesta(1).

La insulina circulante en la sangre interacciona con receptores específicos presentes en todas las células del organismo. La interacción con los receptores de membrana desencadena una serie de reacciones intracelulares (básicamente fosforilaciones) que activan los mecanismos que permiten la adquisición de la glucosa del torrente sanguíneo y su transformación en productos de reserva, glucógeno en el

músculo e hígado y triglicéridos en los adipocitos. Estos mecanismos van a mantener una glucemia media entre 75-115 mg/dl(2).

No obstante se han demostrado otras alteraciones, al margen de la insulina, que pueden promover la hiperglucemia, como el incremento relativo de la secreción de glucagón, el aumento de la reabsorción renal de glucosa o la alteración de las hormonas de efecto incretina o contrarregulador (cortisol, hormona de crecimiento y otras)(3,4).

Epidemiología

En nuestro país, la DM es una de las enfermedades con mayor impacto sociosanitario, no únicamente por su alta prevalencia (afectando al 13% de la población española) o por su elevada tasa de mortalidad, sino por la gran cantidad de complicaciones crónicas que produce a lo largo de su evolución(5).

Las complicaciones crónicas derivadas de la enfermedad se dividen en micro o macrovasculares y afectan considerablemente la calidad de vida de las personas que la padecen(6).

En la actualidad, desde un punto de vista general, la DM es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la sociedad de bienestar y desarrollo, y representa un alarmante problema de salud pública(6,7).

Algunos autores afirman que cada 5 segundos algún paciente es diagnosticado de diabetes en el mundo, y cada 10 segundos alguna persona muere a consecuencia de la enfermedad. Además, se ha observado que la prevalencia de la diabetes es creciente(8). La diabetes afecta a más de 340 millones de personas, más del doble que en 1980(9).

La prevalencia de diabetes en la población adulta española, se ha duplicado en las dos últimas décadas y es una de las mayores de nuestro entorno, permaneciendo sin diagnosticar la mitad de los casos(5). En España, la tasa de mortalidad por diabetes ajustada por edad en 2007 fue del 12,7%, si bien se ha observado una reducción del 30% entre 1990 y 2007, es aún mayor (47%) en la mortalidad prematura, es decir, antes de los 75 años(10).

La importancia de esta enfermedad radica principalmente en sus complicaciones crónicas que constituyen una de las principales causas de invalidez y mortalidad prematura en la mayoría de los países desarrollados, afectando de una manera directa a la calidad de vida de los pacientes que la padecen(7,11).

Clasificación

En las últimas décadas, el diagnóstico y clasificación de la diabetes ha sufrido numerosos cambios. La clasificación más aceptada en la actualidad es la realizada en base al mecanismo etiopatogénico de la enfermedad. Por ello, la American Diabetes Association (ADA) sugiere el uso de los términos tipo 1 y 2 en lugar de “insulinodependiente” y “no insulino dependiente” respectivamente, evitando la clasificación de los pacientes que padecen esta patología en función del tratamiento sino de la etiología(12).

Por tanto, la DM es clasificada por la ADA(13) en función de los mecanismos implicados en su etiopatogenia, del siguiente modo:

- La Diabetes Mellitus tipo 1, se debe a una destrucción de la célula β pancreática de origen autoinmune originando al paciente un déficit absoluto de insulina. Entre sus principales características se encuentran: aparición con mayor frecuencia antes de los 40 años, inicio relativamente brusco, muestra una tendencia a la cetosis y precisa rápidamente tratamiento con insulina. Este tipo 1, está presente en menos del 10% de los diabéticos, siendo mucho menos frecuente que la DM tipo 2(14).

- La Diabetes Mellitus tipo 2, se caracteriza por altos niveles de glucosa en sangre debido a una resistencia celular a las acciones de la insulina, combinada con una deficiente secreción de insulina por el páncreas. Afecta predominantemente a personas obesas y mayores de 40 años, siendo más prevalente en el contexto del síndrome metabólico, aunque en los últimos años su perfil está cambiando y aparece en gente más joven en relación al incremento de la obesidad. Suele acompañarse de hipertensión arterial, dislipemia (caracterizada sobre todo por aumento de triglicéridos, reducción del colesterol HDL y presencia de partículas de colesterol LDL más pequeñas y densas), hiperuricemia, obesidad abdominal (ésta por sí misma puede producir resistencia insulínica) y otros procesos menos frecuentes como microalbuminuria o síndrome de ovario poliquístico. Las modificaciones dietéticas y la actividad física son los pilares fundamentales del tratamiento. Si no es posible conseguir los objetivos se añaden agentes orales o inyectables en monoterapia o en combinación; en nuestro país, suele reservarse la insulina para estadios más avanzados, si bien esto depende mucho del control metabólico y las características del paciente(11).

La DM tipo 2 puede llegar a tener una prevalencia de un 31,9% en personas de más de 65 años, con una distribución por sexos similar(15).

En la práctica, se puede observar que todas las características expuestas en el párrafo anterior para diferenciar ambos tipos de DM no se cumplen en su totalidad. La

forma de presentación de un tipo u otro varía, pudiéndose encontrar casos de pacientes del tipo 1 que debutan con 40 años o formas de tipo 2 en pacientes muy jóvenes.

También existen otras formas de presentación de la enfermedad relacionadas con diferentes factores propios del paciente que precipitan el comienzo de la patología sistémica. Estas formas de presentación son menos comunes, y se agrupan en:

- La diabetes gestacional que ocurre en un 2-3% de mujeres embarazadas, suele evidenciarse hacia el tercer trimestre y en muchas ocasiones se resuelve al dar a luz. Este tipo se debe a una resistencia a la insulina, similar a la que acontece a la DM tipo 2, y puede conllevar aumento de la morbilidad y la mortalidad perinatales. Afortunadamente, en la mayoría de los casos los niveles de glucosa suelen volver a la normalidad tras el parto. No obstante, el 50% de las mujeres que han tenido una diabetes durante el embarazo, tienen un alto riesgo de desarrollar una DM tipo 2 en los 10 años posteriores(16).
- La diabetes secundaria tiene una menor prevalencia y conlleva un menor coste socio-sanitario a la administración pública. Se subdivide en:
 - La diabetes secundaria a un exceso hormonal (glucagón, catecolaminas, cortisol u hormona del crecimiento). Es rara, y la hiperglucemia suele resolverse cuando se soluciona el exceso hormonal.
 - Diabetes por enfermedad pancreática: pancreatitis, tumores, fibrosis quística, traumatismos del páncreas, cirugía pancreática, etc.
 - La diabetes secundaria asociada a fármacos. Entre ellos: glucocorticoides, interferon- α , hormonas tiroideas, ácido nicotínico...
 - Las diabetes secundarias a infecciones por virus como: citomegalovirus, coxsackievirus, rubeola....

- La diabetes secundaria asociada a síndromes genéticos reconocidos como los de Down, Klinefelter, Turner, etc(17,18).
- La diabetes monogénica, entre la que se encuentra la diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes in the Young). Su causa radica en una mutación genética. Las diferentes mutaciones condicionan una alteración en la secreción de insulina con evolución clínica desigual(19).
- Además, existe otra forma especial denominada “hiperglucemia de estrés”, que aparece en pacientes sin antecedentes médicos de DM. Ésta se produce por una hiperglucemia mantenida en un periodo de estrés o enfermedad. Tras resolverse la crisis, los valores de glucosa suelen volver a la normalidad, si bien orientan a que ese paciente tiene riesgo de desarrollar diabetes(20).

Manifestaciones clínicas

La diabetes mellitus se caracteriza principalmente por tres tipos de manifestaciones: metabólicas, vasculares y nerviosas. Las alteraciones metabólicas se deben principalmente a hiperglucemia y se asocian a manifestaciones clínicas como polifagia, polidipsia y poliuria con glucosuria(1,2). Conlleva alteraciones en el metabolismo de los lípidos y proteínas consecuentes a un déficit absoluto o relativo en la acción de la insulina(21).

La diabetes tipo 2 se presenta con frecuencia en el contexto de un síndrome metabólico. Desde la primera definición oficial del síndrome metabólico realizada por el Grupo de Trabajo de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1999, se han

propuesto diversas definiciones alternativas. Las más aceptadas han sido las elaboradas por el European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) y por el Adult Treatment Panel III (ATP-III) del National Cholesterol Education Program (NCEP). Como resultado de todos estos trabajos se establecieron unos parámetros para el diagnóstico del síndrome metabólico que recogen una gran variedad de alteraciones expresadas en la Tabla 1(22). El control del peso, de los lípidos y de la presión arterial son objetivos muy importantes en el paciente con diabetes.

Las complicaciones vasculares de la diabetes pueden ser micro y macroangiopáticas. Las microvasculares son la retinopatía, la nefropatía y la neuropatía. La neuropatía puede manifestarse de diferentes formas siendo la polineuropatía periférica o distal la más frecuente. Otro tipo de neuropatía es la vegetativa o autonómica. Entre las complicaciones macrovasculares destacan la enfermedad coronaria, la vasculopatía periférica y cerebral o la disfunción eréctil(23).

	NCEO-ATP III	OMS	IDF2005	AHA2005
Criterios diagnósticos	3 de los mencionados abajo	Hiper glucemia o IR(HOMA) más de dos criterios	Obesidad anormal , más de 2 criterios	3 de los mencionados abajo
Obesidad	PC >102H > 88 M	ICC >0.9 H o 0.85M o IMC ≥ 30	Criterio mayor PC ≥ 94H o ≥ 80M	≥100 mg/dl o tratamiento hipoglucemiante
Glucosa plasmática	≥ 150 mg/dl	≥ 150 mg/dl o IR	≥ 100 mg/dl o diagnóstico previo de DM	≥ 100 mg/dl o tratamiento hipoglucemiante
TG plasma	≥ 150 mg/dl	≥ 150 mg/dl	≥ 150 mg/dl con tratamiento específico	≥ 150 mg/dl con tratamiento específico
cHDL	< 40 mg/dl en V o <50 mg/dl en M	< 35 mg/dl en V o <39 mg/dl en M	< 40 mg/dl en V o <50 mg/dl en M o en tratamiento específico	< 40 mg/dl en V o <50 mg/dl en M o en tratamiento específico
PA	≥ 130/85 mmHg	≥ 140/90 mmHg o tratamiento previo	≥ 130/85 mmHg o con tratamiento hipotensor	≥ 130/85 mmHg o con tratamiento hipotensor
Microalbuminuria	No incluido	Alb/creatinina >30	No incluido	No incluido

Tabla 1. Criterios en el diagnóstico del síndrome metabólico. Abreviaciones: AHA: American Heart Association; cHDL :colesterol cHDL; HOMA: modelo de homeostasis de la glucosa insulinorresistencia; ICC: índice cintura-cadera; IDF:Federación Internacional de Diabetes; IR: insulinorresistencia; M:mujeres; NCEP-ATPIII: National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III ; OMS: Organización Mundial de la Salud; PA: presión arterial; PC: perímetro de cintura; TG: triglicéridos plasmáticos; V: varones(22).

Etiopatogenia

1. Diabetes mellitus tipo 1

Los individuos que padecen diabetes mellitus tipo 1 parecen tener cierta predisposición de base genética. Así por ejemplo, se ha demostrado un mayor riesgo o protección frente a la enfermedad según los alelos del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) que el sujeto presente. Esta enfermedad ocasiona una alteración en los antígenos de superficie que destruyen células β pancreáticas. El daño celular se manifiesta, como se ha destacado al definir los tipos de DM, con una presentación frecuentemente brusca por un cese total en la producción de insulina. Por ello, estos pacientes tienen tendencia a desarrollar cuadros clínicos derivados de la producción de energía a través del metabolismo de los lípidos. En situación extrema puede producir cetoacidosis e incluso comprometer la vida del individuo. Sin embargo, la presentación clínica es heterogénea y el debut de la DM tipo 1 suele ser menos brusco conforme aumenta la edad de presentación y diagnóstico, pudiendo llegar al mismo sin necesidad de la presencia cetosis o cetoacidosis acompañante(24-26).

Desde la perspectiva de la etiopatogenia, podemos distinguir en la diabetes tipo 1, dos subtipos: autoinmune e idiopático. El autoinmune, o también denominado 1A, es poligénico y más frecuente, ya que esta forma engloba más del 90% de los casos. Se asocia frecuentemente con enfermedades endocrinas autoinmunes. El idiopático o 1B es una diabetes por lesión directa del páncreas, más habitual en razas no caucásicas(27). La diabetes idiopática o 1B comparte características clínicas de la tipo 1A pero no se

puede detectar el componente autoinmune. Existe también una diabetes con tendencia a la cetosis que se presenta de modo fulminante y se describe en pacientes asiáticos: principalmente japoneses, chinos y coreanos. Ésta se caracteriza por escasas manifestaciones clínicas antes de la primera descompensación metabólica y no tiene una etiología autoinmune.

Los estudios en gemelos homocigotos sobre diabetes muestran que en el supuesto de la tipo 1 ambos gemelos sólo desarrollan la enfermedad en el 30-50% de los casos; mientras que en la tipo 2 existe más de un 90% de probabilidad de una doble afectación(28).

La diabetes tipo 2 tiene relación con el sedentarismo y la obesidad, que actúan como factores de riesgo en el desarrollo de una resistencia a la insulina, junto con una alteración en su secreción y un defecto progresivo de la célula beta pancreática(27,28).

2. Diabetes mellitus tipo 2

Como se ha destacado previamente, la altísima concordancia de esta forma clínica en gemelos idénticos y su transmisión familiar sugiere su naturaleza genética. Si bien se han reconocido errores genéticos puntuales que explican la etiopatogenia de algunos casos, en la gran mayoría se desconoce el defecto, siendo más probable que existan alteraciones genéticas múltiples(29).

El primer evento en la secuencia que conduce a esta DM es una resistencia insulínica que lleva a un incremento de la síntesis y secreción de insulina, con hiperinsulinismo compensatorio, capaz de mantener la homeostasia metabólica durante

años. Una vez se quiebra el equilibrio entre resistencia insulínica y secreción, se inicia la expresión bioquímica (intolerancia a la glucosa) y posteriormente la diabetes clínica. Los individuos con intolerancia a la glucosa y los diabéticos de corta evolución son hiperinsulinémicos, y esta característica es un componente frecuente en el llamado Síndrome de Resistencia a la Insulina o Síndrome Metabólico. Otros síntomas y signos acompañantes de este cuadro y relacionados con la insulina-resistencia y/o hiperinsulinemia son: hipertensión arterial, dislipidemias, obesidad tóraco-abdominal (visceral), hiperuricemia, aumento de factores protrombóticos, defectos de la fibrinólisis y aterosclerosis. Por ello, estos sujetos tienen aumentado su riesgo cardiovascular(30). La obesidad y el sedentarismo son factores que acentúan la insulino-resistencia. La obesidad predominantemente visceral, a través de una mayor secreción de ácidos grasos libres y de adipocitoquinas (factor de necrosis tumoral alfa, interleuquinas 1 y 6) y disminución de adiponectina, induce resistencia insulínica. Si coexiste con una resistencia de origen genético, se produce una mayor exigencia al páncreas y explica la mayor precocidad en la aparición de DM tipo 2 que se observa incluso en niños. Para que se inicie la enfermedad, que tiene un carácter irreversible en la mayoría de los casos, debe asociarse a la insulino-resistencia un defecto en las células beta. Se han postulado varias hipótesis: agotamiento de la capacidad de secreción de insulina en función del tiempo, coexistencia de un defecto genético que interfiere con la síntesis y secreción de insulina, interferencia de la secreción de insulina por efecto de fármacos, e incluso el incremento relativo de los niveles de glucosa y ácidos grasos en la sangre (glucolipototoxicidad)(31).

La Diabetes tipo 2 es una enfermedad progresiva en la que a medida que transcurren los años su control metabólico es más difícil como consecuencia del mantenimiento de la resistencia a la insulina y del deterioro de la secreción beta

pancreática. Su mecanismo patogénico se explica por la incapacidad celular de aprovechar la glucosa para producir energía con la que llevar a cabo sus procesos celulares. Esto se debe a una relativa y progresiva disminución en la producción de insulina y a la resistencia de la insulina circulante por parte de los tejidos(27).

La glucosa que no ha podido atravesar la membrana celular se acumula en la sangre ocasionando hiperglucemia. Dicha hiperglucemia puede cursar de forma asintomática, o bien, cuando es franca (con cifras mayores de 200 mg/dl), ser la responsable de los síntomas y signos clínicos clásicos de la DM. Entre ellos, destaca la *poliuria*, por la diuresis osmótica consecuente a unos niveles altos de glucosa en sangre, que lleva a un aumento de la pérdida de líquidos, ocasionando una deshidratación que clínicamente se refleja en una mayor sensación de sed o polidipsia(21,32).

También el aumento del apetito, hambre o *polifagia* es debido a la incapacidad de la glucosa para atravesar la membrana celular. A pesar de ello, el paciente puede experimentar una pérdida de peso debida al no aprovechamiento de estas moléculas de glucosa por los tejidos(21,32).

Además, el mantenimiento a largo plazo de glucosa en sangre circulante tiene unos efectos tóxicos por el alto poder oxidante de la glucosa, como son:

1- Alteraciones tisulares que son responsables de las principales complicaciones de la DM.

Los altos niveles de glucosa circulante facilitan que la glucosa se una a proteínas circulantes mediante un proceso conocido como glicosilación no enzimática,

consecuencia de la reacción entre los grupos amino de los aminoácidos que componen las proteínas, con los grupos carbonilo de la glucosa. Esta unión añade radicales de oxígeno y los altera estructuralmente, afectando tanto a proteínas de los tejidos (predominantemente al colágeno, con especial severidad en las membranas basales) como a proteínas circulantes (hemoglobina glicosilada o HbA1c). El resultado final de esta modificación proteica son una serie de productos denominados en inglés de forma genérica *Advanced Glycation End Products* (AGEs), término traducido como *productos avanzados de la glicosilación*(33).

Como consecuencia de esta alteración estructural de las proteínas y del aumento de la cantidad de radicales de oxígeno que contienen los tejidos (estrés oxidativo), aparece la microangiopatía o daño de pequeño vaso con engrosamiento de las paredes vasculares y de la membrana basal. La microangiopatía es responsable de la mayoría de complicaciones asociadas a la hiperglucemia (retinopatía, nefropatía y neuropatía diabética). Las complicaciones macrovasculares de los pacientes con diabetes tienen un componente multifactorial y en ellas suele participar no sólo la hiperglucemia, sino también la dislipemia y la hipertensión arterial. La hiperglucemia también es responsable de aumentar la susceptibilidad del paciente a sufrir infecciones, por la dificultad del paso de granulocitos a través de la membrana basal(34).

2- Alteraciones inmunitarias.

La formación de los productos de glicosilación o AGEs produce alteración funcional del sistema de defensa del hospedador, especialmente de los leucocitos polimorfonucleares (PMNs). Estos PMNs son activados al fijarse los radicales de oxígeno de los AGEs a sus moléculas receptoras específicas de superficie (RAGEs).

Además, la activación de los PMNs produce la liberación de mediadores de la inflamación, concretamente de Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α) e Interleuquina 1 β (IL-1 β)(33,34).

Diagnóstico

Las pruebas más importantes para establecer el diagnóstico de la DM se establecen a partir de la anamnesis, los datos clínicos y las pruebas de laboratorio.

Los signos y síntomas descritos se acompañan en algunas ocasiones de fatiga, cambios en la visión, debilidad muscular e irritabilidad. Como pruebas más significativas para el diagnóstico se emplean la glucemia basal plasmática y la sobrecarga oral de glucosa o prueba de tolerancia oral. En la primera se evalúa el nivel de glucosa en sangre tras realizar un periodo de ayuno nocturno de 8-12 horas. La segunda se realiza administrando una dosis oral de glucosa y practicando extracciones secuenciales de sangre para determinar la glucemia(33-35).

El comité experto de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en 1997 aprobó una serie de criterios diagnósticos de diabetes que fueron corroborados posteriormente por la OMS(13):

1. Síntomas típicos de la diabetes (poliuria, polidipsia y pérdida de peso no atribuible a otra situación) y una glucemia igual o superior a 200 mg/dl (11.1 mmol/L) en cualquier momento del día.
2. Glucemia basal igual o superior a 126 mg/dl (7 mmol/L) (realizando un ayuno de 8 horas).
3. Glucemia igual o superior a 200 mg/dl (11.1 mmol/L) a las 2 horas de la sobrecarga con 75 g de glucosa disueltos en agua.

En 2010, la American Diabetes Association (ADA) y la European Association for the Study of Diabetes (EASD) incluyeron la determinación de la hemoglobina glicosilada o $HbA1c \geq 6,5\%$ como criterio diagnóstico de diabetes(36). También estipulan que es necesario repetir las pruebas para confirmar el diagnóstico, excepto en sujetos sintomáticos con glucemia mayor de 200mg/dl(37).

Antes de esta clasificación el nivel crítico de glucemia basal establecido por la OMS era de 140 mg/dl pero, al reducir la cifra de glucemia basal a partir de la cual se considera a un paciente diabético (126 mg/dl), ha aumentado significativamente la prevalencia de diabetes en los estudios de rastreo poblacional.

En ayunas, la cifra en plasma de glucosa que se considera normal es inferior a 100 mg/dl, y el límite normal de glucemia a las 2 horas tras el test de sobrecarga oral de glucosa es de 140 mg/dl.

Además, en la actualidad, existen dos categorías que han sido definidas como prediabetes o riesgo alto de presentar diabetes. Incluyen *la intolerancia a la glucosa* y *la glucosa basal alterada*. La *intolerancia a la glucosa* se diagnostica en aquellos pacientes con glucemia, a las 2 horas tras sobrecarga oral de glucosa (75 g), mayor o igual de 140 mg/dl y menor de 200 mg/dl. La *glucosa alterada en ayunas* se define por una glucemia basal (tras 12 horas de ayuno) entre 100 mg/ml y 125 mg/dl(20). Una $HbA1c > 5,7$ y% < de 6,5% también indica una situación de riesgo alto de presentar diabetes.

Existen otras determinaciones bioquímicas que pueden tener cierto interés fuera de aspectos diagnósticos como la glucosuria, cetonuria, fructosamina, insulina inmuno reactiva, el péptido C y, recientemente, estudios para el diagnóstico rápido de individuos de alto riesgo mediante el test de aliento, que valora la resistencia a la

insulina(38). De todos ellos, para el seguimiento y control del paciente diabético, el método más importante es la medición de HbA1c que va a reflejar la cifra media de la glucemia en un período aproximado de unas 8-12 semanas previas a su determinación. Sus resultados se expresan como el porcentaje del total de la hemoglobina. Según las recomendaciones del Comité Internacional de Expertos, se considera que la determinación de fracción A1c de hemoglobina es un método adecuado de medida de la glucemia crónica, que se correlaciona bien con las complicaciones diabéticas y que ofrece ventajas en relación a otros métodos, siendo diagnósticas cifras del 6,5% o mayores. Según la Asociación Americana de Diabetes (ADA), se aconsejan cifras en el paciente diabético <7% para considerar que el control metabólico es adecuado, si bien, en los últimos años esta cifra ha dejado de ser absoluta y en el momento actual se recomienda individualizar los objetivos según las características del paciente.

Monitorización de la glucemia

Los dispositivos de autocontrol de la glucosa en sangre (glucómetros) que llevan algunos pacientes diabéticos, especialmente los tratados con insulina, van a ser muy útiles para conocer en cualquier momento su glucemia de forma rápida y sencilla, previniendo, en muchas ocasiones, la aparición de crisis hipoglucémicas y tratando adecuadamente dichas variaciones. Según los resultados obtenidos, el paciente realiza el control de su glucemia y puede variar o no las dosis de insulina para su tratamiento e incluso establecer cambios en el estilo de vida. Existen comparaciones entre distintos glucómetros sin que se hayan demostrado diferencias sustanciales(39). Entre los nuevos glucómetros destacar los calculadores de bolo, que son capaces de recomendar, previa programación por el profesional de la diabetes, la dosis de insulina prandial(40).

Tratamiento

El objetivo primordial en el tratamiento de la DM consiste en un correcto control metabólico, manteniendo los valores de glucosa en sangre cercanos a la normalidad o tan próximos como sea posible. De este modo, se retrasa la aparición de complicaciones crónicas y, si éstas ya han sido instauradas en el paciente, un buen control glucémico va a retrasar su progresión en el tiempo. El fin último será proporcionar al paciente una mejor calidad de vida. Un adecuado control metabólico reduce la aparición de complicaciones entre un 50% y un 75%(41).

El control de la enfermedad es multidisciplinar e incluye varios aspectos como: la práctica de ejercicio físico, control de la dieta, tratamiento farmacológico con antidiabéticos orales o inyectables y/o insulina. Entre las nuevas terapias para la DM tipo 1, ya vigentes o en fase experimental, están los trasplantes de páncreas, de islotes pancreáticos o de células madre(42,43).

La concienciación del paciente y su compromiso con su propia monitorización es esencial en el manejo de la patología(44,45).

Las guías sobre el manejo de estos pacientes aconsejan que las decisiones terapéuticas sean compartidas, lo que favorece, de algún modo, un clima de cooperación entre clínicos y pacientes que facilite un consenso en la toma de medidas terapéuticas(46).

En el manejo terapéutico de la DM, la ADA recomienda mantener a los pacientes con una HbA1c menor del 7,0% ya que existe evidencia científica suficiente que afirma que reduce la incidencia de enfermedad microvascular. Estos datos de HbA1c se traducen en una glucosa libre en plasma entre 150–160 mg/dl. Sin embargo,

en pacientes de corta evolución de la enfermedad, con una larga esperanza de vida y sin enfermedades cardiovasculares asociadas, se recomienda mantener los valores de HbA1c más cercanos a 6,0%. Mientras que en aquellos pacientes con una esperanza de vida corta, con comorbilidad asociada, antecedentes de hipoglucemias severas en los que no se consigue instaurar unos hábitos de vida suficientes y que se encuentran bajo tratamiento farmacológico, se recomiendan valores menos exigentes de HbA1c, hasta del 8,0% o incluso mayores(47).

Como se ha descrito anteriormente, para el manejo de la diabetes el especialista dispone de múltiples opciones terapéuticas que unidas conforman las diversas facetas de su tratamiento:

DIETA

La dieta continúa siendo la medida insustituible en el tratamiento de la DM, consolidándose como una efectiva prevención de la enfermedad. Sin embargo, aún no ha sido definida una dieta estándar aplicable en todos los pacientes con diabetes, ni en relación a su composición de nutrientes, ni en la frecuencia o distribución horaria de alimentos. Por lo que todos los expertos recomiendan una prescripción individualizada en función de las características clínico-metabólicas, objetivos y preferencias-hábitos del paciente. Se ha de tener en cuenta la necesidad del paciente de mantener la sensación placentera de la ingesta, adaptando la dieta a su gusto, sus preferencias culturales y sin olvidar sus posibilidades económicas(48).

La finalidad del control de la dieta no sólo va encaminado a la normalización del peso y el control metabólico, sino también a la prevención de factores de riesgo cardiovasculares(49). Además ha de cumplir otros objetivos, como son:

1. Garantizar equilibrio nutricional o necesidades nutricionales, que implica:
 - Aportar la energía suficiente para mantener el peso y la estructura corporal adecuada, disminuyendo el exceso de grasa, especialmente la visceral si coexiste sobrepeso u obesidad.
 - Contener los macro y micronutrientes necesarios para el funcionamiento celular.

2. Contribuir al buen control metabólico, que a su vez incluye:
 - Mantenimiento de una glucemia saludable en el transcurso del día.
 - Tensión arterial a lo largo del día dentro de niveles óptimos.
 - Perfil lipídico lo más cercano posible a las recomendaciones para la prevención de complicaciones.
 - Retrasar el desarrollo de complicaciones cardiovasculares u otras patologías como hepatopatía o pancreatitis.

En aquellos pacientes en los que se emplean tratamientos farmacológicos como antidiabéticos orales, insulina u otros inyectables, no ha de olvidarse que la dieta y su esquema de administración debe ser adaptada al tratamiento farmacológico del paciente(49,50).

EJERCICIO FÍSICO

Es otro de los pilares básicos junto a la dieta. La actividad y el ejercicio físico favorecen la reducción de la resistencia a la insulina permeabilizando las membranas celulares, por lo que un programa de ejercicio físico aeróbico moderado va a aumentar la sensibilidad a la insulina en los pacientes, modificando favorablemente el perfil lipídico con una reducción de los niveles de LDL y triglicéridos (TG) y un aumento de las HDL(51).

Además la actividad física ejerce un efecto beneficioso sobre factores de riesgo cardiovasculares como la presión arterial(51).

La pauta de ejercicio y actividad física preferiblemente ha de ser controlada por un profesional, por el riesgo en pacientes no experimentados de sufrir episodios de hipoglucemia. Para ello se realiza un ajuste del tratamiento farmacológico según el tipo de ejercicio físico, la duración del tratamiento, la intensidad y la frecuencia(52).

El panel de expertos de la ADA y la AESD, por consenso alcanzado en 2012, consideran recomendable 150 minutos de ejercicio semanales. Además, apuntan que en el momento del diagnóstico, en el caso de pacientes motivados y comprometidos con un cambio en su estilo de vida y que presenten valores de HbA1c < 7,5 %, se debe intentar disminuir y controlar su hiperglucemia con ejercicio en un periodo de 3-6 meses. Sin embargo, en aquellos pacientes que presenten una hiperglucemia moderada o en los que se pueda prever un fracaso en el intento de cambio de los hábitos de vida, se debe comenzar inmediatamente con la administración de antidiabéticos orales o no inyectables(47).

ANTIDIABÉTICOS ORALES O NO INYECTABLES

El catálogo farmacológico para el tratamiento de la DM ha aumentado de manera considerable en los últimos años. Los clínicos disponen de numerosos fármacos con distintos mecanismos de acción, por lo que en algunas pautas se combinan varios de ellos(18).

Entre los antidiabéticos orales comercializados encontramos biguanidas (como la metformina), sulfonilureas, glinidas , tiazolidinedionas. Las propiedades y características de los antidiabéticos van a condicionar el tratamiento individualizado del paciente(53).

La **metformina**, o clorhidrato de metformina, es un fármaco antidiabético de administración oral del tipo biguanida. Se utiliza comúnmente en el tratamiento y la prevención de la DM2, y parece más útil en pacientes con sobrepeso, ya que actúa mejorando la sensibilidad hepática de la insulina. Se indica por sí sola como adyuvante del ejercicio físico y la dieta en pacientes cuya hiperglucemia no puede ser controlada sólo con modificaciones en la dieta y actividad física(54,55).

La metformina es tan efectiva reduciendo los niveles elevados de glucosa en sangre como las sulfonilureas, las tiazolidinedionas y la insulina. A diferencia de muchos otros antidiabéticos, por sí sola, la metformina no produce hipoglucemia. La metformina también puede reducir los niveles de LDL y triglicéridos circulantes en la sangre, y puede ayudar a perder peso. En 2009, la metformina era uno de dos antiglucemiantes orales incluidos en la lista modelo de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud(54-56).

Las **sulfonilureas**, de primera y segunda generación, aumentan la secreción de insulina por las células β pancreáticas, pudiendo producir hipoglucemias(57). Estos

antidiabéticos orales son los más antiguos y, por ende, los mejores descritos de todos los que se emplean en la actualidad, basando parte de su mecanismo de acción en el bloqueo de canales de potasio de las células beta pancreáticas, provocando la liberación de insulina. Son efectivos en el control de los niveles de glucosa pero fracasan con relativa rapidez en el tiempo, y su uso está asociado a una ganancia moderada de peso(58).

Las **tiazolidinedionas** son activadores de los receptores, proliferadores del peroxisoma que mejoran la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético y reducen la producción de glucosa hepática. Su uso no incrementa el riesgo de hipoglucemia, y se cree que su efectividad es más duradera respecto a las sulfonilureas o la metformina. Entre las tiazolinadionas para el tratamiento de la DM está actualmente disponible la pioglitazona. La evidencia científica disponible hasta el momento actual deja claro que este fármaco presenta unos moderados beneficios cardiovasculares. La rosiglitazona, otro fármaco de la misma familia de uso frecuente hasta un periodo reciente, fue retirada debido a su asociación con un alto riesgo de infarto de miocardio(59).

Los efectos adversos de las tiazolidinedionas continúan siendo objeto de estudio, así mismo, la pioglitazona recientemente ha sido relacionada con un mayor riesgo de presentar cáncer de vejiga(60).

OTRAS TERAPIAS FARMACOLÓGICAS

En los últimos años el tratamiento de la DM ha incorporado a su catálogo de posibilidades terapéuticas medicamentos que presentan mecanismos de acción

novedosos. Las opciones farmacológicas se han ampliado a cuatro nuevas familias: los agonistas del péptido 1 similar al glucagón (sus siglas en inglés GLP-1), los inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (sus siglas en inglés DPP-IV), los agonistas de la amilina y los inhibidores del transportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2)(61).

Estas nuevas incorporaciones actúan sobre el sistema de las incretinas. El **GLP-1** es uno de los péptidos intestinales que potencian la secreción de insulina en respuesta a la ingesta de nutrientes. Esta propiedad se conoce con el nombre de «efecto incretina». Es liberado en las células «L» enteroendocrinas del intestino delgado distal y del colon específicamente cuando la glucemia está elevada, y su vida media es muy corta (< 2 min) debido a que es rápidamente inactivado por la enzima proteolítica DPP-IV³. Las múltiples acciones del GLP-1 se producen cuando se une a su receptor acoplado a proteína G que está localizado en páncreas, estómago y/o cerebro(62). El efecto del GLP-1 endógeno consiste en aumentar la secreción de insulina por parte del páncreas de manera dependiente de la glucosa, además va a suprimir la secreción de glucagón con un efecto potencial sobre la masa de las células beta y la expresión del gen de la insulina.

Los **análogos de GLP-1** son fármacos inyectables con una acción incretínica. Además de los efectos comentados, también ayudan en la dieta proporcionando una sensación de saciedad y evitando una desproporcionada ingesta de alimentos. Por tanto, su principal ventaja es favorecer una pérdida de peso significativa en la mayoría de pacientes. Como efecto secundario pueden presentarse náuseas y vómitos en etapas tempranas de su tratamiento. Se han descrito ciertos casos de pancreatitis que aún no han sido completamente clarificados(63).

Para aprovechar las propiedades antidiabéticas del GLP-1, y evitar que éstas sean inactivadas tan rápidamente por la DPP-IV, se han desarrollado fármacos que inhiben la actividad de esta enzima, entre los que encontramos: sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina. La terapia con **inhibidores DPP-IV** puede elevar los niveles plasmáticos de GLP-1, permitiendo que se acople a su receptor para producir todos los efectos descritos en el párrafo anterior. Estos inhibidores van a mejorar las concentraciones circulantes de GLP-1 activado, colaborando en el mantenimiento del peso sin causar hipoglucemia por sí mismos(63,64).

Otra terapia inyectable para la DM no insulínica es la amilina, también denominada polipéptido amiloide del islote. Es almacenada y secretada junto con la insulina en las células beta pancreáticas, y su receptor pertenece a la familia del receptor de calcitonina y adrenomodulina. Su liberación se ve estimulada por la ingesta de alimentos, glucagón, GLP-1 y agonistas colinérgicos, mientras que es inhibida por la somatostatina y la insulina. Sus acciones son similares a las del GLP-1, con la diferencia que no potencia la secreción de insulina(65). El pramlintide es el primer **análogo sintético de la amilina**, desarrollado para impedir la tendencia que tiene la amilina humana de agregarse, formar partículas insolubles y adherirse a las superficies(66). Los receptores de amilina y, por ende, de pramlintide, se encuentran especialmente en el sistema nervioso central, desde donde se regulan varios tejidos periféricos como el páncreas (inhibiendo la secreción de glucagón postprandial, y por tanto evitando la producción hepática de glucosa) y el tracto gastrointestinal (retardando el vaciamiento gástrico)(67). Adicionalmente, también tiene efectos centrales importantes como reducir la ingesta de alimentos produciendo sensación de saciedad. Estos efectos son de interés para tratar la diabetes, aunque se ha demostrado que los

niveles de amilina son deficientes en DM1 e insuficientes en estado postprandial en DM2(67).

Por último, la familia de los **inhibidores del transportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2)**. Aislada en 1835, la florizina no ha podido usarse para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 ya que presenta una absorción intestinal muy pobre, y no es un inhibidor selectivo de SGLT2, ya que también es capaz de inhibir SGLT1. La inhibición de SGLT2 puede reducir los niveles de glucosa plasmática al disminuir la reabsorción de la glucosa, y aumentar por tanto su excreción urinaria. En estos momentos existen 3 fármacos de esta familia: dapagliflozina, empagliflozina y canagliflozina. No producen hipoglucemias y ayudan a reducir el peso al eliminar glucosa, y por tanto calorías, por la orina. Empagliflozina es el primer fármaco en diabetes que ha demostrado una reducción de la mortalidad cardiovascular (68).

INSULINAS

La disfunción progresiva de las células β del páncreas característica de la DM tipo 2 va a hacer necesario el empleo de una terapia de sustitución con insulina, aunque no hay que olvidar que la mayoría de pacientes aún en estadios avanzados de la enfermedad producen algo de insulina endógena. Sin embargo, los DM1 van a requerir múltiples aplicaciones diarias.

Las insulinas se encuentran comercializadas en España en concentraciones de 40, 100 y 200 U/ml. Su uso más común es la vía parenteral subcutánea y su farmacocinética es muy variada(69).

El objetivo principal de la terapia con insulina es favorecer unos niveles de glucemia aceptables entre comidas o durante el sueño, sin ganancia de peso ni hipoglucemias(69).

Las insulinas comúnmente se clasifican en basales o prandiales. Entre las basales se encuentran disponibles varios tipos, como la insulina glargina: una de sus principales ventajas es que no produce picos de concentración en sangre, manteniéndose estable o plana durante su tiempo de acción, lo que va a favorecer un menor número de hipoglucemias, especialmente nocturnas. La mayor parte de los pacientes sólo necesitan una dosis diaria de glargina, pero en un 20% de los casos se requieren dos dosis por tener un efecto algo inferior a las 24 horas. La insulina glargina no se puede combinar con las actuales insulinas prandiales en la misma jeringa y lugar de inyección(70).

La insulina detemir se emplea también como basal en una o dos inyecciones diarias, teniendo una duración mayor respecto a las tradicionales, sin presentar picos en sangre y con la ventaja de que, ante la variabilidad de los niveles de glucemia, detemir produce un menor número de hipoglucemias nocturnas y una menor ganancia de peso(71).

La insulina humana intermedia, o NPH, se administra normalmente de dos a tres veces al día. Suele presentar un pequeño pico en sangre a las 3-4 horas tras su inyección, por lo que el paciente va a necesitar ingestas intermedias (como a mitad de la mañana) sin tener que utilizar en esos momentos insulina prandial, como ocurre con las insulinas prolongadas. Se puede mezclar en jeringa con las prandiales para disminuir de este modo el número de inyecciones(72).

Las insulinas prandiales como aspart, glulisina y lispro presentan una farmacocinética muy similar a la acción fisiológica de la insulina pancreática. Tienen la ventaja de ser muy rápidas en la regulación de la glucemia postprandial y de este modo

disminuye la tasa de hipoglucemias, permitiendo una mayor flexibilidad en el horario entre las comidas(71,72).

Además de las anteriores existen otras terapias insulínicas no inyectadas que se encuentran disponibles en el tratamiento de la DM, como las inhaladas, donde se aprovechan las características del epitelio alveolar que expone una superficie permeable de más de 100 metros cuadrados, lo que le proporciona un área amplia para la absorción de medicamentos. La insulina alcanza el espacio alveolar y atraviesa los neumocitos por transcitosis, accediendo de esta forma a la circulación. En la actualidad, no están comercializadas en España probablemente por existir dudas tanto sobre su producción como su seguridad(73).

OTRAS TERAPIAS

A pesar de todas las posibilidades terapéuticas descritas en los párrafos anteriores existen otras opciones para la búsqueda de curación de la diabetes y sus repercusiones parenquimatosas. Entre ellas: el trasplante de páncreas, de islotes o de células madre.

El trasplante de páncreas es más frecuente en DM1 que en la tipo 2, y la ADA lo confina a tres situaciones clínicas como: antecedentes de complicaciones agudas frecuentes o severas como hipo o hiperglucemias o cetoacidosis, a pacientes con problemas clínicos y emocionales que padecen una administración exógena de insulina tan importante que llega a ser incapacitante, o al fracaso de las pautas basadas en la administración para prevenir complicaciones agudas(74).

El trasplante de islotes pancreáticos es una terapia muy prometedora para la DM1. Respecto a la anterior parece mostrarse más segura y menos invasiva, al tratarse

de una terapia más conservadora. Ayuda a reducir tiempos de estancia hospitalarios al favorecer el postoperatorio de estos pacientes tan sensibles. El mayor problema viene representado por la obtención de un número adecuado de islotes a partir del donante y la pérdida progresiva de los mismos que tiene lugar en el sujeto trasplantado(74).

Otra posibilidad, en fase muy experimental, para el tratamiento de la DM es el trasplante de células madre. Ensayado sobre todo en DM1, evita algunos inconvenientes ligados a la inmunosupresión de los trasplantes descritos anteriormente, lo que abre nuevos horizontes terapéuticos(75).

A modo de resumen, la ADA y AESD(53) aúnan los objetivos del tratamiento de la DM en 7 aspectos, como son:

- o Individualizar los objetivos terapéuticos o de las terapias para la disminución de la glucemia.
- o La base fundamental del tratamiento de la DM es la dieta, el ejercicio y la educación del paciente.
- o A no ser que haya contraindicaciones latentes, la metformina es el fármaco de primera línea de tratamiento.
- o Aparte de la metformina, la evidencia científica es limitada para establecer unas pautas de tratamiento, siendo una práctica habitual terapéutica (con el fin de minimizar los efectos secundarios) la combinación de uno o dos agentes inyectables u orales.
- o En la actualidad, muchos pacientes requieren un tratamiento con insulina aislado o en combinación con otros agentes para mantener el control de la glucosa.

o Siempre que sea posible las decisiones en el tratamiento han de ser realizadas en consenso con el paciente, teniendo en cuenta sus preferencias y necesidades.

o La reducción del riesgo cardiovascular es el objetivo fundamental en el tratamiento de la DM.

Complicaciones

La hiperglucemia crónica va a favorecer la aparición de complicaciones de tipo vascular, lo que supone una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en estos pacientes. Un óptimo control metabólico evitará o retrasará estas complicaciones(76,77).

Al margen de las complicaciones que ya se comentaron en apartados anteriores, en los últimos años se está dando una especial importancia a la relación entre diabetes y patología bucal. La enfermedad periodontal, que frecuentemente coexiste con la diabetes, es considerada actualmente por algunos investigadores una complicación más de la enfermedad, afectando tanto a pacientes con diabetes mellitus tipo 1 como tipo 2, e incrementando de 3 a 4 veces el riesgo de periodontitis severa(78,79).

Cabe destacar alguna peculiaridad en relación con las complicaciones de la diabetes. La DM tipo 2 se caracteriza porque puede generar daño circulatorio sistémico desde estadios muy precoces, incluso previos al diagnóstico de diabetes. Por ello, desde el momento del diagnóstico, debe realizarse un cribado de complicaciones crónicas que

pueden estar ya presentes. En la DM tipo 1 se han constatado lesiones histológicas con destrucción de tejidos sólo a los 5 años de evolución de la enfermedad, con manifestaciones clínicas alrededor de los diez años, particularmente en el caso de los diabéticos mal controlados de manera crónica(80).

A. Complicaciones microvasculares

Las complicaciones microvasculares de la diabetes son: retinopatía, nefropatía, y la neuropatía diabética cuya expresión más frecuente es la polineuropatía diabética sensitivo-motora periférica(80).

La glucemia elevada en niveles plasmáticos durante periodos de tiempo prolongados puede coexistir con otros factores como hipertensión arterial, dislipemia, factores neurovasculares, tabaquismo y alcoholismo. Como ya se ha descrito previamente, las complicaciones microvasculares conllevan un grave deterioro con gran repercusión en la calidad de vida del paciente diabético. La retinopatía diabética es la causa más frecuente de ceguera en los países desarrollados, la nefropatía diabética es la causa más frecuente de hemodiálisis y la polineuropatía periférica contribuye a la aparición del pie diabético, siendo ésta la primera causa de amputación no traumática de miembros inferiores (81,82).

Las complicaciones microvasculares son inducidas por diferentes mecanismos fisiopatológicos. En el comienzo de la enfermedad, la hiperglucemia intracelular produce en el ser humano anormalidades en el flujo sanguíneo. Estas alteraciones conllevan una disminución en la actividad de los factores vasodilatadores

intracelulares, como el óxido nítrico (NO) y un aumento en la vasoconstricción por incremento de la angiotensina II y la endotelina-1. Todo esto se acompaña de un incremento en la elaboración de los factores de permeabilidad, como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Aparecen modificaciones cuantitativas y cualitativas de la matriz extracelular que aumentan la permeabilidad vascular de modo irreversible. Este proceso va acompañado de una pérdida de células de la estructura microvascular, dentro del programa de apoptosis, que conduce a la oclusión capilar y a la sobreproducción de la matriz extracelular(1).

En este punto del proceso fisiopatológico, es cuando los factores transformadores de crecimiento (TGF- β) participan en el depósito de proteínas plasmáticas PAS +. Además, la hiperglucemia puede conducir a una disminución de los factores tróficos endoteliales y de la neurona. Esta precipitación de procesos patológicos conlleva edema e isquemia en los diversos órganos diana. En la retina estas microangiopatías afectan a arteriolas precapilares, capilares y vénulas, lo que va a provocar oclusiones microvasculares, hemorragias consecuentes a engrosamiento de la membrana basal, proliferación de células endoteliales, aumento de la adhesividad y agregación plaquetaria, y alteraciones en los hematíes que ocasionan un transporte anómalo de oxígeno produciendo lesiones(83,84). Entre las complicaciones microvasculares también queremos destacar la expansión de la matriz mesangial, la gloméruloesclerosis y la degeneración axonal de nervios periféricos(8,11,21,83,84).

La detección de microalbuminuria (excreción urinaria de albúmina elevada) tiene trascendental importancia en enfermedades como la diabetes ya que constituye un indicador de progresión de la enfermedad renal, y un marcador de riesgo de la enfermedad isquémica coronaria y de la enfermedad cerebrovascular isquémica(36). En los últimos años, la microalbuminuria se viene considerando un factor de riesgo

cardiovascular global, y los pacientes con microalbuminuria presentan una supervivencia inferior que los que no la padecen(85,86).

La presencia de polineuropatía se ha asociado a alteración del flujo sanguíneo normal de la zona afectada, que se manifiesta comúnmente con cambios en la microvascularización, reducción del flujo y disminución de perfusión con isquemia tisular(87-89).

B. Complicaciones macrovasculares

Entre las complicaciones macrovasculares encontramos: la enfermedad arterial coronaria, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial obstructiva periférica(90).

Estas complicaciones macrovasculares constituyen la causa principal de morbilidad y mortalidad en los pacientes con DM en todo el mundo. Al menos un 65% de los diabéticos fallece a causa de enfermedades cardíacas o cerebrovasculares, incrementando la mortalidad entre 2 o 4 veces más que en población sana(91).

Algunos estudios demuestran que los pacientes diabéticos experimentan una reducción en la expectativa de vida y en el número de años vividos sin enfermedad cardiovascular(92).

Otros factores que influyen en el riesgo de enfermedad cardiovascular son la evolución y duración de la DM. Estudios longitudinales concluyen que por cada 10 años de duración de la DM, el riesgo relativo de enfermedad coronaria es 1,38 veces mayor (IC 95% 0,99-1,92) y el riesgo de mortalidad por esta misma causa es 1,86 veces más alto (IC 95% 1,17-2,93)(93).

Respecto a la enfermedad cerebrovascular, el riesgo de ictus e isquemia transitoria es significativamente mayor en DM. La diabetes asociada a hipertensión y dislipidemia configura un factor de riesgo para ictus duplicando el riesgo de presentarlo en comparación con no diabéticos. La combinación de diabetes e hipertensión arterial aumenta el riesgo de ictus seis veces frente a pacientes sin DM, y se incrementa dos veces más el riesgo de padecer un infarto cerebral(91).

Otras complicaciones son englobadas dentro de las enfermedades arteriales periféricas: la estenosis carotídea, enfermedad aneurismática de la aorta y/o de las arterias periféricas, y la enfermedad arterial obstructiva periférica (EAOP) en miembros superiores e inferiores. La EAOP es una de las manifestaciones de la aterosclerosis que puede aparecer en diferentes lechos vasculares. Es un marcador de riesgo aterotrombótico en otros territorios, especialmente el coronario y el cerebral. La prevalencia de la EAOP aumenta con la edad, llegando al 20% en mayores de 65 años(94).

Se cree que las estimaciones de portadores de EAOP en Europa y en América del Norte no reflejan la realidad, ya que la mayoría de estos pacientes no presentan síntomas. El síntoma clásico de esta enfermedad es la claudicación intermitente que consiste en sensación de peso, debilidad, ardor, dolor o calambre en un músculo o grupo de músculos de las extremidades inferiores asociado a una carga de trabajo(95).

La EAOP comparte factores de riesgo similares a los de la enfermedad aterosclerótica, sin embargo el tabaquismo y la DM son los de mayor importancia. La DM incrementa el riesgo de EAOP entre 2 y 4 veces(96).

La realidad es que el diagnóstico de enfermedad vascular en el paciente diabético suele realizarse tarde. En la actualidad, numerosas publicaciones sobre esta enfermedad intentan establecer criterios diagnósticos unificados, debido a la gran

cantidad de avances en metodología diagnóstica desarrollados en los últimos años o al reconocimiento de la heterogeneidad de sus formas de clínicas. En 2010, el grupo de trabajo de la Sociedad Española de la Diabetes (SED)(22) establece unos objetivos primarios en la prevención cardiovascular tanto en la DM como en el síndrome metabólico (Tabla 2). Además, el documento de consenso concluye remarcando que los pacientes diabéticos deben ser considerados como sujetos de alto riesgo cardiovascular y, por tanto, tributarios de una intervención energética para la prevención de complicaciones. Existen claras evidencias de que la corrección de todos los factores de riesgo cardiovascular reduce en gran medida la morbimortalidad.

OBJETIVOS

	SÍNDROME METABÓLICO	DIABETES MELLITUS	DIABETES CON ALTO RIESGO CARDIOVASCULAR
Dislipemia	cLDL	< 100 mg / dl	< 70 mg / dl
	e-NO-HDL	< 160 mg / dl	< 100 mg / dl
	Apo B	< 100 mg / dl	< 130 mg / dl
	TG	< 100 mg / dl	< 150 mg / dl
	eHDL	> 40 mg / dl	> 40 mg / dl
		> 50 mg / dl	> 50 mg / dl
	CT/eHDL	< 5	< 4
Apo B / Apo A1	< 0,9	< 0,7	< 0,6
Presión arterial	< 140 / 90 mmHg	< 130 / 80 mmHg	< 125 / 75 mmHg con macroalbumina o insuficiencia renal
HbA1c	DM 1 DM 2	7% 6,5%	
AAS	Valorar según riesgo o edad	Valorar en < de 40 años con uno o más factores de riesgo	SI

Tabla 2. AAS: ácido acetilsalicílico; ApoB: apolipoproteínaB; ApoA1: índice apolipoproteínaA1; cLDL: colesterol de las lipoproteínas de baja densidad; eHDL: colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; e-NO-HDL: colesterol no HDL; CT/eHDL: índice colesterol total-eHDL; DM1: diabetes mellitus tipo 1; DM2: diabetes mellitus tipo 2; HbA1c: hemoglobina glicosilada; TG: triglicéridos plasmáticos. Enfermedad cardiovascular clínica o subclínica, presencia de microalbuminuria, síndrome metabólico caracterizado por la presencia de 4 o 5 de los componentes clásicos o asociación con múltiples factores de riesgo (hipercolesterolemia, hipertensión, tabaco, etc). HDL cuanto más alto mejor. Ideal 460 mg/dl. En la diabetes debe ser calculado y utilizado, sustituyendo al cLDL, siempre que los TG sean 4200 mg/dl y opativamente cuando los TG 4150 mg/dl. Lograr los objetivos de HbA1c debe conseguirse sin hipoglucemias clínicas ni subclínicas, por el riesgo que tienen de aumentar la morbimortalidad cardiovascular.

RELACIÓN ENTRE DIABETES MELLITUS Y LA ENFERMEDAD PERIODONTAL

En las últimas décadas se han publicado muchos trabajos sobre la relación entre la diabetes y la enfermedad periodontal. En ellos, la mayoría de sus hipótesis de trabajo intentan estudiar la diabetes tipo 1 y 2 como factor etiológico de la enfermedad periodontal, o como una patología sistémica de base condicionante para esta patología oral.

En cuanto a la enfermedad periodontal, en la literatura científica, entre una gran de diversidad estudios de aspectos clínicos y terapéuticos de la periodontitis, podemos encontrar algunas líneas de investigación dedicadas al análisis de la concomitancia de la enfermedad periodontal con otras patologías sistémicas frecuentes. Esto se refleja en un estudio de Lagervall y cols.(97) en el que, tras analizar una muestra aleatoria de 1006 pacientes referidos a su consulta para tratamiento periodontal, encuentran una relación directa significativa con patología cardiovascular, reumatoide y con la DM.

Al realizar una búsqueda bibliográfica, es interesante observar cómo hace ya más de dos décadas, en el año 1993, Løe(98) calificó a la enfermedad periodontal como “la sexta complicación” de la diabetes; y cómo, en esa misma década, otros autores como Oliver y Tervonen(14) o Ainamo y Ainamo(99) hicieron públicas sus consideraciones de la diabetes como un factor de riesgo de la enfermedad periodontal.

De hecho, en 2001, Kornman en su trabajo afirma que la DM favorece la aparición de una enfermedad periodontal generalizada severa(100).

Aunque por otro lado, otros autores como Khader y cols. resaltan que en la clínica de la enfermedad periodontal, además de patologías sistémicas, se reflejan factores locales como la placa y el consumo de tabaco(101).

Los principales hallazgos en relación a parámetros periodontales que encontramos en DM, son:

Valores mayores en el sondaje periodontal en población diabética

En los últimos treinta años, en numerosas investigaciones y por muy diversos autores, ha sido documentada una mayor prevalencia de bolsas periodontales profundas en pacientes diabéticos(100,102,103).

Una muestra de ello es el trabajo de Emrich y cols., que al estudiar las condiciones periodontales de pacientes catalogados como insulino dependientes, concluye que la diabetes incrementa el riesgo de desarrollar una enfermedad periodontal destructiva que no puede ser explicada en base a edad, sexo, higiene y otras medidas locales(104).

Algunos trabajos realizados en diabéticos en edad pediátrica, también muestran un peor estatus periodontal al ser comparado con población adulta no diabética(105-112).

En un estudio realizado en 2009 por el Prof. Silvestre y cols.(113) con un diseño de casos y controles, observaron cómo pacientes diabéticos tipo 1 mostraron peor inserción que los controles sanos en similares condiciones de higiene oral. En

otro trabajo sobre hábitos de higiene, se somete a estudio una muestra de pacientes con DM2 que presentaron mayor profundidad de bolsa al sondaje(114).

Otros trabajos de diseño parecido, al comparar dos grupos en igualdad de frecuencia del cepillado, los pacientes DM2 presentan mayores índices de placa, sangrado gingival y de pérdida de inserción(115).

Mayor pérdida ósea en la población diabética

Marugame y cols.(116) en 2003 también relacionan la DM con incrementos de pérdida ósea. Estos resultados coinciden con los de Kawamura y cols.(109) publicados en 1998, en los que, a igualdad de condiciones de higiene obtienen una mayor gingivitis y pérdida de dientes en pacientes con DM.

En el 2000, Collin y cols.(117), al realizar un estudio de 45 pacientes DM2 y 77 controles hallan un mayor índice gingival y bolsas periodontales en DM.

Katz en el 2001(118) relacionó los niveles de glucosa en suero (mayor de 120 mg/dl) y la enfermedad periodontal, valorada por el CPITN, concluyendo que existe una asociación con niveles elevados de glucosa.

En otro estudio(119) en el 2003, se puso de manifiesto que el índice gingival, y la pérdida de inserción y recesión, estaban significativamente más afectados en pacientes diabéticos. Sin embargo, este mismo estudio no evidenció alteraciones morfológicas significativas a nivel tisular entre controles y diabéticos sometidos a una biopsia de encía.

Discrepancia sobre parámetros periodontales en población diabética y sana.

Existen también estudios que no encuentran diferencias entre el estado periodontal de los pacientes diabéticos y sanos(120-124).

Queremos resaltar entre ellos, el trabajo de Yuan y cols.(125) que en el 2001 comparan 105 pacientes DM1 y 141 controles. El estudio de diferentes parámetros como el índice de sangrado, el sondaje de bolsa, el índice de placa, la presencia de bolsas periodontales y la pérdida de inserción, no guarda una relación directa con la cuantificación de microorganismos y anticuerpos, concluyendo que no existen diferencias sustanciales entre grupos.

En la misma línea concluye el grupo de Persson y cols.(126) en el 2003, quienes afirman que la periodontitis no es una enfermedad que predomine en los pacientes con diabetes mellitus.

¿Cómo influye el control metabólico en la enfermedad periodontal?

La disparidad de resultados evidencia que las comparaciones entre el estado periodontal de los diabéticos y los no diabéticos son difíciles de realizar por la cantidad de variables que se dan en su estudio, su etiopatogenia y los múltiples cambios que conlleva la DM.

Una minoría de autores han resaltado a lo largo de estas décadas la importancia del control metabólico y tiempo de evolución de la enfermedad, como demuestran múltiples estudios centrados en la valoración de la evolución de la DM(127-133).

Así, Tsai y cols.(134) hallaron diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de periodontitis en pacientes con DM tipo 2 y un control metabólico

inadecuado. Conclusiones similares fueron publicadas por Collin y cols.(108) y Santana y cols.(135).

Guzman y cols.(136) estudiaron distintos parámetros periodontales en 100 pacientes diabéticos y pudieron constatar severas pérdidas de inserción en diabéticos, que se agravaban a medida que empeoraba el control metabólico de la DM. Ese mismo año en Finlandia, Syrjala y cols.(137) publican un estudio de 64 pacientes diabéticos tipo 1. Tras la lectura de los resultados, los autores afirman que un mal control de la glucemia, unido al uso de tabaco, tiene una influencia muy negativa en la pérdida de inserción.

Negishi y cols.(138) también relacionan valores altos de HbA1c con bolsas periodontales profundas y gran pérdida ósea. Lu y Yang(115) observan en pacientes con DM con HbA1c mayor o igual a 10% un peor índice gingival que los diabéticos con una HbA1c menor de 10%(115).

Engbretson y cols.(139) en el 2004, correlacionaron un pobre control metabólico con niveles elevados de Interleuquina-1 β en el fluido crevicular, lo que les condujo a plantear la hipótesis de que una hiperglucemia mantenida contribuye a una respuesta inflamatoria elevada que favorece secundariamente una mayor destrucción periodontal.

Oliver y cols.(140) en 1993 encontraron incremento de la β -glucuronidasa en pacientes con mal control metabólico de su patología y la relacionaron con enfermedad periodontal avanzada.

A pesar de estos estudios, una revisión bibliográfica exhaustiva muestra la existencia de trabajos cuyos autores no aprecian asociación alguna entre el control metabólico en el paciente con DM y la enfermedad periodontal(141-143).

¿Es la enfermedad periodontal una complicación más de la DM?

Algunos estudios asocian la periodontitis crónica con la evolución de la enfermedad metabólica(142,144). Entre ellos, Aren y cols.(145) en el 2003, y Lu y Yang(115) en el 2004, aprecian que la larga evolución de la diabetes tiene relación con el aumento de parámetros periodontales como el índice gingival, sondaje de bolsas e índice de sangrado.

También, hay autores que no encuentran relación alguna entre las variables periodontales de los pacientes con DM y su evolución(128,136,141,143).

No obstante, Alpagot y cols.(146), al analizar los niveles de la elastasa contenida en el fluido crevicular gingival, no establecen relación alguna entre ese dato y el estado periodontal, la duración y control metabólico de la enfermedad; pero sí con el tabaco y con la edad.

Negishi y cols.(138) encuentran una asociación entre los pacientes con retinopatía y enfermedad periodontal avanzada. Otros autores han relacionado la presencia de retinopatías con enfermedad periodontal, estableciendo una relación directa de severidad entre ambas afecciones(143). La presencia de un mayor número de complicaciones en pacientes diabéticos con periodontitis ha sido descrita(141).

Para terminar este apartado, queremos concluir afirmando que los criterios diagnósticos de la DM han evolucionado mucho en los últimos años. Así, algunos pacientes considerados diabéticos hace décadas, son considerados hoy afectados por un síndrome metabólico, mientras que pacientes con una hiperglucemia alarmante en nuestro entorno son etiquetados de hiperglucemia discreta en algunos países

asiáticos. Esto favorece una gran subjetividad y variabilidad en la interpretación de resultados y conclusiones defendidos en los diferentes estudios.

LA SALIVA COMO FLUIDO DIAGNÓSTICO Y SU APLICACIÓN EN EL PACIENTE DIABÉTICO

La saliva es el fluido orgánico producido en la cavidad oral por las glándulas salivales. Las glándulas salivales humanas producen al día entre 1000 y 1500 ml de saliva. Entre sus funciones destaca el mantenimiento de la salud oral. La tasa de flujo salival experimenta variaciones interindividuales, sin diferencias significativas en relación con la edad o el sexo, que cambian a lo largo de la vida(147,148).

La saliva es esencial en la alimentación, mantenimiento la remineralización dental y la protección de los tejidos blandos orales. Entre sus funciones se encuentra la protección frente a microorganismos y la lubricación para facilitar la deglución, la masticación y el habla. También, presenta una función digestiva en virtud de las enzimas que contiene(148).

Además, colabora en la protección frente a la caries dental por medio de la disolución y tamponamiento de los ácidos del metabolismo bacteriano, además de la capacidad de limpieza y arrastre de las bacterias y detritus. Otros de sus componentes sirven para neutralizar, eliminar, precipitar o inactivar microorganismos orales, teniendo un papel de protección frente a infecciones. Entre los elementos antibacterianos que la componen se encuentran las lisozimas, mientras que las proteínas ricas en histidina tienen efecto antifúngico(147).

En el medio oral, la saliva es una mezcla heterogénea de la secreción de las tres glándulas salivales mayores (bilaterales a ambos lados de la línea media), que son la glándula parótida, la submaxilar y la sublingual. A ello se suma la secreción de

las glándulas salivales menores que se encuentran repartidas por toda la mucosa oral, excepto en el área que cubre el dorso de la lengua, parte anterior del paladar duro y encía(149,150).

En una situación sin estimulación externa, nerviosa o mecánica, denominada saliva total en reposo (STR), la parótida contribuye aproximadamente en un 25% de la secreción, la submaxilar en un 60%, la sublingual de un 7 a un 8%, y las glándulas salivales menores en un 7 u 8%. No obstante, en una situación en la que el flujo salival está influido por un estímulo (saliva total estimulada o STE), la contribución de la parótida se incrementa en al menos un 10%. Es interesante destacar que la secreción de las glándulas entre sí no es idéntica, ni en su composición ni en sus proporciones(147,151).

Se han descrito tres modelos de transmisión de iones al lumen glandular. Su fluido primario o inicial es isotónico, pero a medida que se aproxima al punto de excreción al medio, la adición de iones y algunas proteínas, lo hacen hipotónico. La secreción salival se encuentra controlada por el sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático), principalmente por la acción que ejercen la acetilcolina y norepinefrina sobre los receptores membrana celulares(151-153).

En la composición de nuestra saliva encontramos numerosos elementos y de muy diferente índole y procedencia, entre ellos: sangre y derivados sanguíneos, elementos procedentes de las glándulas salivales (agua, proteínas, electrolitos o pequeñas moléculas orgánicas), microbiota presente en la cavidad oral, células descamadas epiteliales, sustancias extrínsecas como detritus, en ocasiones pasta de dientes o restos de enjuagues orales, además de restos de otras secreciones como las nasales o bronquiales(151).

La saliva de un individuo sano posee múltiples constituyentes que le confieren distintas funciones(151):

- Lubrificación: proteínas ricas en prolinas, mucinas y agua.
- Factores de crecimiento: factor de crecimiento epidérmico, factores de crecimiento alfa y beta, factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento nervioso y factor de crecimiento insulínico.
- Mantenimiento de la integridad de la mucosa: mucinas, electrolitos y agua.
- Limpieza: agua.
- Tampón: bicarbonato, iones fosfato y proteínas.
- Remineralización: fosfato, calcio, estaterinas, proteínas ricas en prolina aniónicas.

En las funciones de la deglución y del habla destaca el papel del agua y las mucinas en la preparación del bolo alimenticio, y junto a estas dos, la función digestiva que poseen las amilasas, lipasas, ribonucleasas y proteasas(150).

En cuanto a la composición de sus elementos constituyentes: un 99% están formados por agua, y un 1% por moléculas orgánicas e inorgánicas. Estas últimas se desglosan en electrolitos y proteínas, tales como enzimas, inmunoglobulinas, glucoproteínas, albúmina, polipéptidos, oligopéptidos y factores antimicrobianos, aparte de glucosa y otros compuestos nitrogenados como urea y amoníaco(150).

De forma resumida, podríamos decir que la saliva es un fluido acuoso, compuesto por una compleja mezcla de productos de la secreción, orgánicos e inorgánicos, de las glándulas salivales y de otras procedencias como la orofaringe,

vías aéreas superiores, de posibles reflujos gastrointestinales, del surco gingival, de restos alimenticios o compuestos sanguíneos derivados de sangrados en encías o las distintas mucosas(154,155).

En los últimos años, se han publicado numerosos trabajos en los que se analiza la saliva para para evaluar la fisiología de las glándulas salivales y así ser utilizada como herramienta de evaluación en distintas patologías glandulares. En algunos trabajos, también se estudia qué cambios experimenta la saliva en pacientes con patología sistémica(156).

En la actualidad, las líneas de investigación experimental en las que se está estudiando la saliva se pueden agrupar en estas categorías: diagnóstico de enfermedades infecciosas, neoplasias malignas, monitorización de fármacos o drogas ilegales, enfermedades autoinmunes, análisis hormonales o como herramienta en medicina forense(157).

Una de las características más positiva y destacada de la saliva, frente a otros fluidos diagnósticos del organismo, es que no requiere el uso de métodos invasivos para su obtención. Como herramienta clínica presenta ventajas frente al suero sanguíneo, dado que la facilidad de su obtención reduce el estrés y la ansiedad del paciente (sobre todo en pacientes pediátricos o geriátricos) sin requerir un entrenamiento específico por parte del operador(158).

Desde un punto de vista de seguridad laboral, es más seguro que una analítica sanguínea, ya que los profesionales no están expuestos a enfermedades infecciosas transmisibles durante su obtención y manipulación. Por lo tanto, algunos autores en sus trabajos afirman que, si tuviera valor diagnóstico fiable, su uso sería más sencillo, barato y presentaría menos riesgos que otras metodologías actuales(158).

Debido a la propia fisiología de las glándulas salivales, la saliva podría utilizarse para reflejar el estado de salud o enfermedad de ese organismo, y podría utilizarse en la monitorización de pacientes o utilizarse para screenings poblacionales, sirviendo en la promoción de la salud. Recientemente se han desarrollado técnicas de laboratorio que mejoran, sobre todo, la sensibilidad en la detección de sustancias, tratándose ésta de una de las limitaciones más importantes para su uso en diagnóstico, ya que algunas sustancias de su composición se hallan en cantidades muy inferiores a las que podemos encontrar en sangre(158,159).

En la actualidad, se afirma que prácticamente todo lo que se pueda medir en sangre podría ser medido en saliva. Siendo ejemplo de ello los avances publicados en los últimos años, en los que se emplea en la distinción de genotipos del virus de la inmunodeficiencia adquirida o de la hepatitis, y en la monitorización de drogas como la marihuana, cocaína o alcohol(158,159).

Entre sus inconvenientes podríamos decir que no son técnicas de uso generalizado y que carecen de fiabilidad diagnóstica porque aún queda mucho por estudiar en cuanto a los cambios que se producen de manera fisiológica o en pacientes con patologías sistémicas hasta llegar a establecer unos biomarcadores específicos. Además, existen algunas controversias entre investigadores e incógnitas por esclarecer en cuanto a su almacenaje, conservación y manipulación en laboratorio.

El primer trabajo indexado en MedLine en el que se estudia este fluido en pacientes diabéticos se remonta a 1958 donde se cultivaron hongos en saliva y orina(160). Más de 50 años después, las técnicas de laboratorio han mejorado, la accesibilidad tecnológica se ha universalizado en países desarrollados y en la literatura científica se pueden consultar una gran cantidad de artículos indexados

desde entonces. A pesar de estos avances, en la actualidad no disponemos de suficiente evidencia científica que permita la mejora de la atención del paciente diabético a través del uso de su saliva, ya sea en su monitorización o para la prevención de complicaciones asociadas a la enfermedad.

Al realizar una revisión bibliográfica acerca de la saliva del paciente diabético tipo 2 se pueden apreciar diferentes líneas de investigación, que mayoritariamente estudian diferencias en la cantidad y composición de la saliva de pacientes con DM2 comparándolos con población sana(161). Otra gran cantidad de trabajos versan sobre la monitorización de los niveles de cortisol(162) , hallazgos genéticos en el sustrato salival(163) o la determinación de especies bacterianas específicas en diabéticos(164).

En los últimos cinco años han aumentado considerablemente la cantidad de publicaciones sobre perfiles antioxidantes de algunos componentes de la saliva procedentes de las distintas glándulas salivales(165).

Los principales hallazgos descritos en la saliva de los pacientes con DM, son:

1. Diferencias en la composición salival de la población diabética

Su composición es uno de los temas más tratados en los primeros estudios publicados indexados en MedLine en la década de los sesenta. Además de la disparidad de resultados publicados hasta la fecha, no existe una metodología y técnica de laboratorio clara entre los trabajos realizados. A ello hay que añadir que no existen valores estándares en la literatura de electrolitos de la saliva en pacientes sanos.

En su composición un aspecto muy estudiado es la glucosa. Con los últimos kits de oxidación de glucosa se ha apreciado mayor presencia de glucosa en la saliva de diabéticos frente a sanos(166). El valor de este aspecto es controvertido puesto que la glucosa sirve de nutriente a la *Candida* presente en la flora oral habitual en el ser humano(167).

2. Diferencias en la cuantificación salival de la población diabética

Trabajos recientes afirman que la población diabética padece una alta prevalencia de xerostomía e hiposialia(168). La realidad es que si observamos la evidencia disponible en la literatura resulta un tema controvertido, ya que se pueden encontrar, tanto artículos en los que se objetiva una menor secreción en pacientes con DM(169), como otros en los que no se hallan diferencias en su cuantificación(170), incluso a pesar de que esos mismos pacientes refieran xerostomía(171).

Es interesante resaltar que la hiposialia es un efecto adverso colateral frecuente de alguna medicación de la población adulta, especialmente aquellos fármacos destinados al tratamiento de enfermedades cardiovasculares u otros fármacos para terapias crónicas como la DM(172).

Los estudios sobre la tasa de secreción salival son muy escasos. En un trabajo que versaba sobre ello, se objetivó menor tasa de saliva total en reposo (STR) en pacientes diabéticos frente a sanos, y xerostomía en un 82% en mujeres de la muestra(173).

En otro trabajo con un diseño similar que diferencia entre diabetes tipo 1 y tipo 2 se muestra menor STR para ambos grupos respecto a controles sanos(174).

Algunos trabajos más, evidencian menores tasas salivales en diabéticos con independencia de su control metabólico(175).

3. ¿Qué influencia tiene el control metabólico en la saliva?

La influencia del control metabólico sobre los parámetros salivales, no es un aspecto que tenido en cuenta en la mayoría de los estudios publicados. La dificultad de interpretar este valor se debe a que el control metabólico no es mensurable en valores absolutos, su interpretación interprofesional es variable y sensible a las técnicas de laboratorio.

Al revisar la literatura, observamos que algunos autores no encuentran diferencias en la función glandular de pacientes diabéticos bien controlados respecto a individuos sanos(176), mientras que otros afirman que el control de la enfermedad no tiene significancia en la tasa de secreción ni composición salival(170).

En general, pocos trabajos evidencian la existencia de una correlación entre el control metabólico y distintos valores en saliva. Chávez y cols.(177) en dos investigaciones diferentes observaron alteraciones en la secreción de STR, saliva parotídea estimulada (SPE) y no estimulada de DM2 mal controlados tomando como intervalo de HbA1c un valor menor de 9%. En otro trabajo, los mismos autores(178) no encontraron una relación directa entre hiposecreción con xerostomía en adultos DM2 no controlados.

Swanljung y cols.(179) en adolescentes, edades comprendidas entre 12 y 18 años, tampoco aprecian diferencias significativas en cuanto a la composición y prevalencia de caries en diabéticos bien controlados respecto a población sana.

Más recientemente, tras el establecimiento de los últimos criterios diagnósticos en DM, la mejora en la monitorización y en el control de los pacientes, también se ha observado un comportamiento similar en los pacientes con un buen control metabólico respecto a controles sanos(166).

ESTRÉS OXIDATIVO

El concepto de estrés oxidativo se refiere al balance que se produce entre especies generadoras o productoras de radicales libres y su eliminación del medio mediante sistemas o especies antioxidantes, denominadas también reacciones químicas de reacción-oxidación, óxido-reducción o redox(180).

Este concepto de estrés oxidativo en el campo de la bioquímica y medicina molecular se usa de manera generalizada para analizar y estudiar estas reacciones de óxido-reducción entre biomoléculas del organismo. Habitualmente se encuentra en desequilibrio a favor de las sustancias dadoras o radicales libres, que son moléculas inestables que presentan en su última capa electrones desapareados y por tanto con una gran capacidad de interacción con otras biomoléculas(180).

A lo largo de las últimas décadas se ha intentado analizar, explicar y estudiar las interacciones que se producen entre estas biomoléculas desapareadas en el ser vivo como desencadenante y mecanismo etiopatogénico de enfermedades en la especie humana.

De manera generalizada, en estas reacciones redox siempre tendremos dos componentes, las especies reactivas y los sistemas protectores de estrés oxidativo:

1. Especies reactivas o radicales libres (ERO): Las especies reactivas presentan diferentes grados de toxicidad para el organismo. Aparecen en el medio como producto de desecho de numerosas reacciones metabólicas(181). En la literatura se describen:

- a. **Radical superóxido (O₂⁻):** es una especie muy reactiva con una vida media de milisegundos. Es el radical más abundante en el medio en condiciones normales. Su alta reactividad le confiere la capacidad de servir como intermediario para otras especies reactivas. De dos radicales de superóxido se puede producir oxígeno (O₂) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). El peróxido de hidrógeno es una molécula muy estable que presenta alta toxicidad para la célula ya que tiene la capacidad de atravesar la membrana celular(182).
- b. **Radical hidróxilo (HO⁻):** es una especie muy tóxica, siendo la más reactiva de las conocidas(183).
- c. **Radical nítrico (NO):** presente en numerosos procesos del organismo, es un intermediario tóxico en su papel de radical libre(183).
- d. **Peroxinitrito (ONOO⁻):** especie oxidante y nitrante. Debido a sus propiedades oxidantes, el peroxinitrito puede dañar una gran variedad de moléculas en las células, incluyendo el ADN y las proteínas. La formación de peroxinitrito “in vivo” ha sido asociada a la reacción del radical libre superóxido con el radical libre óxido nítrico(184).

Además de los anteriores, se han descrito otros radicales, que aún no han sido tan estudiados como son: hidroperóxido orgánico (ROOH), ácido hipocloroso (HOCl) y radicales de oxígeno alcóxidos y peróxidos.

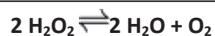
2. **Sistemas protectores de estrés oxidativo:** Bajo este epígrafe se reúnen varios mecanismos antioxidantes que comprenden mecanismos de defensa de naturaleza enzimática, mecanismos captadores de especies reactivas y otros

mecanismos más específicos para componentes concretos como metales(185).

2.a - Mecanismos de defensas enzimáticas (Figura 1): En el ser vivo existen numerosos mecanismos enzimáticos para la regulación de reacciones de muy diferente índole. En cuanto al estrés oxidativo, los más estudiados son la superóxido dismutasa, catalasas o la 8-oxoguanina glicosilasa(183,185).

- **Superóxido dismutasa (SOD):** se trata de una enzima que elimina del medio radicales libres de superóxido transformándolos en peróxido de hidrógeno. Éste es eliminado más tarde por catalasas y glutatión peroxidasa. Por lo tanto, representa la primera línea de defensa. En la literatura se describen tres tipos de SOD según su composición en metales y su localización, que son, a nivel intracelular el SOD mitocondrial y SOD citosólico, también encontramos SOD en el espacio extracelular(185).

- **Catalasa:** Se trata de una enzima presente en numerosos organismos vivos catalizando la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, que luego es usado por la célula como oxígeno celular(185). Este mecanismo se representa de la siguiente forma:



- **8-oxoguanina glicosilasa:** es una enzima protectora de reacciones 8-oxo-Gua, que es una de las vías más comunes del daño por estrés oxidativo en ADN, reduciendo así el potencial de mutagenicidad celular(185).

2b - Mecanismos de captadores de especies reactivas: Reaccionan con radicales libres, bloqueando algunos de ellos o transformándolos en otras moléculas menos agresivas para la célula. Destacan entre ellas:

- **Glutación:** El glutación es un abundante antioxidante endógeno producido por la célula que participa en la neutralización de radicales libres y colabora en el mantenimiento de antioxidantes exógenos como las vitaminas C y E. Desempeña un papel importante en numerosas reacciones metabólicas y bioquímicas, como la síntesis y reparación de ADN. Todos los sistemas del organismo se van a ver afectados por el glutación, especialmente el inmunitario y nervioso(186).

El glutación en el ser vivo se puede encontrar en dos estados: el reducido (GSH) y el oxidado (GSSG). Al donar un electrón a otras moléculas inestables reacciona rápidamente con otro glutación reactivo para formar un disulfuro de glutación. En tejidos sanos el 90% del glutación se encuentra en forma reducida mientras que el 10% lo hace en forma disulfuro(186,187).

- **Tiorredoxinas:** Son proteínas presentes en numerosos organismos como plantas, bacterias o mamíferos, siendo esenciales para estos últimos. Es de localización intracelular, y participa en funciones celulares como la síntesis de precursores de ADN, regulación de actividad proliferativa celular, y por tanto resulta

de interés en trastornos celulares tanto de tipo apoptóticos como carcinogénicos(188).

- **Vitamina A, E y C:** tanto el α -tocoferol (vitamina E) como el ácido ascórbico (vitamina C) son una importante fuente exógena de antioxidantes. Las principales fuentes de vitamina A son el pescado azul y vegetales, mientras que de vitamina C lo son frutas y verduras. La vitamina A está presente en la membrana celular y protege de la peroxidación lipídica. La vitamina C actúa a niveles intra y extracelular frente a radicales superóxidos e hidroxilos. La vitamina A o ácido retinoico posee capacidad antioxidante a través de su precursor, el β -caroteno(189).

2c - Otros mecanismos específicos: existen otras moléculas presentes en el medio con actividad redox, como ocurre en las reacciones descritas por Fenton o Haber–Weiss; metales como el hierro o el cobre en estado reactivo (en un estado de inestabilidad) que captan radicales como grupos hidroxilos o superóxidos del medio, funcionando como antioxidantes(183).

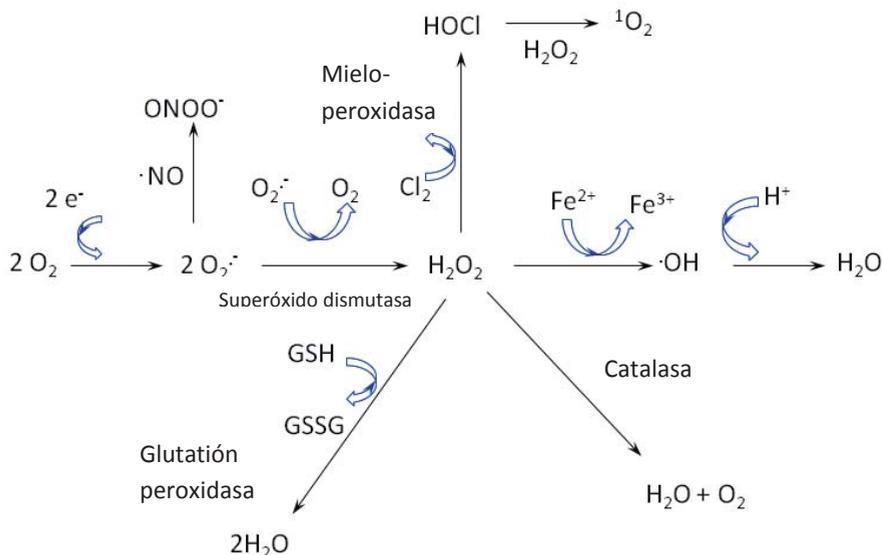


Figura 1. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son sustancias muy reactivas sufriendo numerosas transiciones entre especies. El anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) es de gran inestabilidad y rápidamente reacciona por la acción de la superóxido dismutasa en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Si el anión reacciona con el óxido nítrico ($\cdot NO$) se formaría el peroxinitrito ($ONOO^-$) Adaptado de Brieger y cols.(190).

Generación de radicales libres en el hombre

En el ser humano existen numerosas vías o sistemas productores de estrés oxidativo. Se tratan de reacciones químicas con capacidad de producir radicales libres que se liberan al medio. Estos radicales pueden ser producidos a través de sistemas que son endógenos (como la activación leucocitaria o reacciones enzimáticas) aunque también pueden ser adquiridos de manera exógena, siendo los

ejemplos más claros la polución ambiental, ozono o el humo del tabaco sobre el epitelio respiratorio(191).

ANTIOXIDANTES Y LA PATOLOGÍA EN EL SER HUMANO: SITUACIÓN ACTUAL

En las últimas tres décadas, más de 80 enfermedades se han relacionado con una multitud de especies reactivas y desequilibrios del balance antioxidante en más de 10.000 publicaciones(201).

En general, los trabajos con antioxidantes resultan ilusionantes y prometedores, ya que podrían aportar un enfoque nuevo para la comprensión de numerosas patologías. En gran cantidad de ellos se analiza la relación con la etiopatogenia de las diferentes patologías o en su desarrollo, y socialmente se promueve un estilo de vida saludable en el que se consuman antioxidantes procedentes de fuentes naturales de la dieta, pero aún no existe evidencia científica que permita afirmar que un suplemento de antioxidantes en la dieta ayude a la prevención de la enfermedad(190).

Desde hace más de tres décadas y a medida que se suceden los últimos años, las publicaciones sobre las ERO (especies reactivas de oxígeno) se han ido incrementando. En algunos trabajos se dedican apartados a las reacciones redox, otras publicaciones periódicas sin embargo (como Antioxidants & redox signaling, entre otras) se dedican exclusivamente a este tipo de investigaciones(190).

Como se ha explicado anteriormente en el texto, las ERO se caracterizan por su capacidad de destrucción debido a su desapareamiento, actuando tanto a nivel de células humanas como bacterianas. Resulta especialmente interesante destacar que, en los últimos años, se está estudiando qué papel ejerce en los individuos de manera

fisiológica, fuera de una perspectiva patológica, lo que se denomina la “regulación redox”(202).

Por este motivo, algunos autores defienden el uso de este término, “regulación redox”, ya que opinan que hace mejor referencia al equilibrio de antioxidantes y ERO, que el término “estrés redox”, más extendido y comúnmente utilizado. En la actualidad, hay una nueva ola de investigadores que opinan que, como en cualquier otro sistema del organismo, los componentes de este equilibrio deben trabajar (Figura 2) de manera coordinada para alcanzar la homeostasis redox(202).

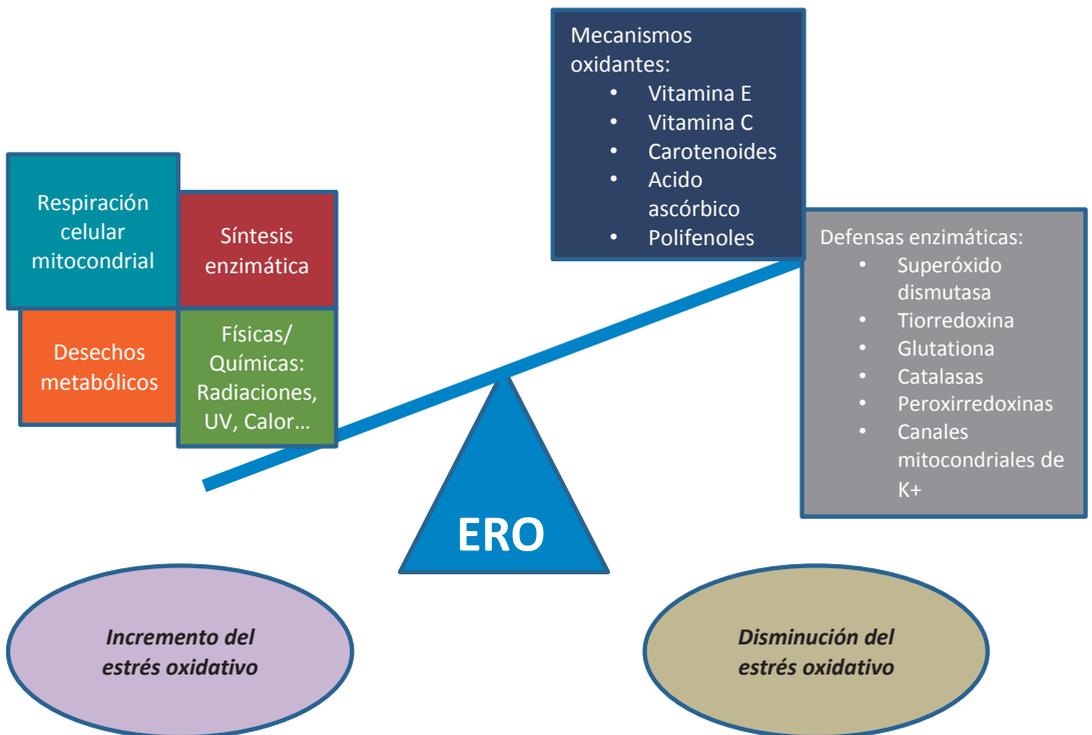


Figura 2. Diagrama que escenifica el equilibrio o regulación REDOX, donde se aprecian los factores implicados en el aumento y disminución del estrés oxidativo. ERO=Especies Reactivas de Oxígeno. Adaptado de Brieger y cols.(190).

Diferentes líneas de investigación muestran que las ERO tienen una importante función como marcadores moleculares. Recientemente se postula sobre su posible efecto beneficioso evitando la progresión a cáncer de la célula(203).

A continuación, y de forma muy generalizada debido a la gran producción de trabajos internacionales sobre la implicación de las reacciones redox en el ser humano, se nombran algunas funciones del equilibrio de la oxidación sobre el organismo, como son:

- Regulación del flujo vascular fisiológico: se cree que la célula podría realizar una sobreproducción de las ERO para evitar una excesiva oxidación molecular, actuando como regulador de la respuesta antiinflamatoria. Aunque por otro lado, numerosos autores, encuentran una excesiva producción de ERO relacionada de forma directa con varias enfermedades crónicas, entre ellas, las de tipo inflamatorio(204).

- Indicador intracelular de oxígeno: La percepción de oxígeno en la célula es vital para su supervivencia; algunos autores afirman que variaciones de oxígeno intracelular (como ocurre en la producción de ERO) favorecen que la célula inicie cambios de adaptación a nuevas situaciones como una menor disponibilidad de oxígeno. Esta estimulación hace que célula incremente la producción de algunos factores de hipoxia que ayudan a restablecer el equilibrio homeostasis redox. Por otro lado, también se han observado desequilibrios redox similares en células cancerígenas que no son restablecidos(204-206).

- Mediador en respuesta inmune innata y adquirida: La producción desproporcionada de ERO forma parte del proceso de activación del sistema fagocítico ante la presencia de patógenos, formando parte de las cascadas de la traducción de la señal intercelular(207).

- Regulador en el músculo esquelético: Estudios recientes de índole experimental muestran cómo sirven de intermediarios en la regulación de la toma de glucosa por parte del músculo esquelético durante la contracción(208). Otros estudios sobre su influencia muscular van dirigidos a estudiar su implicación durante el ejercicio o la inmovilidad muscular(209,210).

- Regulador de la estabilidad del genoma, transcripción y transducción de señales: algunos autores(211) afirman que la modificación de las proteínas de las histonas, que forman los nucleosomas, dan lugar a los procesos de la acetilación o desacetilación. Por lo tanto, se cree que podría influir en procesos de reparación de ADN, intermediario en el metabolismo, programación de muerte celular o autofagia entre otros.

Este enfoque provoca nuevos planteamientos en la comunidad científica, en los que las ERO no serían la consecuencia de un desequilibrio, sino un medio o una herramienta propia de la fisiología de la célula donde la homeostasis redox dentro de la denominación “regulación redox” abre nuevas e interesantes vías de investigación.

Mucho más numerosas son las publicaciones en las que se relacionan las ERO con diferentes patologías en el ser humano. Resumidamente podríamos agrupar estas diferentes patologías en:

- Cáncer: se ha estudiado su relación con el cáncer de algunos órganos sólidos como riñón, pulmón o mama. Algunos investigadores relacionan las ERO con la iniciación o progresión de la carcinogénesis a través de mutaciones oncogénicas. La sobreproducción de ERO originaría una situación de hipoxia que contribuiría al crecimiento tumoral, angiogénesis y metástasis(212,213).

- Enfermedades infecciosas como la hepatitis, virus de la influenza, VIH o diseminación séptica(214).

- Enfermedades fibróticas como la fibrosis pulmonar, neuropatía diabética o la fibrosis hepática(214,215).
- Alteraciones neurológicas, tales como esquizofrenia y enfermedades como Alzheimer o Parkinson(216).
- Patología cardiovascular, arterioesclerosis, hipertensión, estenosis vasculares o isquemia(217).
- Lesiones sensoriales: como enfermedades oculares o de pérdida de audición(218).
- Enfermedades inflamatorias crónicas o autoinmunes; se ha estudiado la posible relación en patologías como el lupus, la artritis reumatoide, estomatitis aftosa recurrente o la DM(219,220).

DIABETES MELLITUS Y ANTIOXIDANTES

La diabetes es una enfermedad crónica de elevada incidencia y con una prevalencia mundial en ascenso. Esta enfermedad, particularmente conocida por su hiperglucemia crónica es considerada como el agente causal de complicaciones microvasculares y macrovasculares. Se relaciona con mayor riesgo de padecer infarto de miocardio y demás complicaciones tardías propias de la enfermedad como neuropatías y nefropatías, entre otras(221).

La hiperglucemia crónica que padecen estos pacientes produce alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas por una resistencia absoluta o relativa a la insulina. Se cree que aumentos de estrés oxidativo deberían tener un papel importante en la patogénesis de las distintas complicaciones diabéticas(222).

En la literatura científica existe evidencia suficiente para poder afirmar que el estrés oxidativo se encuentra aumentado en el suero de pacientes diabéticos debido a una excesiva producción de ERO y una disminución de los mecanismos antioxidantes de defensa. Los estudios realizados en saliva no son tan numerosos, aunque la evidencia disponible sugiere que podría sufrir cambios proporcionales similares(223,224).

Son múltiples los mecanismos postulados que inducirían estrés oxidativo, entre ellos, se cree que niveles excesivos de glucosa podrían interrumpir la cadena de transporte de electrones en la mitocondria permitiendo una sobreproducción de aniones superóxidos(225), aunque clásicamente se ha pensado que esos niveles tan elevados de glucosa podrían inducir su propia autooxidación(226,227). Otro

mecanismo se produciría en la vía poliol o del sorbitol-aldosa reductasa de la célula, que consiste en una cascada de reacciones químicas en la que se obtiene fructosa a partir de glucosa, pasando por el sorbitol con ayuda de la enzima aldosa reductasa. El incremento de esta vía conlleva cambios severos en la disminución de los niveles de NADPH y glutatión, y merma su capacidad antioxidante(228).

ENFERMEDAD PERIODONTAL, ANTIOXIDANTES Y ESTRÉS OXIDATIVO EN SALIVA

La saliva posee un amplio rango de antioxidantes entre los que destacan el ácido úrico, la vitamina C y la glutatión reducida. Todos los antioxidantes presentes en el medio salival se complementan entre sí, trabajando en conjunto. Los antioxidantes confieren a la saliva su potencial defensivo(229,230).

Al realizar una búsqueda bibliográfica acerca de valores antioxidantes en saliva, es notable la cantidad de estudios que los relacionan con el estado periodontal de los individuos.

En 1994, Moore y cols.(231) midieron la capacidad antioxidante de la saliva en pacientes con enfermedad periodontal e individuos sanos sin hallar diferencias entre grupos. En su estudio, demostraron que en la saliva existen menores concentraciones de antioxidantes que en el plasma, siendo el 70% de su capacidad antioxidante atribuida exclusivamente al ácido úrico.

Las técnicas de laboratorio, la accesibilidad y posibilidades investigadoras, desde el 1994 hasta nuestros días, han evolucionado considerablemente. En 2008, Guentsch y cols.(232) estudian el efecto antioxidante de la saliva en pacientes periodontales fumadores, observando que los pacientes con periodontitis presentan mayor peroxidación lipídica y, además, ésta se ve influida por el efecto del tabaco.

Su y cols.(233) en 2009 realizan un trabajo sobre la capacidad antioxidante de la saliva en pacientes periodontales, pero en esta ocasión en no fumadores, donde encontraron una relación positiva entre la capacidad antioxidante de la saliva y las

alteraciones en el ADN salival, lípidos y proteínas. Justifican los autores que estos cambios son debidos a una adaptación al estrés oxidativo y no propiamente son cambios lesionales o patológicos.

En 2010, Kim y cols.(234) realizaron un estudio empleando STR de una muestra de pacientes con periodontitis crónica severa, encontrando mayor cantidad de antioxidantes en los pacientes enfermos. Como consecuencia de sus resultados, los autores resaltan en sus conclusiones que estos antioxidantes podrían ser empleados como herramienta diagnóstica en la enfermedad periodontal.

Los estudios realizados hasta la fecha en los que se analizan los valores antioxidantes en la saliva de pacientes diabéticos son muy escasos, apenas una docena, y de muy diversa índole.

El primer estudio publicado que aglutinó estos conceptos data del año 2000(235). Entre los resultados encuentran una disminución del ácido siálico y de la superóxido dismutasa en STR en diabéticos tipo 1, concluyendo que los valores menores de estas moléculas podrían justificar el peor estado de salud bucodental de este tipo de pacientes.

En 2003, investigadores españoles de Granada(236), evalúan la relación de la melatonina en suero y saliva, correlacionándola con el estado periodontal. La conclusión que obtienen de su estudio es que una mayor excreción glandular de melatonina podría tener un factor protector en pacientes diabéticos.

Astaneie y cols.(237) en 2004 realizaron un completo estudio en saliva y suero en el que analizan posibles alteraciones que pudieran presentarse en la saliva de pacientes diabéticos tipo 1. Marcadores antioxidantes de la peroxidación lipídica

y de la capacidad de reducción férrica se mostraron aumentados respecto al grupo control.

En 2006, Reznick y cols.(238) realizan un estudio en el que se diferencia entre diabéticos tipo 1 controlados y no controlados, comparándolos con un grupo control. Los pacientes diabéticos tuvieron mayor actividad antioxidante, que se valoró midiendo la peroxidasa, la superóxido dismutasa y la capacidad de reducción férrica, tanto en suero como en saliva. Los valores de antioxidantes aumentan paralelamente a la HbA1c.

Ese mismo año, otra vez en Granada, Arana y cols.(239) evaluaron la función de la saliva como fuente biológica para la detección de pequeños valores antioxidantes. En su trabajo hallaron aumentados la glutatión peroxidasa y reductasa en saliva de diabéticos tipo 1.

En 2009, Gumus y cols.(240) realizaron el primer estudio de casos y controles publicado en la literatura indexada en el que se discrimina entre tipos de diabéticos. En este trabajo, los pacientes diabéticos tipo 2 con buen control metabólico (media 7.16 ± 2.0) mostraron unos niveles antioxidantes de ácido ascórbico, glutaniona oxidada-reducida y capacidad total antioxidante en saliva menores al de otro grupo de DM1, obteniendo así unos valores similares a los del grupo de controles sanos.

En pacientes embarazadas con diabetes también se han realizado trabajos, donde se han observado mayores niveles de superóxido dismutasa, catalasa y capacidad total antioxidante en STR, comparado con otro grupo de embarazadas sanas(241).

Al-Rawi(192) en 2011, en un estudio de 25 pacientes sanos y 25 diabéticos tipo 2 sin complicaciones, evaluó el estrés oxidativo analizando los niveles de malondialdehído presente en la saliva total en reposo de ambos grupos, y a través de las concentraciones de ácido úrico , dismutasa superoxidasa y la glutatona reducida en suero y sangre. Al igual que la mayoría de los estudios realizados, en sus resultados se observó una tendencia creciente de la peroxidación lipídica y de antioxidantes en diabéticos. Los autores concluyen que probablemente se deba a una respuesta adaptativa al estatus pro-oxidante de la diabetes.

Sin embargo, en el estudio más reciente de la literatura, realizado en el año 2013 por Pendyala y cols.(242) hallan disminuida, y de manera estadísticamente significativa, la capacidad antioxidante total de la saliva de diabéticos tipo 2 frente a un grupo control.

Como se puede observar, los estudios expuestos parecen seguir la misma línea investigadora: dilucidar si la capacidad antioxidante de los diabéticos difiere de la de los sanos. Al realizar una revisión de la literatura, se denotan diferencias en la elección de parámetros entre los diversos trabajos, y no se han propuesto estándares de protocolos ni se exponen metodologías claras.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico muy frecuente en nuestros días y es descrita por numerosos autores como la nueva epidemia mundial. Se prevé un incremento del 50% de su prevalencia en el 2030. En la actualidad, la comprensión de su etiopatogenia, evolución y tratamiento continúa siendo tema de discusión, sus criterios diagnósticos han sido nuevamente adoptados y aún no son universales.

A lo largo de la evolución de esta enfermedad se producen complicaciones secundarias consecuentes, principalmente, al mantenimiento de la glucemia elevada en el organismo durante largos y frecuentes periodos de tiempo.

Por ello, creemos interesante realizar un análisis de la salud bucodental de diabéticos tipo 2 en relación a su condición sistémica. Del mismo modo, estudiar la presencia de sustancias antioxidantes en la saliva estimulada de estos pacientes.

En este trabajo se estudia una muestra de pacientes diabéticos tipo 2 contrastándolos con un grupo de pacientes sanos. Los objetivos de este trabajo son:

- Analizar si hay diferencias en la salud bucodental, con especial atención al estado periodontal, entre un grupo de pacientes diabéticos tipo 2 con relación a un grupo control.
- Comprobar si existen diferencias en el flujo salival de los pacientes diabéticos tipo 2, monitorizados por un servicio hospitalario especializado en diabetología frente a un grupo de controles.
- Observar si hay diferencias en el estrés oxidativo, medido en la saliva de estos pacientes diabéticos tipo 2 respecto a pacientes control.
- Analizar si la presencia de complicaciones en el paciente diabético se asocia a un mayor grado de estrés oxidativo en la saliva.

MATERIAL Y MÉTODO

MATERIAL Y MÉTODO	81.
I. Criterios de inclusión y exclusión	86.
II. Parámetros bucodentales estudiados	89.
III. Parámetros salivales estudiados	94.
IV. Determinación del estrés oxidativo	96.
V. Metodología estadística empleada	97.

Este estudio de casos y controles se ha realizado en el Servicio de Estomatología y Cirugía Maxilofacial del Hospital General Universitario de Valencia y en la Unidad Docente de Medicina Bucal del Departamento de Estomatología de la Universidad de Valencia; con la colaboración de la Unidad de Diabetes y la Fundación del Consorcio del Hospital General Universitario de Valencia.

El estudio fue aprobado el 20 de noviembre de 2014 (ANEXO 1) por el Comité Ético de Investigación en Humanos de la Universidad de Valencia.

Las muestras que se han recogido son:

1. **Grupo A:** Grupo CASOS, compuesto por pacientes diabéticos tipo 2 en número de 57 pacientes.
2. **Grupo B:** Grupo CONTROLES, compuesto por pacientes sanos que acudían a la Clínica Odontológica de la Universidad de Valencia para revisión de su salud bucodental. Estuvo constituido por 47 participantes.

I. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Se incluyeron aquellos pacientes diagnosticados de Diabetes Mellitus tipo 2 y pacientes controles sanos que acudían a revisión de su salud bucodental que no eran diabéticos.

2. Pacientes que voluntariamente adquiriesen el compromiso de formar parte del estudio, tras comprender y firmar el consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes diabéticos tipo 1 o con formas de presentación de la diabetes mellitus menos comunes, como las hormonales, por enfermedades pancreáticas, farmacológicas, víricas, asociadas a síndromes genéticos o por mutaciones genéticas.

2. Pacientes cuyas facultades mentales dificultasen o impidiesen la participación en el estudio.

3. Pacientes que presentasen lesiones en la mucosa oral.

4. Usuarios habituales de antisépticos orales en enjuague.

5. Pacientes que estuviesen en tratamiento con antibióticos, en los 30 días previos a la exploración oral y toma de muestra de saliva, para no distorsionar los resultados clínicos ni de estrés oxidativo.

6. Mujeres gestantes.

En nuestro estudio observacional de casos y controles se exploraron pacientes diabéticos tipo 2 que estaban siendo monitorizados por la Unidad de Diabetes del Hospital General Universitario de Valencia.

El grupo control estaba formado por sujetos no diabéticos, comparables en edad y sexo al grupo de diabéticos ($P>0,05$), incluidos en este estudio de forma aleatoria procedentes de las primeras visitas realizadas en la Clínica Odontológica (Fundación Lluís Alcanyís) de la Universidad de Valencia.

En ambos grupos de pacientes, y con ayuda de un kit de instrumentos de exploración (Figura 3) compuesto por un espejo intraoral, una sonda de exploración dental, pinza y sonda de exploración periodontal tipo Michigan, se examinó:

- El estado de las mucosas orales.
- El estado dental mediante el índice CAOD (cariados/ ausentes/ obturados)(243).
- El grado de higiene oral, elaborando un índice de placa y cálculo mediante examen visual(244).
- El estado periodontal mediante la medición de bolsas periodontales y de la pérdida de inserción dental(244).



Figura 3. Instrumental empleado en el estudio de la salud bucodental en ambos grupos de pacientes.

Además, se tomaron:

- Muestras de saliva del paciente por drenaje realizando una sialometría total en reposo y sialometría total estimulada con parafina(150).
- Se realizó la extracción de sangre con el fin de determinar marcadores plasmáticos de la DM en el grupo de casos.

Los pacientes diabéticos fueron evaluados en el Servicio de Estomatología del Hospital General Universitario de Valencia. Para la exploración salival se le dieron las siguientes instrucciones a los pacientes:

- Permanecer en ayunas, o como mínimo sin comer ni beber, desde 2 horas antes del estudio.
- No cepillarse los dientes en la mañana antes de la exploración.
- No mascar chicle.
- No fumar al menos diez minutos antes de la prueba.

Antes de comenzar se les informó mediante un documento por escrito sobre el estudio y su finalidad. Todos los pacientes, que aceptaron participar en el estudio, firmaron un consentimiento informado (ANEXO 2) antes de comenzar el examen intraoral.

II. PARÁMETROS BUCODENTALES ESTUDIADOS

En el sillón dental, se estudiaron siguientes parámetros:

- Estado de las mucosas orales: Las exploramos mediante inspección clínica visual con ayuda de un espejo intraoral. En aquellos casos en los que se evidenció patología de las mucosas o dental infecciosa de carácter agudo se decidió excluir al paciente del estudio y se le proporcionó la asistencia médica necesaria para el tratamiento de esta patología oral, remitiéndose para ser valorado en el Servicio de Estomatología del Hospital General Universitario de Valencia.
- Valoración de la higiene oral: Preguntamos al paciente la frecuencia de su cepillado y se procedió a catalogar el nivel de higiene: agrupando los pacientes bajo las etiquetas: higiene nula o escasa (si no se cepillaba nunca), moderada (si se cepillaba todos los días una vez) y buena (cuando lo hacían más de una vez al día y de forma correcta). Además, se preguntó al paciente por otros métodos de higiene dental, y por hábitos enólicos y tabáquicos. En

los casos en los que los pacientes presentaban hábitos tóxicos, se anotó la cantidad de consumo diario y el tiempo expresado en años.

- Valoración del índice CAOD(243): Con la ayuda de un espejo intraoral y una sonda de exploración dental, se observó y apuntó en el protocolo, el número de dientes cariados, dientes ausentes por caries y obturados que presenta el paciente, la suma de estos tres valores, nos dio el resultado del índice CAOD. En caso de presentar un diente obturado con caries recidivante, se consideró el diente como cariado. Los terceros molares fueron excluidos del estudio de este índice.
- Valoración de la profundidad de sondaje periodontal (Figura 4)(244): Cada diente presente en la cavidad oral se valoró en seis puntos, repartidos en dos grupos de tres (mesial, medio y distal), uno por vestibular y lingual/palatino, siendo a su vez cada superficie sondada en tres puntos. En el procesado de datos se obtuvo un valor promedio de profundidad de bolsa de cada paciente, que fue el resultado de calcular la media aritmética de la suma de todos los valores obtenidos de todos los dientes explorados, dividido entre el número total de superficies exploradas. Valoramos también el porcentaje de bolsas clasificándolas en tres grupos, según se encontrasen sus valores: entre 1-3mm, entre 4-5mm y de 6 o más milímetros.



Figura 4. Sondaje periodontal de un paciente diabético tipo 2 con un periodonto sano.

- Valoración de la pérdida de inserción periodontal (Figura 5)(244): Al igual que el valor anterior, se calculó la pérdida de inserción de todos los dientes presentes en la boca del paciente en el momento de la exploración. Este valor es el resultante de la suma de la profundidad de bolsa y la recesión gingival de cada diente. La recesión gingival se define como la distancia entre la unión amelodentinaria y la encía marginal. Una vez obtenido cada valor, se realizó el promedio de todos los dientes. Estos resultados, al igual que los anteriores, se expresaron en milímetros.



Figura 5. Sondaje periodontal de un canino inferior derecho (4.3) con pérdida de inserción sin profundidad de bolsa ni sangrado al sondaje en paciente diabético.

- Índice de placa y cálculo (Figura 6)(244): Se valoró con ayuda de un espejo dental y una sonda periodontal. Se exploraron todos los dientes del paciente por la superficie vestibular y lingual/palatino y se catalogaron según los criterios del índice de Silness y Løe;

VALOR	CARACTERÍSTICAS
0	No hay placa dental.
1	No hay placa a simple vista. Se advierte la presencia de placa al pasar una sonda o explorador por el área dentogingival.
2	Hay placa bacteriana a simple vista
3	Hay placa bacteriana a simple vista o cálculo rodeando el diente.

Figura 6. Criterios del índice de Silness y Løe. Cada valor o grado corresponde con la placa bacteriana presente en la exploración del paciente.

El valor del índice de placa de cada paciente se calculó como la media aritmética de los valores obtenidos en todos los dientes. Para ello, sumamos todos los valores y dividimos entre el número de superficies, para lo que multiplicamos el número de dientes por dos (valoramos dos superficies por diente).

- Índice de sangrado(98): Se valoró la hemorragia de todos los dientes presentes en la cavidad oral tras la exploración periodontal. A la hora de su clasificación se hizo en base a cuatro superficies dentarias (mesial, distal, vestibular, palatino/lingual). De ellos se obtuvo un porcentaje, teniéndose en cuenta el número de superficies sangrantes respecto al número total de superficies existentes.

En el grupo de casos, constituido por pacientes diabéticos tipo 2, se realizó una extracción de sangre para completar el perfil lipídico y glucémico del paciente en una analítica sanguínea. Para ello, se citó al paciente el mismo día de la exploración intraoral y se le indicó que viniese en ayunas. Una vez en la consulta, se procedió a la extracción sanguínea con el paciente sentado, relajado y con el brazo en hiperextensión. El procesado de la sangre consistió en el centrifugado de la muestra y separación del plasma en un tubo con 10 ml de EDTA. Las muestras se almacenaron en seis tubos de microcentrifugado de 1,5 mililitros. El almacenaje de tubos y su conservación se realizó en un ultracongelador a -80°C, previamente se atemperaron las muestras 24 horas a una temperatura de -10 a -15°C.

III. PARÁMETROS SALIVALES ESTUDIADOS

Parte del estudio de la saliva consistió en la medición del flujo salival (sialometría), calculándose en reposo y bajo estimulación mecánica. La metodología empleada para cada una consistió en:

Sialometría total en reposo (STR): Se recogió toda la saliva del paciente vertiéndola en un tubo milimetrado de 15 mililitros a través de un embudo durante 5 minutos, repitiendo esta operación cada minuto (Figura 7). Durante el tiempo de recolección de la saliva, se le indica al paciente que no hable, manteniendo la cavidad oral cerrada y la musculatura labial en posición de reposo.

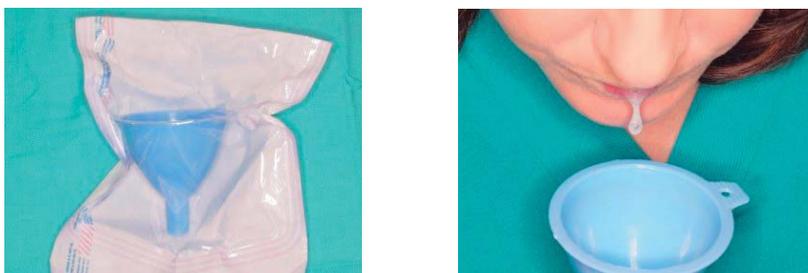


Figura 7. En la fotografía de la izquierda se muestra el embudo esterilizado en el que los pacientes van depositando la saliva. En la fotografía de la derecha se muestra cómo un paciente drena la saliva en reposo sin estimulación.

Sialometría total estimulada (STE): Consiste en la recogida de saliva, estimulando su secreción mediante una lámina de parafina (Figura 8). El paciente comienza masticando la parafina durante dos minutos. La secreción obtenida se desecha y se comienza a contar 5 minutos de prueba. Durante este tiempo, el paciente va vertiendo la saliva cada minuto en el tubo milimetrado con ayuda del embudo estéril.



Figura 8. En la fotografía de la izquierda se muestra el método de estimulación salival empleado en el trabajo: estimulación mecánica mediante láminas de parafina. En la de la izquierda, se aprecia como drena un paciente saliva estimulada a un embudo estéril.

Las muestras se fueron guardando en un medio frío a medida que se iban obteniendo y se anotaron los valores extraídos en milímetros. Además, se contabilizó la espuma producida en su eyección sumándose al total de la sialometría un tercio de los milímetros de la espuma resultante.

En el procesado, las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 4400 rpm y 4 grados centígrados, se tomó el sobrenadante rechazando el contenido

mucoso y el pelet. Se alicuotaron las muestras para su almacenaje en cantidades de 300 microlitros, almacenándose en los tubos de microcentrifugado correspondientes (para cada técnica establecimos un máximo de almacenaje de 3 tubos).

Todos los datos de los pacientes fueron recogidos sobre un protocolo que permitió estandarizar las preguntas habituales de la anamnesis. Este documento se adjunta al final de este manuscrito bajo el epígrafe ANEXO 3.

IV. DETERMINACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO DE LAS MUESTRAS

El procesado para la cuantificación del estrés oxidativo de las muestras obtenidas se realizó en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

Durante el diseño de la metodología de este proyecto, aún sabiendo que obtendríamos muestras de saliva en reposo y estimulada de todos los pacientes para la determinación del estatus antioxidante, se decidió seleccionar los grupos en los que analizar el malondialdeído (MDA) por el alto coste tanto de recursos materiales como humanos que exige esta prueba de laboratorio. Por ello, se optó por cuantificar:

- La presencia de MDA en STE en sanos y controles, para estudiar diferencias entre grupos.
- La presencia de MDA en STR sólo en el grupo casos (diabéticos), con la intención de correlacionar la STR y la STE con el género del paciente y la presencia de complicaciones de la diabetes.

Para la determinación de la concentración se utilizó el método de cromatografía de líquidos de alta eficacia descrito por Wong y cols.(245) en el 1987, en el que se mide la hidrólisis ácida de lipoperóxidos que se encuentran presentes en el medio oral con ayuda de una dilución de ácido ortofosfórico a 100 °C. De este modo se mide la reacción de malondialdehido (MDA), que es el producto mayoritario de la hidrólisis ácida de los lipoperóxidos.

La cuantificación de los parámetros de malondialdehido de la saliva extraída de los pacientes se realizó mediante el aducto TBA-MDA₂ con el ácido tiobarbitúrico.

Previamente, se empleó una técnica de separación mediante gradientes de densidad, donde se mezclaron 5 ml de saliva con un volumen similar de solución salina (PBS, Sigma, UK). La mezcla se vertió sobre un volumen de Ficoll Hypaque-1077 (Hystopaque, Sigma, UK), para evitar que se entremezclaran las distintas fases. Los tubos se centrifugaron a 2000 g durante 30 minutos en una centrífuga (5804R, Eppendorf, Hamburg), y más tarde se lavaron en tres ocasiones con solución salina, la interfase salival obtenida, centrifugando a 1600 g durante 5 min.

V. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA EMPLEADA

Previamente a la recogida de muestras, se calculó el tamaño muestral con el programa G POWER 3.0.10 de la Universidad de Kiel (Alemania) obteniendo un poder estadístico de 0,89.

Los datos obtenidos fueron estudiados mediante el programa estadístico SPSS 15.0. El nivel de significatividad empleado en todos los análisis bivariante ha sido el 5% ($\alpha = 0.05$) Por tanto, los valores p menores de 0,05 se han considerado estadísticamente significativos.

El p-valor es, suponiendo que no hay diferencias entre grupos, la probabilidad de que los resultados obtenidos puedan ser debidos al azar. Cuanto menor es p-valor, menor será la probabilidad de que los resultados obtenidos se deban al azar, y mayor evidencia habrá en contra de la hipótesis nula (inexistencia de diferencias).

Se realizó el test de Levene para la igualdad de varianzas rechazándose la hipótesis nula de varianzas iguales, por lo que hemos aceptado que las medias entre grupos son distintas.

Para el estudio de la asociación o independencia entre variables cualitativas empleamos la prueba de Chi Cuadrado, y para observar si había diferencias en las medias de las variables cuantitativas realizamos el test de la T de Student para muestras paramétricas.

RESULTADOS

RESULTADOS	99.
I. Datos y hallazgos estudiados exclusivamente en el grupo diabéticos:	
a. Descripción de las determinaciones en sangre.....	103
b. Complicaciones secundarias y tiempo de evolución.....	104.
II. Comparación del grupo diabético y control	105.
III. Estudio descriptivo de la saliva.....	113.
IV. Determinación del estatus antioxidante a través del malondialdehido	114.
V. Diferencias entre los parámetros de malondialdehido en STR y STE en el grupo de diabéticos y su relación con la variable genero y variable complicaciones de la diabetes.	115.

I. DATOS Y HALLAZGOS ESTUDIADOS EXCLUSIVAMENTE EN EL GRUPO DIABÉTICOS (GRUPO CASOS).

A. DESCRIPCIÓN DE LAS DETERMINACIONES EN SANGRE (Tabla 3)

Hemoglobina glicosilada (HbA1c): Para el seguimiento y control de la actividad diabética de los pacientes en los tres últimos meses, se calculó la media de todo el grupo de diabéticos; la glicosilación de la hemoglobina, que se expresa en porcentajes, resultó de 7.3 ± 1.1 %.

Glucosa plasmática basal: La glucemia del grupo de diabéticos se calculó midiendo la glucosa libre en plasma, el valor medio del grupo casos fue de 148 ± 59 mg/dl.

Colesterol Total: Los resultados del examen de colesterol total mostraron un valor medio para toda la muestra de 170 ± 43 mg/dl, que se encuentra dentro de los parámetros de normalidad comprendidos entre 100 – 200 mg/dl.

Triglicéridos: Su estudio reveló que se encuentran ligeramente por encima del intervalo de 50 a 150 mg/dl considerado no patológico, siendo el valor medio de la muestra de 167 ± 110 mg/dl.

Lipoproteínas de alta densidad o HDL: Estas lipoproteínas transportadoras de colesterol al hígado, mostraron un valor medio de 45 ± 11 mg/dl, que está dentro del intervalo de normalidad comprendido entre 40 y 200 mg/dl.

Lipoproteínas de baja densidad o LDL: La media del resultado de esta fracción fue de 107 ± 35 mg/dl, considerándose no patológico al estar entre 0 y 130 mg/dl.

	Hemoglobina glicosilada	Glucosa	Colesterol total	Triglicéridos	HDL	LDL
Valores medios obtenidos Grupo DM2	7.3 %	148 mg/dl	170 mg/dl	167 mg/dl	45 mg/dl	107 mg/dl
Desviación estándar	1.1 %	59 mg/dl	43 mg/dl	110 mg/dl	11 mg/dl	35 mg/dl

Tabla 3. Se muestran los valores plasmáticos obtenidos en el grupo casos.

B. COMPLICACIONES SECUNDARIAS AL TRANSTORNO Y TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EN EL GRUPO DE DIABÉTICOS (Tabla 4).

En la muestra de 57 diabéticos tipo 2, se observó que 33 pacientes (un 58,6%) padecían síntomas o se encontraban en estudios concluyentes de signos asociados a esa deficiencia metabólica como retinopatías, neuropatía periférica o trastornos vasculares; frente a 24 pacientes (un 40,4%) que no las referían en el momento de la visita. El tiempo medio de evolución de la enfermedad en la muestra fue de 173 meses (14,44 años).

Complicaciones asociadas a DM2	Presentaban complicaciones (retinopatías, neuropatías, vasculopatías)	No presentaban complicaciones	Totales
DM tipo 2 estudiados	33 pacientes	24 pacientes	57 pacientes
Porcentaje muestra	58,6%	40,4%	100%

Tabla 4. Complicaciones y tiempo de evolución del grupo de diabéticos.

II. COMPARACIÓN DEL GRUPO DIABÉTICO Y CONTROL.

Distribución de las muestras por edad

La media de edad del grupo casos o estudio (n=57) fue de 61,29 años, con una desviación estándar de 10,36 años, mientras que en el grupo control (n=47) fue de 60 años, teniendo una desviación estándar de 6,32 años (Tabla 5).

	GRUPO	N	Media	Desviación estándar	Error estándar de la media
Edad	CASOS	57	61,29 años	10,36 años	1,37 años
	CONTROLES	47	60 años	6,32 años	0,92 años

Tabla 5. Media de edades de ambos grupos estudiados.

Al comparar las edades de ambos grupos obtuvimos un valor de $t=0,90$ y la p fue de $0,36$. Por lo tanto, vemos que no hay diferencias significativas entre los grupos.

Distribución de las muestras por género

De los 104 pacientes que participaron en el estudio 54 fueron varones (51,9 %) y 50 mujeres (48,1%). En el grupo de diabéticos, 30 (52,6%) pacientes eran varones y 27 (47,4%) fueron mujeres, mientras que el grupo control lo integraron 24 (51,1%) varones y 23 (48,9%) mujeres. Los resultados de ambos grupos se muestran, a continuación, en la Tabla 6 y en la Figura 9.

	GRUPO	CASOS	CONTROLES	TOTALES
Género	VARONES	30(52,6%)	24(51,1%)	54(51,9%)
	MUJERES	27(47,4%)	23(48,9%)	50(48,1%)

Tabla 6. Comparación de ambos grupos respecto al género.

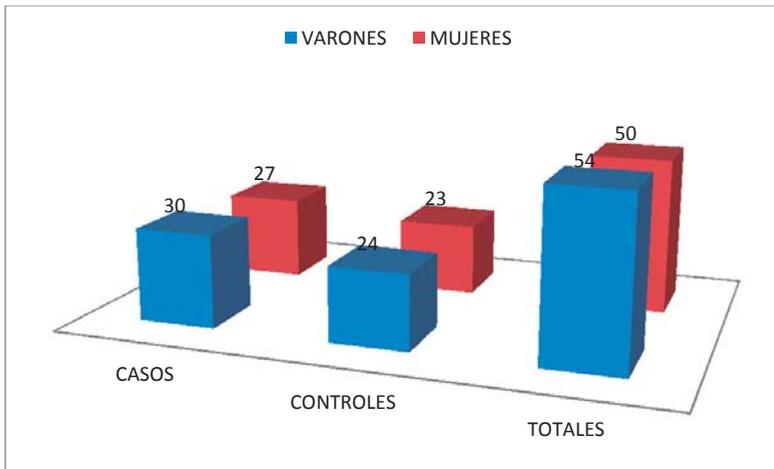


Figura 9. Género de ambos grupos: casos y controles.

Al comparar el sexo de ambos grupos obtuvimos un valor de $\chi^2= 0,025$ y la p fue de 0,87. Por lo tanto, vemos que no hay diferencias significativas entre los grupos.

Distribución de las muestras por hábitos tóxicos

a) Hábito tabáquico

Entre los 104 pacientes integrantes de la muestra, 84 (80,8%) eran no fumadores y 20 (19,2%) eran fumadores en el momento de la visita en el que se realizó la exploración. En el grupo de diabéticos, un 80,7% eran no fumadores y el

17,5% sí fumaba. En el grupo control, los porcentajes fueron similares, un 78,7 % no fumaban frente a un 21,3% que sí refería tener el hábito (Tabla 7 y Figura 10).

	GRUPO	CASOS	CONTROLES	TOTALES
Hábito tabáquico	FUMADORES	10(17,5%)	10(21,3%)	20(19,2%)
	NO FUMADORES	47(80,7%)	37(78,7%)	84(80,8%)

Tabla 7. Resumen de las muestras respecto al hábito tabáquico.

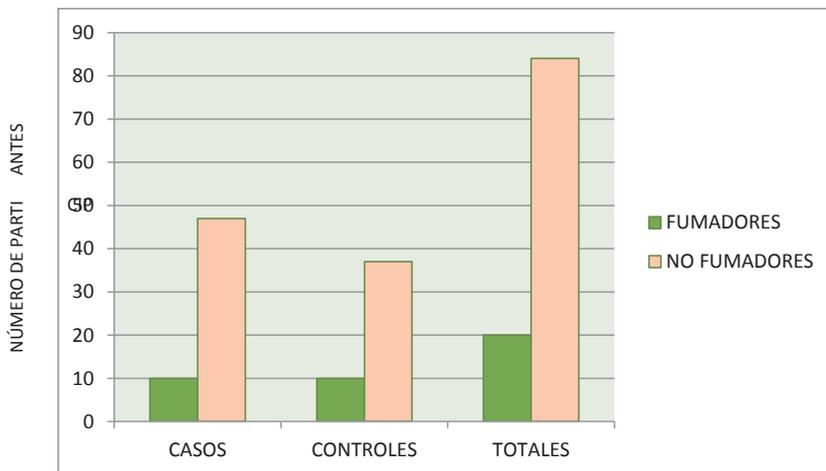


Figura 10. Hábito tabáquico entre grupos.

Al comparar el hábito tabáquico de ambos grupos obtuvimos un valor de $\chi^2=1,024$ y la p fue de 0,59. Por lo tanto, vemos que no hay diferencias significativas entre los grupos.

b) Hábito alcohólico

La distribución de esta variable muestra resultados similares a los del tabaco. De los 104 pacientes estudiados, 24 (23,1%) bebían alcohol de manera habitual y 80 pacientes (un 76% del total) no tenían este hábito. Dentro del grupo de diabéticos 45 pacientes, un 78,9% no consumían alcohol y 12 pacientes, un 21,1%, referían su consumo. En el grupo control, los porcentajes fueron parecidos, 35 pacientes (un 74,5%) no bebían habitualmente frente a un 25,5% que sí lo hacía (Tabla 8 y Figura 11).

	GRUPO	CASOS	CONTROLES	TOTALES
Hábito alcohólico	BEBEDORES	12(21,1%)	12(25,5%)	24(23,1%)
	NO BEBEDORES	45(78,9%)	35(74,5%)	80(76%)

Tabla 8. Resumen de las muestras respecto al hábito alcohólico.

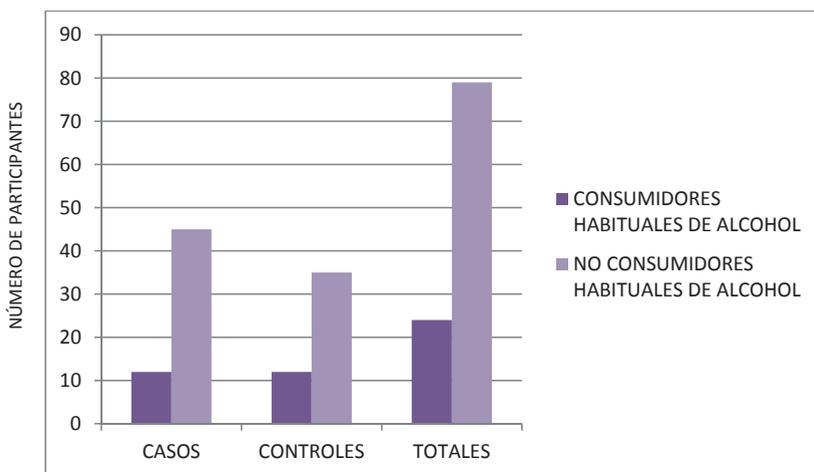


Figura 11. Hábito enólico entre grupos.

Al comparar el hábito enólico de ambos grupos obtuvimos un valor de $\chi^2=1,074$ y la p fue de 0,58. Por lo tanto, vemos que no hay diferencias significativas entre los grupos.

Distribución de los parámetros bucales y periodontales (Tabla 9)

ÍNDICE CAOD

El índice CAOD, descrito en 1938, es un índice universalmente aceptado para la evaluación de la enfermedad de la caries dental. En la muestra los pacientes con diabetes tipo 2 mostraron un índice CAOD de $14,26 \pm 8,63$ respecto a los controles donde fue de $11,17 \pm 6,56$ (Tabla 9).

Al comparar el índice CAOD de ambos grupos obtuvimos un valor de $t= 2,02$ y la p fue de $0,046$. Por lo tanto, vemos que existen diferencias significativas entre los grupos.

ÍNDICE SANGRADO

Los pacientes diabéticos tuvieron un índice de sangrado menor que los controles. El porcentaje de superficies que sangraban a la exploración fue de $12,77\pm 16,77\%$ en diabéticos y de $16,20\pm 13,17\%$ en los sanos (Tabla 9).

Al comparar el índice de sangrado de ambos grupos obtuvimos un valor de $t=-1,143$ y la p fue de $0,25$. Por lo tanto, vemos que no existen diferencias significativas entre los grupos.

ÍNDICE PLACA Y CÁLCULO

Ambos grupos mostraron resultados similares. En los pacientes diabéticos fue de $1,01\pm 0,86$ mientras que en los controles fue de $1,2\pm 0,81$ (Tabla 9).

Al comparar el índice de placa y cálculo de ambos grupos obtuvimos un valor de $t=-1,49$ y la p fue de $0,139$. Por lo tanto, vemos que no existen diferencias significativas entre los grupos.

SONDAJE PERIODONTAL

Los pacientes diabéticos tipo 2 tuvieron una media de bolsas periodontales de $1,92\pm 1,08$ mm que resultaron ser menores a la que presentaban los controles, que fue de $2,07\pm 0,59$ mm (Tabla 9).

Al comparar la profundidad de las bolsas periodontales de ambos grupos obtuvimos un valor de $t = -0,93$ y la p fue de $0,35$. Por lo tanto, vemos que no existen diferencias significativas entre los grupos.

PÉRDIDA DE INSERCIÓN

Sin embargo, la pérdida de inserción que comprende la suma de la media de la bolsa y la recesión (o parte del diente expuesto al medio oral), para los diabéticos fue de una media de $2,49 \pm 1,81$ mm frente a $2,29 \pm 0,72$ mm (Tabla 9).

Al comparar la pérdida de inserción de ambos grupos obtuvimos un valor de $t = 0,72$ y la p fue de $0,47$. Por lo tanto, vemos que no existen diferencias significativas entre los grupos.

	ÍNDICE CAOD	ÍNDICE SANGRADO	ÍNDICE PLACA Y CÁLCULO	SONDAJE PERIDONTAL	PÉRDIDA DE INSERCIÓN
CASOS	$14,26 \pm 8,63$	$12,77 \pm 16,77 \%$	$1,01 \pm 0,86$	$1,92 \pm 1,08$ mm	$2,49 \pm 1,81$ mm
CONTROLES	$11,17 \pm 6,56$	$16,2 \pm 13,17 \%$	$1,2 \pm 0,81$	$2,07 \pm 0,59$ mm	$2,29 \pm 0,72$ mm
P VALOR	0,046	0,256	0,139	0,354	0,47

Tabla 9. Resumen de valores bucales y periodontales entre grupos sometidos a estudio.

III. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA SALIVA

Los pacientes diabéticos tuvieron una media de STR de $1,42 \pm 1,07$ ml y una media de STE de $3,38 \pm 1,92$ ml, mientras que los pacientes del grupo control mostraron unos valores superiores al grupo de estudio: éstos fueron para la STR de $2 \pm 1,16$ ml y para STE $4,74 \pm 2,82$ ml (Tabla 10).

Al comparar la STR de ambos grupos obtuvimos un valor de $t = -2,62$ y la p fue de 0,01. Por lo tanto, vemos que hay diferencias significativas entre los grupos.

Además, respecto a la STE, el valor de t fue de $-2,92$ y la p de 0,004, apreciándose diferencias significativas entre los grupos.

Por lo tanto, los pacientes diabéticos tipo 2 mostraron menor secreción de la saliva en reposo (STR) y estimulada (STE) siendo ambas diferencias estadísticamente significativas.

	STR	STE
CASOS	$1,42 \pm 1,07$ ml	$3,38 \pm 1,92$ ml
CONTROLES	$2 \pm 1,16$ ml	$4,74 \pm 2,82$ ml
P VALOR	0,01	0,004

Tabla 10. Resumen de valores de saliva total en reposo y estimulada en pacientes diabéticos y controles.

IV. DETERMINACIÓN DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE A TRAVÉS EL MALONDIALDEHIDO DE LA SALIVA TOTAL ESTIMULADA.

Se procesaron las muestras de saliva total estimuladas obtenidas de los pacientes participantes en el estudio para la cuantificación de la presencia de MDA (Tabla 11). En el grupo casos la media de cuantificación del malondialdehido fue de $1,56 \pm 0,49 \mu\text{mol/g Hb}$ frente a la cuantificación media del grupo control que resultó en $0,19 \pm 0,78 \mu\text{mol/g Hb}$.

	Cuantificación Malondialdehido
CASOS	$1,56 \pm 0,49 \mu\text{mol/g Hb}$
CONTROLES	$0,19 \pm 0,78 \mu\text{mol/g Hb}$
P VALOR	$< 0,05$

Tabla 11. Resumen de valores de malondialdehido, expresados en micromoles por gramos, en saliva total estimulada en pacientes diabéticos y controles.

Al comparar los valores obtenidos de ambos grupos obtuvimos un valor de $t = 17$ y $p < 0,05$.

Por lo tanto, vemos que existen diferencias significativas entre los grupos estudiados en cuanto la presencia del antioxidante MDA en la STE de diabéticos tipo 2 comparado con los pacientes controles.

V. DIFERENCIAS ENTRE LOS PARÁMETROS DE MALONDIALDEHIDO EN STR Y STE EN EL GRUPO DE DIABÉTICOS Y SU RELACIÓN CON LA VARIABLE GÉNERO Y VARIABLE COMPLICACIONES DE LA DIABETES.

Además de la comparación realizada en el apartado anterior, se han relacionado variables recogidas en los protocolos clínicos como son las variables sexo y la presencia de complicaciones propias de la DM en el momento de la recogida de la saliva de los participantes, con la intención de analizar si existen diferencias en la cuantificación de MDA entre subgrupos de pacientes con la enfermedad.

VARIABLE GÉNERO

En cuanto al género del paciente diabético (Tabla 12), la media de cuantificación de MDA en STR en varones fue de $0,92 \pm 0,3 \mu\text{mol/g Hb}$ y en mujeres de $0,88 \pm 0,31 \mu\text{mol/g Hb}$.

Para relacionar ambos valores de MDA en STR se empleó la prueba T de Student, obteniendo un valor de $t = 0,36$ y un p valor de $0,71$, sin que existan diferencias significativas entre grupos.

Del mismo modo, se estudió la presencia de MDA en STE distinguiendo en el género de los pacientes diabéticos. La media de MDA en STE en varones fue $1,58 \pm 0,51 \mu\text{mol/g}$ y en mujeres de $1,56 \pm 0,5 \mu\text{mol/g}$.

Al igual que con la STR, para relacionar los valores de MDA, en STE se empleó la T de Student, obteniendo un valor de $t = 0,14$ y un p valor de $0,88$, sin que existan diferencias significativas entre grupos.

DIFERENCIAS VARIABLE GÉNERO – SALIVA DIABÉTICOS		
GÉNERO	Saliva Total en Reposo (Cuantificación Malondialdehído)	Saliva Total Estimulada (Cuantificación Malondialdehído)
HOMBRE	$0,92 \pm 0,3 \mu\text{mol/g Hb}$	$1,58 \pm 0,51 \mu\text{mol/g Hb}$
MUJER	$0,88 \pm 0,31 \mu\text{mol/g Hb}$	$1,56 \pm 0,5 \mu\text{mol/g Hb}$
P VALOR	0,71	0,88

Tabla 12. Resumen de los datos de la cuantificación de malondialdehído, expresados en micromoles por gramos, en las muestras salivales procesadas del grupo casos distribuidas según la variable género.

Por lo tanto, al estudiar el MDA en relación al género de los pacientes incluidos en el grupo casos, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en su cuantificación por géneros.

VARIABLE COMPLICACIONES DE LA DIABETES

También se estudió la relación de las complicaciones del paciente diabético y la cuantificación de MDA en la saliva procesada (Tabla 13). Los pacientes diabéticos con complicaciones mostraron una STR de $0,88 \pm 0,29 \mu\text{mol/g}$ frente a los que no presentaban complicaciones, donde fue de $0,93 \pm 0,33 \mu\text{mol/g}$.

Para relacionar los valores de MDA en STR se empleó la T de Student, obteniendo un valor de $t = 0,68$ y un p valor de $0,49$ sin que existan diferencias significativas entre los grupos.

En cuanto a la STE, los pacientes con complicaciones tuvieron una cuantificación de MDA de $1,54 \pm 0,47 \mu\text{mol/g}$, mientras los que no padecían complicaciones tuvieron $1,62 \pm 0,55 \mu\text{mol/g}$.

Para los valores de MDA en STE se empleó la T de Student, obteniendo un valor de $t = 0,6$ y un p valor de $0,54$ sin que existan diferencias significativas entre los grupos.

DIFERENCIAS VARIABLE COMPLICACIONES – SALIVA DIABÉTICOS		
COMPLICACIONES	Saliva Total en Reposo (Cuantificación Malondialdehído)	Saliva Total Estimulada (Cuantificación Malondialdehído)
CON COMPLICACIONES	$0,88 \pm 0,29 \mu\text{mol/g Hb}$	$1,54 \pm 0,47 \mu\text{mol/g Hb}$
SIN COMPLICACIONES	$0,93 \pm 0,33 \mu\text{mol/g Hb}$	$1,62 \pm 0,55 \mu\text{mol/g Hb}$
P VALOR	$0,49$	$0,54$

Tabla 13. Resumen los datos de la cuantificación de malondialdehído, expresados en micromoles por gramos, de las muestras procesadas del grupo casos distribuidas según la variable complicaciones.

RESULTADOS

Por lo tanto, al estudiar el MDA en relación a la presencia de complicaciones en los pacientes incluidos en el grupo casos, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN.....	119.
I. Discusión sobre material y método empleado	123.
II. Discusión sobre determinaciones realizadas en sangre	124.
III. Discusión sobre valores obtenidos en los parámetros dentales	128.
IV. Discusión sobre parámetros periodontales estudiados	130.
V. Discusión sobre la cuantificación salival en diabetes.....	134.
VI. Discusión sobre antioxidantes. Malondialdehido	135

I. DISCUSIÓN SOBRE EL MATERIAL Y MÉTODO EMPLEADO

Para el diseño de este estudio, nuestro grupo de trabajo tuvo en consideración los estudios previos publicados, que han sido recogidos en el apartado de revisión bibliográfica. En nuestro trabajo, los grupos de casos y controles cumplen criterios parecidos a los establecidos en estos estudios similares de la literatura(192,246).

Con la finalidad de obtener una muestra más concreta, se discriminó en el proceso de selección de la muestra entre pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2, seleccionando para nuestro grupo casos únicamente los tipo 2.

Los pacientes de la muestra de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) fueron diagnosticados de su enfermedad empleando los criterios actuales de la American Diabetes Association (ADA)(13) por el Servicio de Endocrinología del Hospital General Universitario de Valencia; todos ellos fueron mayores de edad y el diagnóstico de DM fue realizado por el Dr. Juan Carlos Ferrer, codirector de este proyecto. Como se ha expuesto previamente, entre los criterios de exclusión se acordó no incluir en el estudio participantes con diabetes tipo 1, o tipo 2 secundarias a fármacos, síndromes genéticos, tumorales o gestacionales.

Es importante recordar que, según los últimos criterios de la Asociación Americana de la Diabetes (ADA)(13), queda suprimida la denominación insulino dependiente o no insulino dependiente, no sirviendo de modo alguno como sistema de clasificación del tipo de DM. Algunos de nuestros pacientes se hallaban en tratamiento para el control de la glucemia con insulina por vía subcutánea, aunque la mayoría de ellos recibían tratamiento con fármacos por vía oral.

Los pacientes del grupo casos se encontraban en tratamiento de DM para el control de la glucemia, monitorización del tratamiento y prevención de complicaciones secundarias a la DM en el Servicio de Endocrinología. A pesar de estar monitorizados, en cuanto a su dieta y ejercicio físico diario, los hábitos de vida no fueron cuantificados ni recogidos en el protocolo de este estudio.

Previamente al comienzo del estudio, durante el diseño de la metodología, se realizó un cálculo del tamaño mínimo muestral con el que realizar un correcto procesado estadístico de los datos que iban a ser obtenidos.

El grupo de casos fue seleccionado de manera aleatoria procedente de la actividad diaria del Servicio de Endocrinología del Hospital General Universitario de Valencia. Las enfermeras y auxiliares ofrecían la posibilidad de participar en el estudio a todo aquel paciente que acudía al hospital a controlar su glucemia, procedente del área de salud o desde centros de salud ambulatorios del área de salud. Para el grupo control se procedió del mismo modo; se le ofreció la posibilidad de participar en el estudio a toda aquella persona que acudía a primeras visitas en la Clínica Odontológica de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia.

II. DISCUSIÓN SOBRE LAS DETERMINACIONES REALIZADAS EN SANGRE

Las determinaciones en sangre empleadas en este trabajo fueron tomadas de las analíticas utilizadas por el Servicio de Endocrinología para el control de la diabetes. El drenaje para obtener las muestras de saliva se realizó el mismo día que se procedió a la extracción de sangre.

Como se ha mencionado en el texto, el hecho de padecer la enfermedad no implica la aparición de complicaciones u otras patologías asociadas(247). El control de la enfermedad y su evolución sí influyen en la calidad de vida y en la aparición de complicaciones secundarias por el mantenimiento de una glucosa elevada en sangre durante amplios periodos de tiempo(22).

Al proceder a la recogida de datos y analizar qué valor presentaba la muestra sobre el control del **metabolismo de la glucosa y el perfil lipídico**, pudimos apreciar que sus valores promedios bajo tratamiento médico eran próximos a la normalidad, o en intervalos considerados de síndrome metabólico(22). En ocasiones, la HbA1c en algún paciente no alcanzaba el valor mínimo que se emplea como nuevo criterio diagnóstico de DM (<6,5%), ni tan siquiera en algunos casos alcanzaba un 7%, valor a partir del cual las distintas guías recomiendan intensificar el control de la glucemia con fármacos antidiabéticos(36).

Sin embargo, para la **glucosa libre en suero tomada en ayunas**, que es la determinación más común, tradicionalmente usada en el diagnóstico y seguimiento de la DM, obtuvimos un promedio en el grupo de diabéticos de 148 mg/dl, superior a 126 mg/dl que es el límite para su diagnóstico.

Por otro lado, aunque el promedio de las determinaciones del **perfil lipídico** obtenidas se hallaron en su mayoría dentro de valores fisiológicos, sólo el promedio de triglicéridos se mostraron fuera de los parámetros considerados de normalidad y de forma muy discreta, su valor fue de 167 unidades siendo el intervalo de normalidad de 50 a 150 unidades.

La **HbA1c** es en la actualidad el biomarcador más utilizado en la evaluación del estado glucémico en diabéticos, siendo considerado como primer método diagnóstico desde 2003, a pesar de las limitaciones que señalan algunos expertos internacionales(37). Se utiliza, sobre todo, en la evaluación del control glucémico de los últimos tres meses aproximadamente y para realizar ajustes apropiados en el tratamiento. Nuestra muestra de pacientes presentó unos valores de HbA1c de 7.3%.

Aunque la correlación de HbA1c con los niveles de glucosa en sangre no está claramente establecida, el Comité de Expertos certifica y valida en 2009 la cuantificación de HbA1c como herramienta para la monitorización de la glucemia crónica y la prevención, en cierta medida, del riesgo de sufrir complicaciones diabéticas(248).

En la mayoría de estudios publicados similares al nuestro en los que se evalúa la influencia del control metabólico y la inflamación periodontal, se realiza la valoración del control glucémico mediante el análisis de la HbA1c. Los expertos para el diagnóstico fijan como criterio de DM un valor superior a 6,5%; ante valores superiores al 7% se recomienda la introducción de fármacos en el tratamiento para minimizar la aparición de complicaciones secundarias a la hiperglucemia(37,248).

La interpretación de los valores de HbA1c en los distintos estudios con pacientes diabéticos tipo 2 se ha ido modificando a lo largo de los años. En los trabajos se clasifican en: buen control o mal control metabólico. Los valores más habituales en nuestro entorno, y empleados en nuestro trabajo, son los consensuados por la Academia Europea y Norteamericana de Diabetología(22).

La ausencia de un criterio mundial dificulta la comparación de resultados entre las distintas investigaciones. Ejemplo de ello es un trabajo en 2013 realizado en India

por Apoorva y cols.(249), en el que llevan a cabo un estudio epidemiológico correlacionando la HbA1c y enfermedad periodontal en pacientes con DM2. En este estudio se adoptaron unos valores criterio diferentes respecto a los descritos por la Academia Europea y Norteamericana de Diabetes, interpretando las determinaciones de HbA1c para la clasificación de pacientes según su control metabólico, de este modo:

- Pacientes con control metabólico BUENO: 6,0% - 8,0%.
- Pacientes con control metabólico MODERADO: 8,0% - 10,0%.
- Pacientes sin control metabólico o POBRE : >10%.

También, podemos encontrar otras publicaciones de ese mismo año, como la del estudio realizado en Brasil por los autores Casarin y cols.(250) sobre la biodiversidad de la placa subgingival en pacientes con DM2, donde consideran en sus criterios como diabéticos no controlados aquellos pacientes con valores de HbA1c mayores de 8%.

Hay trabajos donde el valor de corte establecido es más elevado; en un estudio de los ingleses Preshaw y cols.(251) y el de investigadores taiwaneses como Li y cols.(252) consideran DM2 con un pobre control metabólico cuando la HbA1c refleja valores superiores a 8,5%. Y aún mayor lo establecen Stojanovic y cols.(253) y Awartani(254), que definen un mal control metabólico a partir de 9% de HbA1c para correlacionar en sus estudios el control metabólico con la periodontitis.

Algunos autores(255-262) consideran en sus trabajos como mal control metabólico aquellos pacientes que superan el 7%.

Nuestros pacientes presentaron una media de HbA1c de 7,3%. Según los criterios actuales expuestos por los comités de expertos, se encuentran ligeramente por

encima del valor objetivo del 7% en el que se recomienda estabilizar de manera general a los pacientes.

Aunque, si tomásemos como referente otros trabajos con objetivos similares al realizado por nuestro grupo en el que se relaciona la DM2 y la periodontitis, los valores obtenidos se encontrarían dentro del límite considerado de buen control metabólico <7,5%(263).

En resumen, podríamos considerar según lo publicado en la literatura que nuestra muestra podría ser calificada como *de buen control metabólico*. Por lo que nuestros pacientes, a pesar de tener una glucosa plasmática en el momento de la toma de la muestra por encima del valor considerado normal, llevaban un control metabólico calificable como aceptable en los últimos meses, y de este modo se refleja en la HbA1c. Por lo tanto, nuestro grupo de casos estaba formado por pacientes que, aún padeciendo DM tipo 2, presentaban en el momento de la exploración un buen control metabólico de su enfermedad.

III. DISCUSIÓN SOBRE LOS VALORES OBTENIDOS EN LOS PARÁMETROS DENTALES

Para conocer y describir la situación de salud o enfermedad de los grupos se utilizó, por su sencillez y aceptación, un índice internacional frecuentemente adoptado en las encuestas de la OMS, el índice CAOD(264).

Entre los grupos estudiados se apreciaron diferencias estadísticas muy cercanas al p valor adoptado como significativo. El índice CAOD es un índice versátil y práctico, comúnmente utilizado en estudios epidemiológicos, a pesar de tener sus reconocidas limitaciones, y sus valores oscilan entre 0–32(264).

El valor obtenido del índice CAOD para el grupo a estudio fue de 14,26 mientras que en el control fue de 11,17, resultando una diferencia estadísticamente significativa.

El índice CAOD está concebido para la medición de la “trayectoria”, es decir, mide de forma somera el pasado y presente de la caries en una población estudiada. La significación de este resultado nos indica, fundamentalmente, que el grupo casos ha tenido o tiene más caries que el control que acudía a revisión de su salud bucodental a la Clínica Universitaria de la Universidad de Valencia.

En estudios previos realizados en 2006 en la Facultad de Medicina y Odontología de nuestra Universidad, en el que se analizaba el estado de salud bucodental en la población residente en la Comunidad Valenciana por el grupo del Prof. Almerich y cols.(265), obtuvieron un CAOD con un intervalo entre 7,64 y 16,38. Los valores obtenidos en nuestro trabajo de CAOD para ambos grupos están en sintonía con este trabajo, puesto que se hallaron dentro de los intervalos de resultados ofrecidos por encuestas de salud bucodental en la Comunidad Valenciana.

Para terminar este apartado, poner en valor que a pesar de ser estadísticamente significativa la diferencia de este índice con el grupo control, los pacientes diabéticos tipo 2 de nuestra muestra mostraron un valor de CAOD menor al 16,79 obtenido de media en la encuesta de la población general del país que se llevó a cabo en el año 2000(266), lo que podría deberse al control metabólico más exhaustivo como es el que se lleva a cabo por un servicio especializado en diabetología.

IV. DISCUSIÓN SOBRE LOS PARÁMETROS PERIODONTALES ESTUDIADOS

En los estudios epidemiológicos llevados a cabo en los últimos 70 años, se han empleado numerosos índices periodontales, que han ido perfeccionándose a medida que han ido aumentando las publicaciones, conocimientos en periodoncia y salud pública. En la planificación de nuestro trabajo, cuando se concretó la metodología, se decidió emplear índices sencillos, utilizados en trabajos similares que posteriormente nos permitiesen comparar los resultados obtenidos(267,268).

Al realizar la lectura de los datos clínicos recogidos sobre el estado periodontal, llama la atención que las diferencias entre los grupos estudiados no son muy notables, pudiendo justificarse nuevamente con el buen control de la enfermedad metabólica, además de la instrucción en hábitos de vida saludables tanto de higiene como de alimentación.

Cabe resaltar que ningún paciente de nuestra muestra presentó signos clínicos de sobreinfección fúngica (en la cavidad oral frecuentemente del subtipo *cándida*) en el momento de la exploración.

Entre los parámetros seleccionados, estudiamos el **índice de sangrado gingival** anotando las superficies sangrantes del diente después de realizar un sondaje de bolsa y obteniendo un valor medio de todos los dientes presentes en la arcada(264). Para este

estudio, optamos por sumar los valores obtenidos en todos los dientes para registrar una media de los resultados más precisa.

El sangrado al sondaje aporta información acerca de la inflamación gingival. Algunos trabajos se interesan por la percepción del propio paciente del sangrado al realizar los cuidados de higiene bucodental, tras el cepillado(269).

En nuestro estudio se expresó el porcentaje de superficies dentales sangrantes de los dientes presentes en ambas arcadas sin que éste resultase estadísticamente significativo entre los grupos. La media del grupo de diabéticos fue de 12,77%, mientras que en el grupo control fue de 16,2% sin encontrar significancia estadística entre grupos sometidos a estudio. La desviación estándar también fue similar entre ambos. Por lo general, en estudios publicados con una metodología parecida presentan índices de sangrado mayores; Das y cols. en 2011, al comparar diabéticos (sin especificar el tipo) con controles sanos, tienen unos índices de 43,7% y 31,6% respectivamente(270).

Sin embargo, otros investigadores como Novak y cols.(271), al estudiar una población de hispanos americanos diabéticos tipo 2 no hallan diferencias significativas en el sangrado al sondaje respecto a sanos.

Por lo tanto, opinamos que la actividad periodontal que refleja la presencia de inflamación con el sangrado al sondaje, tiene relación con el control metabólico de nuestros pacientes. El buen control metabólico de nuestro grupo nos lleva a obtener un porcentaje de sangrado ligeramente mayor al de los controles, sin resultar estadísticamente significativo.

Otro índice empleado en el análisis periodontal de nuestros grupos fue **el índice de placa y cálculo**. Este índice fue elaborado por Silness y Løe(244) en la década de los sesenta. Para la obtención de este índice podemos usar mediciones de todos los dientes de la arcada o utilizar sólo los “dientes índice” que son los mismos que empleamos para el índice de Ramfjörd(272) y que siguen la nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI). Como se describe en el apartado de material y método, se empleó para el índice de placa valores de 0 a 3 por superficie del diente analizada.

La similitud de las muestras estudiadas también se reflejó en el índice de placa y cálculo, sin que mostrasen diferencias entre grupos estadísticamente significativas. Los controles tuvieron una media de este índice de 1,2 y los diabéticos de 1,01. La diferencia entre ambos valores de ambos es 0,19.

Completando estos índices, para la obtención de los valores puramente periodontales que definirían el estado de enfermedad del periodonto, empleamos la profundidad de bolsa y el nivel de inserción clínica. Se realizó un sondaje periodontal por diente de seis puntos siguiendo la sistemática de estudios similares realizados sobre grupos de pacientes diabéticos de cualquier tipo clínico o edad(273-275).

Respecto a la **media de la profundidad de las bolsas**, al igual que los resultados obtenidos en otros parámetros, las diferencias entre grupos no fueron estadísticamente significativas. Paradójicamente, y debido a la cercanía de los valores de los pacientes con DM tipo 2 a los valores cercanos a la población general sana, la media de profundidad resultante entre el grupo de diabéticos llegó a ser levemente menor a la de los sanos con una diferencia menor de un milímetro (0,15 mm). En la práctica podemos afirmar que las muestras son similares a nivel periodontal ya que la

profundidad de sondaje se realizó con sondas periodontales con marcas no inferiores a 2 mm, que no discriminaban, de ningún modo, en medios o cuartos de milímetro. La media resultante en diabéticos fue de 1,92 mm frente a 2,07 mm en los controles.

Otros trabajos similares en la literatura obtienen una relación periodontal entre sanos y pacientes con DM2 parecidos a los obtenidos en nuestro trabajo. En un estudio(276) de cooperación entre universidades estadounidenses y asiáticas en 2012, en el que se analizó una muestra de 150 pacientes diabéticos tipo 2 y 306 controles, obtienen parámetros de profundidad que resultaron de 3,98 mm frente a 3,77 mm, respectivamente.

Ese mismo año, Moeintaghavi y cols.(256) en una investigación sobre la efectividad del tratamiento periodontal no quirúrgico (tratamiento periodontal básico) realizado sobre diabéticos tipo 2, obtienen unos valores periodontales basales con una media de sondaje de 2,31 mm frente a unos controles de 2,06 mm. Estos resultados son muy similares a las medias obtenidas en cada uno de nuestros grupos.

Otros autores como Dag y cols.(261) diferencian entre diabéticos tipo 2 con buen control metabólico y mal controlados; el límite de HbA1c para diferenciar entre sus grupos lo establecen en 7 %. Los valores de sondaje periodontal que obtuvieron fueron 2,67 mm y 2,84 mm respectivamente, mientras que los sanos tuvieron un sondaje de 2,61 mm. Los datos de este estudio muestran cómo los pacientes con DM2 con buen control metabólico, al igual que ocurre en nuestro trabajo, tienen sondaje similar al grupo de sanos(261).

El **índice de inserción** fue mayor en el grupo casos, aunque nuevamente de forma leve. La diferencia entre grupos fue de $0,20 \pm 1,09$ mm. En numerosos trabajos(277,278) se observa pérdida del nivel de inserción clínico en diabéticos tipo 2,

aunque normalmente se hallan acompañados de mayores profundidades de bolsa. La pérdida de unión del diente a los tejidos periodontales podría deberse a la propia evolución de la enfermedad sistémica.

En un trabajo publicado de Haseeb y cols.(279) similar al nuestro, realizado en pacientes con DM2 y con buen control metabólico, no hallaron diferencias significativas en la profundidad de sondaje ni tampoco mostraron alteraciones en el nivel de inserción clínica.

V. DISCUSIÓN SOBRE LA CUANTIFICACIÓN SALIVAL EN DIABETES

Para la obtención de la saliva de los pacientes estudiados durante el diseño de nuestro trabajo se tomaron como referencias algunas metodologías de los primeros trabajos publicados de la literatura(280,281) vigentes en artículos actuales de pacientes diabéticos tipo 2(282).

En nuestro trabajo la saliva excretada en reposo fue prácticamente la mitad que la STE siendo en el grupo casos la STR de $1,42 \pm 1,07$ ml frente a $3,38 \pm 1,92$ ml de STE. Resaltar que a pesar de un estado periodontal comparable y al control tan cercano de la glucemia por el especialista obtuvimos una STR y STE entre grupos.

Los estudios publicados referentes a la secreción del flujo salival de diabéticos tipo 1 y 2 no son concluyentes(283). En nuestro trabajo observamos que ambas secreciones estudiadas, tanto STR como STE estaban disminuidas de forma estadísticamente significativa al igual que en otras publicaciones(284).

Hemos de resaltar que el perfil del paciente diabético incluido en el grupo de estudio (con media de edad 61,29) coincide con pacientes generalmente polimedicados, más aún cuando un 57,6% de éstos presentaban complicaciones, y por lo tanto, eran más propensos a la hiposialia o xerostomía secundaria a la toma de fármacos(283). Aunque ningún paciente de la muestra padecía patología clínicamente objetivable que pudiera tener relación con una salivación disminuida(285).

VI. DISCUSIÓN SOBRE ANTIOXIDANTES. MALONDIALDEHIDO.

Las publicaciones sobre los antioxidantes se encuentran presentes en la práctica totalidad de las especialidades de la medicina. La forma de medir la actividad de los antioxidantes requiere de técnicas novedosas y complejas. Se utiliza la capacidad de absorción de algunas sustancias, de radicales libres o mediante la cuantificación de productos finales de las reacciones redox que se dan en el organismo principalmente a nivel celular.

El malondialdehido es uno de los productos finales de bajo peso molecular que se crean tras la peroxidación de los lípidos. Tomando como punto de partida la técnica de Wong y cols.(245) mediante cromatografía, y con ayuda del ácido tiobarbitúrico, se cuantificó la presencia de malondialdehido en las muestras remitidas al laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Valencia.

Uno de los objetivos de este estudio era conocer si existen cambios en la saliva de los pacientes con DM tipo 2, que al tener un diagnóstico clínico de diabetes debían

tener o haber padecido algún grado de hiperglucemia en la evolución de la enfermedad (suponiendo mayor oxidación), siendo el uno de los propósitos del trabajo cuantificar diferencias del equilibrio redox a través del MDA. En nuestra muestra el tiempo medio de evolución de la enfermedad fue de 173 meses (14,44 años). Escasas publicaciones sobre DM tipo 2 estudian algún producto redox en saliva(192,286).

Entre ellos, un trabajo referido anteriormente en este texto de Al-Rawi(192), donde observa diferencias entre el estatus antioxidante del grupo con diabetes frente a controles sanos. Estos autores estudian la presencia en STR de varios desechos de la oxidación, entre ellos del MDA. En nuestro estudio únicamente analizamos la presencia de MDA en STE, que fue estadísticamente significativa al ser comparada con los controles.

Otro trabajos recientes en la literatura muestran una relación directa entre MDA y el metabolismo de lípidos HDL y LDL, sin prestar atención al estatus periodontal ni especificar cómo era el control de la diabetes(287). Según los resultados de nuestro trabajo, el MDA se encontraría aumentado en diabéticos con buen control metabólico de su enfermedad (a pesar de tener un valor de HDL y LDL dentro de límites considerados aceptables) no justificable por alteraciones en su estatus periodontal.

Trivedi y cols.(286) publicaron en 2014 un estudio sobre el comportamiento del MDA en diabéticos y sanos, con y sin periodontitis; encontraron mayor cuantificación de MDA en pacientes con periodontitis crónica, con y sin diabetes, sin tampoco obtener significancia estadística. En nuestro trabajo, al ser el estatus periodontal similar y comparable, podríamos atribuir los cambios de MDA a un reflejo del estatus oxidativo general del paciente que no se da en controles sin la enfermedad.

En la literatura no encontramos estudios que comparen valores de MDA con la presencia de complicaciones secundarias a la hiperglucemia del paciente diabético. En nuestro trabajo tampoco encontramos una relación estadísticamente significativa, quizás se deba a que los pacientes que presentaron complicaciones fueron solamente 33, ligeramente superior a la mitad de la población estudiada (58,6%), ni tampoco hallamos diferencias al distribuir la muestra por sexos.

La DM como factor de riesgo de periodontitis continúa siendo estudiada y debatida desde hace décadas(288). La investigación sobre ambas patologías individualmente, y la relación entre éstas, ha permitido una mejor comprensión de sus mecanismos tanto fisiopatológicos como etiopatogénicos en los últimos años.

La mejora y ayuda de los programas de seguimiento y monitorización ambulatoria u hospitalaria del Sistema Nacional de Salud ha conseguido la reeducación de estos pacientes a unos hábitos de vida más saludables.

Presumiblemente, todas las mejoras técnicas y asistenciales van a reflejarse en la salud bucodental de los pacientes diabéticos que acudan a una consulta dental. Como se muestra en este trabajo, parte del tratamiento de los pacientes que acuden al médico especialista en endocrinología consiste en la instrucción para evitar complicaciones de la diabetes por mal control de la enfermedad. Adquieren conocimientos sobre hábitos de vida saludables, como el consumo de alimentos (entre ellos no cariogénicos), y hábitos de higiene entre los que afortunadamente estos especialistas incluyen “cuidarse la boca”. Todo ello ayuda a que el paciente con DM tome conciencia de la realidad de su enfermedad, y tenga hábitos de vida e higiene similares, o en ocasiones mejores, que la media de la población general.

Actualmente en la literatura son muy escasos los trabajos en los que se estudia la influencia directa del control metabólico sobre el periodonto. Un buen control glucémico y de hábitos de vida, va a ayudar a prevenir las complicaciones originadas por estados prolongados de hiperglucemias, influyendo positivamente en el mantenimiento (sistema de defensa) en condiciones óptimas y quizás ayudando a una menor degradación de los tejidos del medio oral que están continuamente expuestos a la flora bacteriana.

Por lo tanto, quizás en los nuevos trabajos que se realicen sobre el estado de salud bucodental en DM sería interesante utilizar parámetros que permitan cuantificar el control de la glucemia del paciente durante los últimos meses, o incluso llevar un control de los últimos años aprovechando los datos que se recogen en las monitorizaciones del Sistema Nacional de Salud.

Según los resultados obtenidos en nuestro trabajo parece interesante la diferenciación, no sólo del tipo de DM como se realiza en la mayoría de las investigaciones, sino el establecimiento de diferencias en relación al tipo de control metabólico, y continuar investigando en qué modo el control metabólico bueno, moderado o malo va a repercutir en la salud bucodental.

CONCLUSIONES

1. En nuestro trabajo, el grupo de pacientes diabéticos tipo 2 presentaron valores periodontales similares a los de la población sana, comparables en edad y sexo; sin embargo, los valores del índice CAOD para el grupo casos fueron superiores de forma significativa.
2. Los pacientes diabéticos tipo 2 tuvieron menor secreción salival tanto en reposo como de forma estimulada frente a los controles sanos de forma estadísticamente significativa.
3. En lo referente al estrés oxidativo en la saliva, la cuantificación de malondialdehído (MDA) fue mayor en los pacientes diabéticos tipo 2 de forma significativa respecto a la población control.
4. En los pacientes diabéticos, la cuantificación de MDA no mostró una relación significativa con padecer complicaciones por la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Owen. Patogenia y diagnóstico en la diabetes mellitus. Medicina interna en odontología Rose LF, Kaye D. Barcelona: Salvat Editores; 1992.
2. Rose LF, Genco RJ, Mealey BL, Cohen DW. Periodontal Medicine BC. Mealey B, diabetes mellitus. 1º eds. ed. B.C Decker; 2000.
3. Raskin P. Sodium-glucose cotransporter inhibition: Therapeutic potential for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013;29:347-56.
4. Herzberg-Schafer S, Heni M, Stefan N, Haring HU, Fritsche A. Impairment of GLP1-induced insulin secretion: Role of genetic background, insulin resistance and hyperglycaemia. *Diabetes Obes Metab*. 2012;14 Suppl 3:85-90.
5. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiu E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: The Di@bet.es study. *Diabetologia*. 2012;55:88-93.
6. Goday A, Serrano-Rios M. Epidemiology of diabetes mellitus in Spain. Critical review and new perspectives. *Med Clin (Barc)*. 1994;102:306-15.
7. Goday A. Epidemiology of diabetes and its non-coronary complications. Up-date. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:657-70.
8. Colagiuri R. Diabetes: A pandemic, a development issue or both? *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010;8:305-9.
9. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011;378:31-40.
10. Encuesta nacional de salud 2010. [Internet]. Disponible en: <http://www.msc.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuestaIndice2010.htm>
11. Gomez-Marcos MA, Recio-Rodriguez JI, Rodriguez-Sanchez E, Castano-Sanchez Y, de Cabo-Laso A, Sanchez-Salgado B, et al. Central blood pressure and pulse wave velocity: Relationship to target organ damage and cardiovascular morbidity-mortality in diabetic patients or metabolic syndrome. An observational prospective study. LOD-DIABETES study protocol. *BMC Public Health*. 2010;10:143.
12. Bjelland S, Bray P, Gupta N, Hirscht R. Dentists, diabetes and periodontitis. *Aust Dent J*. 2002;47:202,7; quiz 272.
13. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20:1183-97.
14. Oliver RC, Tervonen T. Diabetes a risk factor for periodontitis in adults? *J Periodontol*. 1994;65:530-8.

15. Chillaron JJ, Flores-Le-Roux JA, Goday A, Benaiges D, Carrera MJ, Puig J, et al. Metabolic syndrome and type-1 diabetes mellitus: Prevalence and associated factors. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63:423-9.
16. Genuth S. Classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Med Clin North Am.* 1982;66:1191-207.
17. Stephenson E Jr, Haug RH, Murphy TA. Management of the diabetic oral and maxillofacial surgery patient. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53:175-82.
18. Lalla RV, D'Ambrosio JA. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc.* 2001;132:1425-32.
19. McDonald TJ, Ellard S. Maturity onset diabetes of the young: Identification and diagnosis. *Ann Clin Biochem.* 2013;50:403-15.
20. Sanz-Paris A. Diabetes and nutrition. *Nutr Hosp.* 2000;15 Suppl 1:58-68.
21. Figuerola D. Diabetes mellitus. En: Farreras, Rozman. *Medicina interna.* Madrid mosby-doyma libros 13ª edición, 1995: 1933-69.
22. Grupo de Trabajo Diabetes Mellitus Y Enfermedad Cardiovascular de la Sociedad Española de Diabetes. Diabetes mellitus and cardiovascular risk. Recommendations of the working group of diabetes mellitus and cardiovascular disease of the Spanish Diabetes Society 2009. *Endocrinol Nutr.* 2010;57:220-6.
23. Ryan JG, Gajraj J. Erectile dysfunction and its association with metabolic syndrome and endothelial function among patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 2012;26:141-7.
24. De Sanctis RW, Dec GW. Cardiomyopathies. In: Dale DC, Federman DD, eds. *Scientific American Medicine.* New York. Scientific American Inc.1995.
25. Siafarikas A, O'Connell S. Type 1 diabetes in children - emergency management. *Aust Fam Physician.* 2010;39:290-3.
26. Zhang L, Gianani R, Nakayama M, Liu E, Kobayashi M, Baschal E, et al. Type 1 diabetes: Chronic progressive autoimmune disease. *Novartis Found Symp.* 2008;292:85,94; discussion 94-8,122-9,202-3.
27. Erkelens DW. Insulin resistance syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2001;88:38J-42J.
28. Newman B, Selby JV, King MC, Slemenda C, Fabsitz R, Friedman GD. Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins. *Diabetologia.* 1987;30:763-8.
29. Ali O. Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes.* 2013;4:114-23.

30. Tsatsoulis A, Mantzaris MD, Bellou S, Andrikoula M. Insulin resistance: An adaptive mechanism becomes maladaptive in the current environment-an evolutionary perspective. *Metabolism*. 2013;62:622-33.
31. Goran MI, Alderete TL. Targeting adipose tissue inflammation to treat the underlying basis of the metabolic complications of obesity. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2012;73:49,60; p61-6.
32. Milián Masanet A. Enfermedades endocrinas y metabólicas. En: Bagán Sebastián JV, Ceballos Salobreña A, Bermejo Fenoll A, Aguirre Urizar JM, Peñarrocha Diago M. *Medicina Oral*. Barcelona: Masson SA, 1995; 595-607.
33. Kanungo A, Samal KC, Sanjeevi CB. Molecular mechanisms involved in the etiopathogenesis of malnutrition-modulated diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;958:138-43.
34. Sieradzki J. The role of genetic studies in finding the etiopathogenesis of diabetes mellitus. *Przegl Lek*. 2000;57 Suppl 3:3-6.
35. Martin Lujan F, Costa Pinel B, Donado-Mazarron Romero A, Basora Gallisa T, Basora Gallisa J, Pinol Moreso JL, et al. ADA criteria undervalues the impact of diabetes in a high-risk spanish population. *Aten Primaria*. 2000;26:517-24.
36. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes 2010. *Diabetes Care*. 2010;33 Suppl 1:S11-61.
37. Llanes De Torres R. Glycated haemoglobin for the diagnosis of diabetes. A universal standard? *Aten Primaria*. 2010;42:571-6.
38. Mizrahi M, Lalazar G, Adar T, Raz I, Ilan Y. Assessment of insulin resistance by a ¹³C glucose breath test: A new tool for early diagnosis and follow-up of high-risk patients. *Nutr J*. 2010;9:25.
39. Vlasselaers D, Herpe TV, Milants I, Eerdeken M, Wouters PJ, Moor BD, et al. Blood glucose measurements in arterial blood of intensive care unit patients submitted to tight glycemic control: Agreement between bedside tests. *J Diabetes Sci Technol*. 2008;2:932-8.
40. Holko P, Kawalec P. Cost effectiveness and cost utility of the noncoding blood glucose meter CONTOUR TS. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2011;4:79-88.
41. Ginsberg BJ, Mazze R. Clinical consequences of the diabetes control and complications trial. *N J Med*. 1994;91:221-4.
42. Rosenberg L. Pancreatic and islet transplantation. *Curr Gastroenterol Rep*. 2000;2:165-72.
43. Daoud J, Rosenberg L, Tabrizian M. Pancreatic islet culture and preservation strategies: Advances, challenges, and future outlook. *Cell Transplant*. 2010;19:1523-35.

44. The diabetes control and complications trial (DCCT). Design and methodologic considerations for the feasibility phase. The DCCT research group. *Diabetes*. 1986;35:530-45.
45. Cantrell RA, Alatorre CI, Davis EJ, Zarotsky V, Le Nestour E, Carter GC, et al. A review of treatment response in type 2 diabetes: Assessing the role of patient heterogeneity. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12:845-57.
46. Tsapas A, Matthews DR. N of 1 trials in diabetes: Making individual therapeutic decisions. *Diabetologia*. 2008;51:921-5.
47. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A patient-centered approach: Position statement of the american diabetes association (ADA) and the european association for the study of diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2012;35:1364-79.
48. Coppell KJ, Kataoka M, Williams SM, Chisholm AW, Vorgers SM, Mann JI. Nutritional intervention in patients with type 2 diabetes who are hyperglycaemic despite optimised drug treatment-lifestyle over and above drugs in diabetes (LOADD) study: Randomised controlled trial. *BMJ*. 2010;341:c3337.
49. Norris SL, Zhang X, Avenell A, Gregg E, Brown TJ, Schmid CH, et al. Long-term non-pharmacologic weight loss interventions for adults with type 2 diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005(2):CD004095.
50. Esposito K, Maiorino MI, Ciotola M, Di Palo C, Scognamiglio P, Gicchino M, et al. Effects of a mediterranean-style diet on the need for antihyperglycemic drug therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: A randomized trial. *Ann Intern Med*. 2009;151:306-14.
51. Caro J, Navarro I, Romero P, Lorente RI, Priego MA, Martinez-Hervas S, et al. Metabolic effects of regular physical exercise in healthy population. *Endocrinol Nutr*. 2013;60:167-72.
52. McMahon SK, Ferreira LD, Ratnam N, Davey RJ, Youngs LM, Davis EA, et al. Glucose requirements to maintain euglycaemia after moderate-intensity afternoon exercise in adolescents with type 1 diabetes are increased in a biphasic manner. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:963-8.
53. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: A patient-centered approach: Position statement of the american diabetes association (ADA) and the european association for the study of diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2012;35:1364-79.
54. Scheen AJ, Lefebvre PJ. Oral antidiabetic agents. A guide to selection. *Drugs*. 1998;55:225-36.
55. Matsui Y, Hirasawa Y, Sugiura T, Toyoshi T, Kyuki K, Ito M. Metformin reduces body weight gain and improves glucose intolerance in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Biol Pharm Bull*. 2010;33:963-70.

56. Andersson C, Sogaard P, Hoffmann S, Hansen PR, Vaag A, Major-Pedersen A, et al. Metformin is associated with improved left ventricular diastolic function measured by tissue doppler imaging in patients with diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2010;163:593-9.
57. Klonoff DC, Reyes JS. Insulin pump safety meeting: Summary report. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3:396-402.
58. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, et al. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *N Engl J Med.* 2006;355:2427-43.
59. Nissen SE, Wolski K. Rosiglitazone revisited: An updated meta-analysis of risk for myocardial infarction and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med.* 2010;170:1191-201.
60. Lewis JD, Ferrara A, Peng T, Hedderson M, Bilker WB, Quesenberry CP Jr, et al. Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: Interim report of a longitudinal cohort study. *Diabetes Care.* 2011;34:916-22.
61. Alfonso JE, Ariza ID. New therapies for diabetes: Beyond injectable insulin and oral antidiabetics. *Rev Assoc Med Bras.* 2008;54:447-54.
62. Ahren B. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Clinical data and clinical implications. *Diabetes Care.* 2007;30:1344-50.
63. Rayasam GV, Tulasi VK, Davis JA, Bansal VS. Fatty acid receptors as new therapeutic targets for diabetes. *Expert Opin Ther Targets.* 2007;11:661-71.
64. Isaji M. Sodium-glucose cotransporter inhibitors for diabetes. *Curr Opin Investig Drugs.* 2007;8:285-92.
65. Riddle MC, Drucker DJ. Emerging therapies mimicking the effects of amylin and glucagon-like peptide 1. *Diabetes Care.* 2006;29:435-49.
66. Ryan GJ, Jobe LJ, Martin R. Pramlintide in the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther.* 2005;27:1500-12.
67. Chapman I, Parker B, Doran S, Feinle-Bisset C, Wishart J, Lush CW, et al. Low-dose pramlintide reduced food intake and meal duration in healthy, normal-weight subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2007;15:1179-86.
68. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, Mattheus M, Devins T, Johansen OE, Woerle HJ, Broedl UC, Inzucchi SE; EMPA-REG OUTCOME Investigators. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015 Sep 17 [Epub ahead of print]

69. Pedersen BK, Febbraio MA. Diabetes: Treatment of diabetes mellitus: New tricks by an old player. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6:482-3.
70. Rosenstock J, Park G, Zimmerman J, U.S. Insulin Glargine (HOE 901) Type 1 Diabetes Investigator Group. Basal insulin glargine (HOE 901) versus NPH insulin in patients with type 1 diabetes on multiple daily insulin regimens. U.S. insulin glargine (HOE 901) type 1 diabetes investigator group. *Diabetes Care.* 2000;23:1137-42.
71. Hermansen K, Fontaine P, Kukuljica KK, Peterkova V, Leth G, Gall MA. Insulin analogues (insulin detemir and insulin aspart) versus traditional human insulins (NPH insulin and regular human insulin) in basal-bolus therapy for patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2004;47:622-9.
72. Brunelle BL, Llewelyn J, Anderson JH Jr, Gale EA, Koivisto VA. Meta-analysis of the effect of insulin lispro on severe hypoglycemia in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 1998;21:1726-31.
73. Hollander PA. Evolution of a pulmonary insulin delivery system (exubera) for patients with diabetes. *MedGenMed.* 2007;9:45.
74. Hatzivramidis DT, Karatzas TM, Chrousos GP. Pancreatic islet cell transplantation: An update. *Ann Biomed Eng.* 2013;41:469-76.
75. Godfrey KJ, Mathew B, Bulman JC, Shah O, Clement S, Gallicano GI. Stem cell-based treatments for type 1 diabetes mellitus: Bone marrow, embryonic, hepatic, pancreatic and induced pluripotent stem cells. *Diabet Med.* 2012;29:14-23.
76. Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in U.S. population aged 20-74 yr. *Diabetes.* 1987;36:523-34.
77. The diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329:977-86.
78. Tamayo-Marco B, Faure-Nogueras E, Roche-Asensio MJ, Rubio-Calvo E, Sanchez-Oriz E, Salvador-Olivan JA. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in Aragon, Spain. *Diabetes Care.* 1997;20:534-6.
79. Loe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1993;16:329-34.
80. Jensen T, Deckert T. Diabetic retinopathy, nephropathy and neuropathy. Generalized vascular damage in insulin-dependent diabetic patients. *Horm Metab Res Suppl.* 1992;26:68-70.
81. Andersson C, Gislason GH, Weeke P, Hoffmann S, Hansen PR, Torp-Pedersen C, et al. Diabetes is associated with impaired myocardial performance in patients without significant coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2010;9:3.

82. Wang SH, Sun ZL, Ruan XZ, Guo YJ, Wang Y, Jin H, et al. Dyslipidaemia among diabetic patients with ischemic stroke in a chinese hospital. *Chin Med J (Engl)*. 2009;122:2567-72.
83. Gartner V, Eigentler TK. Pathogenesis of diabetic macro-and microangiopathy. *Clin Nephrol*. 2008;70:1-9.
84. Stehouwer CD, Lambert J, Donker AJ, Van Hinsbergh VW. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc Res*. 1997;34:55-68.
85. Park HY, Schumock GT, Pickard AS, Akhras K. A structured review of the relationship between microalbuminuria and cardiovascular events in patients with diabetes mellitus and hypertension. *Pharmacotherapy*. 2003;23:1611-6.
86. Roest M, Banga JD, Janssen WM, Grobbee DE, Sixma JJ, De Jong PE, et al. Excessive urinary albumin levels are associated with future cardiovascular mortality in postmenopausal women. *Circulation*. 2001;103:3057-61.
87. Veves A, Akbari CM, Primavera J, Donaghue VM, Zacharoulis D, Chrzan JS, et al. Endothelial dysfunction and the expression of endothelial nitric oxide synthetase in diabetic neuropathy, vascular disease, and foot ulceration. *Diabetes*. 1998;47:457-63.
88. Netten PM, Wollersheim H, Thien T, Lutterman JA. Skin microcirculation of the foot in diabetic neuropathy. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91:559-65.
89. Kingwell BA, Formosa M, Muhlmann M, Bradley SJ, McConell GK. Type 2 diabetic individuals have impaired leg blood flow responses to exercise: Role of endothelium-dependent vasodilation. *Diabetes Care*. 2003;26:899-904.
90. Kirpichnikov D, Sowers JR. Diabetes mellitus and diabetes-associated vascular disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2001;12:225-30.
91. Isea J, Vilorio JL, Ponte N, Gómez M. Complicaciones macrovasculares de la diabetes mellitus: Cardíacas, vasculocerebrales y enfermedad arterial periférica. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 2012;10:96-110.
92. Franco OH, Steyerberg EW, Hu FB, Mackenbach J, Nusselder W. Associations of diabetes mellitus with total life expectancy and life expectancy with and without cardiovascular disease. *Arch Intern Med*. 2007;167:1145-51.
93. Fox CS, Sullivan L, D'Agostino RB, Wilson PW. The significant effect of diabetes duration on coronary heart disease mortality: The framingham heart study. *Diabetes Care*. 2004;27:704-8.
94. Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, Darius H, Haberl R, Lange S, et al. High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: Cross-sectional study. *Atherosclerosis*. 2004;172:95-105.

95. Belch JJ, Topol EJ, Agnelli G, Bertrand M, Califf RM, Clement DL, et al. Critical issues in peripheral arterial disease detection and management: A call to action. *Arch Intern Med.* 2003;163:884-92.
96. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, et al. ACC/AHA 2005 practice guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): A collaborative report from the american association for vascular surgery/society for vascular surgery, society for cardiovascular angiography and interventions, society for vascular medicine and biology, society of interventional radiology, and the ACC/AHA task force on practice guidelines (writing committee to develop guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease): Endorsed by the american association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation; National heart, lung, and blood institute; society for vascular nursing; TransAtlantic inter-society consensus; and Vascular disease foundation. *Circulation.* 2006;113:e463-654.
97. Lagervall M, Jansson L, Bergstrom J. Systemic disorders in patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2003;30:293-9.
98. Loe H. Periodontal diseases: A brief historical perspective. *Periodontol 2000.* 1993;2:7-12.
99. Ainamo J, Ainamo A. Risk assessment of recurrence of disease during supportive periodontal care. Epidemiological considerations. *J Clin Periodontol.* 1996;23:232-9.
100. Kornman KS. Patients are not equally susceptible to periodontitis: Does this change dental practice and the dental curriculum? *J Dent Educ.* 2001;65:777-84.
101. Khader YS, Rice JC, Lefante JJ. Factors associated with periodontal diseases in a dental teaching clinic population in northern Jordan. *J Periodontol.* 2003;74:1610-7.
102. Katz PP, Wirthlin MR Jr, Szpunar SM, Selby JV, Sepe SJ, Showstack JA. Epidemiology and prevention of periodontal disease in individuals with diabetes. *Diabetes Care.* 1991;14:375-85.
103. Cianciola LJ, Park BH, Bruck E, Mosovich L, Genco RJ. Prevalence of periodontal disease in insulin-dependent diabetes mellitus (juvenile diabetes). *J Am Dent Assoc.* 1982;104:653-60.
104. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol.* 1991;62:123-31.
105. Bacic M, Plancak D, Granic M. CPITN assessment of periodontal disease in diabetic patients. *J Periodontol.* 1988;59:816-22.
106. Sandholm L, Swanljung O, Rytomaa I, Kaprio EA, Maenpaa J. Periodontal status of Finnish adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1989;16:617-20.

107. Nelson RG, Shlossman M, Budding LM, Pettitt DJ, Saad MF, Genco RJ, et al. Periodontal disease and NIDDM in pima indians. *Diabetes Care*. 1990;13:836-40.
108. Collin HL, Uusitupa M, Niskanen L, Kontturi-Narhi V, Markkanen H, Koivisto AM, et al. Periodontal findings in elderly patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1998;69:962-6.
109. Kawamura M, Fukuda S, Kawabata K, Iwamoto Y. Comparison of health behaviour and oral/medical conditions in non-insulin-dependent (type II) diabetics and non-diabetics. *Aust Dent J*. 1998;43:315-20.
110. Novaes AB Jr, Pereira AL, De Moraes N, Novaes AB. Manifestations of insulin-dependent diabetes mellitus in the periodontium of young brazilian patients. *J Periodontol*. 1991;62:116-22.
111. De Pommereau V, Dargent-Pare C, Robert JJ, Brion M. Periodontal status in insulin-dependent diabetic adolescents. *J Clin Periodontol*. 1992;19:628-32.
112. Sollecito TP, Sullivan KE, Pinto A, Stewart J, Korostoff J. Systemic conditions associated with periodontitis in childhood and adolescence. A review of diagnostic possibilities. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:142-50.
113. Silvestre FJ, Miralles L, Llambes F, Bautista D, Sola-Izquierdo E, Hernandez-Mijares A. Type 1 diabetes mellitus and periodontal disease: Relationship to different clinical variables. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14:E175-9.
114. Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, et al. The severity of periodontal disease is associated with the development of glucose intolerance in non-diabetics: The Hisayama Study. *J Dent Res*. 2004;83:485-90.
115. Lu HK, Yang PC. Cross-sectional analysis of different variables of patients with non-insulin dependent diabetes and their periodontal status. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004;24:71-9.
116. Marugame T, Hayasaki H, Lee K, Eguchi H, Matsumoto S. Alveolar bone loss associated with glucose tolerance in japanese men. *Diabet Med*. 2003;20:746-51.
117. Collin HL, Sorsa T, Meurman JH, Niskanen L, Salo T, Ronka H, et al. Salivary matrix metalloproteinase (MMP-8) levels and gelatinase (MMP-9) activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Res*. 2000;35:259-65.
118. Katz J. Elevated blood glucose levels in patients with severe periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2001;28:710-2.
119. Arrieta-Blanco JJ, Bartolome-Villar B, Jimenez-Martinez E, Saavedra-Vallejo P, Arrieta-Blanco FJ. Dental problems in patients with diabetes mellitus (II): Gingival index and periodontal disease. *Med Oral*. 2003;8:233-47.
120. Benveniste R, Bixler D, Conneally PM. Periodontal disease in diabetics. *J Periodontol*. 1967;38:271-9.

121. Firatli E, Unal T, Saka N, Onan U, Sivas A, Oz H. Serum fructosamine correlates with gingival index in children with insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *J Clin Periodontol.* 1994;21:565-8.
122. Pinson M, Hoffman WH, Garnick JJ, Litaker MS. Periodontal disease and type I diabetes mellitus in children and adolescents. *J Clin Periodontol.* 1995;22:118-23.
123. Sbordone L, Ramaglia L, Barone A, Ciaglia RN, Tenore A, Iacono VJ. Periodontal status and selected cultivable anaerobic microflora of insulin-dependent juvenile diabetics. *J Periodontol.* 1995;66:452-61.
124. Noack B, Jachmann I, Roscher S, Sieber L, Kopprasch S, Luck C, et al. Metabolic diseases and their possible link to risk indicators of periodontitis. *J Periodontol.* 2000;71:898-903.
125. Yuan K, Chang CJ, Hsu PC, Sun HS, Tseng CC, Wang JR. Detection of putative periodontal pathogens in non-insulin-dependent diabetes mellitus and non-diabetes mellitus by polymerase chain reaction. *J Periodontal Res.* 2001;36:18-24.
126. Persson RE, Hollender LG, MacEntee MI, Wyatt CC, Kiyak HA, Persson GR. Assessment of periodontal conditions and systemic disease in older subjects. *J Clin Periodontol.* 2003;30:207-13.
127. Ervasti T, Knuutila M, Pohjamo L, Haukipuro K. Relation between control of diabetes and gingival bleeding. *J Periodontol.* 1985;56:154-7.
128. Tervonen T, Knuutila M. Relation of diabetes control to periodontal pocketing and alveolar bone level. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1986;61:346-9.
129. Harrison R, Bowen WH. Flow rate and organic constituents of whole saliva in insulin-dependent diabetic children and adolescents. *Pediatr Dent.* 1987;9:287-91.
130. Safkan-Seppala B, Ainamo J. Periodontal conditions in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1992;19:24-9.
131. Tervonen T, Oliver RC. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1993;20:431-5.
132. Seppala B, Seppala M, Ainamo J. A longitudinal study on insulin-dependent diabetes mellitus and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1993;20:161-5.
133. Seppala B, Ainamo J. A site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1994;21:161-5.
134. Tsai C, Hayes C, Taylor GW. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2002;30:182-92.

135. Santana-Perez F, Munoz-Escalona G, Zamora Esnard R. Relation between periodontal disease and diabetes mellitus. *Rev Cubana Estomatol.* 1989;26:277-86.
136. Guzman S, Karima M, Wang HY, Van Dyke TE. Association between interleukin-1 genotype and periodontal disease in a diabetic population. *J Periodontol.* 2003;74:1183-90.
137. Syrjala AM, Ylostalo P, Niskanen MC, Knuutila ML. Role of smoking and HbA1c level in periodontitis among insulin-dependent diabetic patients. *J Clin Periodontol.* 2003;30:871-5.
138. Negishi J, Kawanami M, Terada Y, Matsuhashi C, Ogami E, Iwasaka K, et al. Effect of lifestyle on periodontal disease status in diabetic patients. *J Int Acad Periodontol.* 2004;6:120-4.
139. Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, et al. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1beta and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2004;75:1203-8.
140. Oliver RC, Tervonen T, Flynn DG, Keenan KM. Enzyme activity in crevicular fluid in relation to metabolic control of diabetes and other periodontal risk factors. *J Periodontol.* 1993;64:358-62.
141. Rylander H, Ramberg P, Blohme G, Lindhe J. Prevalence of periodontal disease in young diabetics. *J Clin Periodontol.* 1987;14:38-43.
142. Moore PA, Weyant RJ, Mongelluzzo MB, Myers DE, Rossie K, Guggenheimer J, et al. Type 1 diabetes mellitus and oral health: Assessment of periodontal disease. *J Periodontol.* 1999;70:409-17.
143. Noma H, Sakamoto I, Mochizuki H, Tsukamoto H, Minamoto A, Funatsu H, et al. Relationship between periodontal disease and diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2004;27:615.
144. Cerda J, Vazquez de la Torre C, Malacara JM, Nava LE. Periodontal disease in non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). The effect of age and time since diagnosis. *J Periodontol.* 1994;65:991-5.
145. Aren G, Sepet E, Ozdemir D, Dincceg N, Guvener B, Firatli E. Periodontal health, salivary status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2003;74:1789-95.
146. Alpagot T, Silverman S, Lundergan W, Bell C, Chambers DW. Crevicular fluid elastase levels in relation to periodontitis and metabolic control of diabetes. *J Periodontal Res.* 2001;36:169-74.
147. Zalewska A, Zwierz K, Zolkowski K, Gindzienski A. Structure and biosynthesis of human salivary mucins. *Acta Biochim Pol.* 2000;47:1067-79.

148. Ghezzi EM, Lange LA, Ship JA. Determination of variation of stimulated salivary flow rates. *J Dent Res.* 2000;79:1874-8.
149. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc.* 2008;139 Suppl:18S-24S.
150. Bagan JV, Jimenez Y. *Fisiopatología de las glándulas salivales*. Valencia: Medicina Oral, S.L., 2010 ISBN: V-1158-2010.
151. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva: a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13:197-212.
152. Baum BJ. Principles of saliva secretion. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;694:17-23.
153. Turner RJ, Paulais M, Manganel M, Lee SI, Moran A, Melvin JE. Ion and water transport mechanisms in salivary glands. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4:385-91.
154. Weber A, Langhanki L, Schutz A, Gerstner A, Bootz F, Wittekind C, et al. Expression profiles of p53, p63, and p73 in benign salivary gland tumors. *Virchows Arch.* 2002;441:428-36.
155. Allen CM, Damm D, Neville B, Rodu B, Page D, Weathers DR. Necrosis in benign salivary gland neoplasms. Not necessarily a sign of malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:455-61.
156. Ferreiro JA. Immunohistochemical analysis of salivary gland canalicular adenoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:761-5.
157. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: Reflection of the body. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e184-8.
158. Lee JM, Garon E, Wong DT. Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12:206-11.
159. Mandel ID. Salivary diagnosis: More than a lick and a promise. *J Am Dent Assoc.* 1993;124:85-7.
160. Mehnert B, Mehnert H. Yeasts in urine and saliva of diabetic and nondiabetic patients. *Diabetes.* 1958;7:293-7.
161. Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: A review. *J Dent.* 2005;33:223-33.
162. Deutschbein T, Petersenn S. Screening for Cushing's syndrome: New immunoassays require adequate normative data. *Horm Metab Res.* 2013;45:118-23.
163. Li J, Vujovic S, Dalglish R, Thompson J, Dragojevic-Dikic S, Al-Azzawi F. Lack of association between ESR1 gene polymorphisms and premature ovarian failure in serbian women. *Climacteric.* 2013.

164. Kampoo K, Teanpaisan R, Ledder RG, McBain AJ. Oral bacterial communities in individuals with type 2 diabetes who live in Southern Thailand. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80:662-71.
165. Bolesta D, Hoscilowicz PD, Knas M, Waszkiel D, Zalewska A. Diabetes mellitus-related oxidative stress and its parameters in saliva. *Pol Merkur Lekarski.* 2013;35:300-4.
166. Panchbhai AS, Degwekar SS, Bhowte RR. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *J Oral Sci.* 2010;52:359-68.
167. Manfredi M, McCullough MJ, Al-Karaawi ZM, Vescovi P, Porter SR. Analysis of the strain relatedness of oral candida albicans in patients with diabetes mellitus using polymerase chain reaction-fingerprinting. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21:353-9.
168. Borges BC, Fulco GM, Souza AJ, De Lima KC. Xerostomia and hyposalivation: A preliminary report of their prevalence and associated factors in brazilian elderly diabetic patients. *Oral Health Prev Dent.* 2010;8:153-8.
169. Banoczy J, Albrecht M, Rigo O, Ember G, Ritlop B. Secretory rate of saliva, pH, lactobacillus and candida count in diabetic women. *Fogorv Sz.* 1986;79:321-6.
170. Dodds MW, Dodds AP. Effects of glycemic control on saliva flow rates and protein composition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;83:465-70.
171. Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Salivary composition in diabetic patients. *J Diabet Complications.* 1988;2:96-9.
172. Ichikawa K, Sakuma S, Yoshihara A, Miyazaki H, Funayama S, Ito K, et al. Relationships between the amount of saliva and medications in elderly individuals. *Gerodontology.* 2011;28:116-20.
173. Sreebny LM, Yu A, Green A, Valdini A. Xerostomia in diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1992;15:900-4.
174. Bakianian Vaziri P, Vahedi M, Mortazavi H, Abdollahzadeh S, Hajilooi M. Evaluation of salivary glucose, IgA and flow rate in diabetic patients: A case-control study. *J Dent (Tehran).* 2010;7:13-8.
175. Bernardi MJ, Reis A, Loguercio AD, Kehrig R, Leite MF, Nicolau J. Study of the buffering capacity, pH and salivary flow rate in type 2 well-controlled and poorly controlled diabetic patients. *Oral Health Prev Dent.* 2007;5:73-8.
176. Cherry-Peppers G, Sorkin J, Andres R, Baum BJ, Ship JA. Salivary gland function and glucose metabolic status. *J Gerontol.* 1992;47:M130-4.

177. Chavez EM, Borrell LN, Taylor GW, Ship JA. A longitudinal analysis of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91:166-73.
178. Chavez EM, Taylor GW, Borrell LN, Ship JA. Salivary function and glycemic control in older persons with diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89:305-11.
179. Swanljung O, Meurman JH, Torkko H, Sandholm L, Kaprio E, Maenpaa J. Caries and saliva in 12-18-year-old diabetics and controls. *Scand J Dent Res.* 1992;100:310-3.
180. Manoharan S, Kolanjiappan K, Suresh K, Panjamurthy K. Lipid peroxidation & antioxidants status in patients with oral squamous cell carcinoma. *Indian J Med Res.* 2005;122:529-34.
181. Grisham MB, Jourdain D, Wink DA. Nitric oxide. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: Implications in inflammation. *Am J Physiol.* 1999;276:G315-21.
182. Romero FJ, Cadenas E. Hydroperoxide metabolism in vitamin E-deficient hepatocytes. Studies on low-level chemiluminescence, lipid peroxidation, and glutathione status. *Pharmacol Ther.* 1987;33:179-86.
183. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: The good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996;271:C1424-37.
184. Liochev SI, Fridovich I. Is superoxide able to induce SoxRS? *Free Radic Biol Med.* 2011;50:1813.
185. Morris CR, Suh JH, Hagar W, Larkin S, Bland DA, Steinberg MH, et al. Erythrocyte glutamine depletion, altered redox environment, and pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood.* 2008;111:402-10.
186. Hageman JJ, Bast A, Vermeulen NP. Monitoring of oxidative free radical damage in vivo: Analytical aspects. *Chem Biol Interact.* 1992;82:243-93.
187. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol.* 2003;66:1499-503.
188. Arner ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem.* 2000;267:6102-9.
189. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;3:CD007176.
190. Brieger K, Schiavone S, Miller FJ Jr, Krause KH. Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13659.

191. Prior M, Arosio E, Ferrari M, Lucchese L, Guidi GC, Bosello O. Lipoprotein and general risk factors in patients with angiographically assessed peripheral arterial disease. *Int Angiol.* 1995;14:357-63.
192. Al-Rawi NH. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics. *Diab Vasc Dis Res.* 2011;8:22-8.
193. Ergun S, Trosala SC, Warnakulasuriya S, Ozel S, Onal AE, Ofluoglu D, et al. Evaluation of oxidative stress and antioxidant profile in patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2011;40:286-93.
194. Poole LB, Reynolds CM, Wood ZA, Karplus PA, Ellis HR, Li Calzi M. AHPF and other NADH:Peroxiredoxin oxidoreductases, homologues of low thioredoxin reductase. *Eur J Biochem.* 2000;267:6126-33.
195. Bansal S, Anandatheerthavarada HK, Prabu GK, Milne GL, Martin MV, Guengerich FP, et al. Human cytochrome P450 2E1 mutations that alter mitochondrial targeting efficiency and susceptibility to ethanol-induced toxicity in cellular models. *J Biol Chem.* 2013;288:12627-44.
196. Terao M, Kurosaki M, Zanotta S, Garattini E. The xanthine oxidoreductase gene: Structure and regulation. *Biochem Soc Trans.* 1997;25:791-6.
197. Chamulitrat W, Stremmel W, Kawahara T, Rokutan K, Fujii H, Wingler K, et al. A constitutive NADPH oxidase-like system containing gp91phox homologs in human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2004;122:1000-9.
198. De Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* 1999;26:202-26.
199. Zulkhairi A, Zaiton Z, Khairul O, Zanariyah A, Jamaluddin M. The effect of infinity-lipoic acid in blood lipid levels and malondialdehyde in atherosclerotic-induced New Zealand white rabbit. *Malays J Med Sci.* 2001;8:46-52.
200. Frei B, McCall MR. Antioxidant vitamins: Evidence from biomarkers in humans. *Bibl Nutr Dieta.* 2001;(55):46-67.
201. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol.* 2002;29:189-94.
202. Alfadda AA, Sallam RM. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:936486.
203. De Nicola GM, Karreth FA, Humpton TJ, Gopinathan A, Wei C, Frese K, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature.* 2011;475:106-9.

204. Go YM, Park H, Koval M, Orr M, Reed M, Liang Y, et al. A key role for mitochondria in endothelial signaling by plasma cysteine/cystine redox potential. *Free Radic Biol Med.* 2010;48:275-83.
205. Guzy RD, Schumacker PT. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: The paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol.* 2006;91:807-19.
206. Gilkes DM, Bajpai S, Chaturvedi P, Wirtz D, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) promotes extracellular matrix remodeling under hypoxic conditions by inducing P4HA1, P4HA2, and PLOD2 expression in fibroblasts. *J Biol Chem.* 2013;288:10819-29.
207. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
208. Berzosa C, Cebrian I, Fuentes-Broto L, Gomez-Trullen E, Piedrafita E, Martinez-Ballarín E, et al. Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men. *J Biomed Biotechnol.* 2011: 540458.
209. Bruton JD, Place N, Yamada T, Silva JP, Andrade FH, Dahlstedt AJ, et al. Reactive oxygen species and fatigue-induced prolonged low-frequency force depression in skeletal muscle fibres of rats, mice and SOD2 overexpressing mice. *J Physiol.* 2008;586:175-84.
210. Merry TL, Wadley GD, Stathis CG, Garnham AP, Rattigan S, Hargreaves M, et al. N-acetylcysteine infusion does not affect glucose disposal during prolonged moderate-intensity exercise in humans. *J Physiol.* 2010;588:1623-34.
211. Rajendran R, Garva R, Krstic-Demonacos M, Demonacos C. Sirtuins: Molecular traffic lights in the crossroad of oxidative stress, chromatin remodeling, and transcription. *J Biomed Biotechnol.* 2011: 368276.
212. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: Role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcinog.* 2006;5:14.
213. Liao D, Corle C, Seagroves TN, Johnson RS. Hypoxia-inducible factor-1alpha is a key regulator of metastasis in a transgenic model of cancer initiation and progression. *Cancer Res.* 2007;67:563-72.
214. Mogarekar MR, Talekar SJ. Serum lactonase and arylesterase activities in alcoholic hepatitis and hepatitis B. *Indian J Gastroenterol.* 2013. Sep;32(5):307-10.
215. Pop-Busui R, Stevens MJ, Raffel DM, White EA, Mehta M, Plunkett CD, et al. Effects of triple antioxidant therapy on measures of cardiovascular autonomic neuropathy and on myocardial blood flow in type 1 diabetes: A randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2013 Aug;56(8):1835-44.
216. Smeyne M, Smeyne RJ. Glutathione metabolism and parkinson disease. *Free Radic Biol Med.* 2013 Sep;62:13-25.

217. Davis PA, Pagnin E, Dal Maso L, Caielli P, Maiolino G, Fusaro M, et al. SIRT1, heme oxygenase-1 and NO-mediated vasodilation in a human model of endogenous angiotensin II type 1 receptor antagonism: Implications for hypertension. *Hypertens Res.* 2013 Oct;36(10):873-8.
218. Liu Y, Tang L, Chen B. Effects of antioxidant gene therapy on retinal neurons and oxidative stress in a model of retinal ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med.* 2012;52:909-15.
219. Lozovoy MA, Simao AN, Panis C, Rotter MA, Reiche EM, Morimoto HK, et al. Oxidative stress is associated with liver damage, inflammatory status, and corticosteroid therapy in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2011;20:1250-9.
220. Bagan J, Saez G, Tormos C, Gavalda C, Sanchis JM, Bagan L, et al. Oxidative stress and recurrent aphthous stomatitis. *Clin Oral Investig.* 2014;18:1919-23.
221. Ceriello A, Hanefeld M, Leiter L, Monnier L, Moses A, Owens D, et al. Postprandial glucose regulation and diabetic complications. *Arch Intern Med.* 2004;164:2090-5.
222. Wiernsperger NF. Oxidative stress: The special case of diabetes. *Biofactors.* 2003;19:11-8.
223. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* 2000;17:171-80.
224. Laudat A, Lecourbe K, Guechot J, Palluel AM. Values of sperm thiobarbituric acid-reactive substance in fertile men. *Clin Chim Acta.* 2002;325:113-5.
225. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404:787-90.
226. Wolff SP, Dean RT. Glucose autooxidation and protein modification. The potential role of 'autooxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J.* 1987;245:243-50.
227. Wells-Knecht KJ, Zyzak DV, Litchfield JE, Thorpe SR, Baynes JW. Mechanism of autooxidative glycosylation: Identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autooxidative modification of proteins by glucose. *Biochemistry.* 1995;34:3702-9.
228. Ho EC, Lam KS, Chen YS, Yip JC, Arvindakshan M, Yamagishi S, et al. Aldose reductase-deficient mice are protected from delayed motor nerve conduction velocity, increased c-jun NH2-terminal kinase activation, depletion of reduced glutathione, increased superoxide accumulation, and DNA damage. *Diabetes.* 2006;55:1946-53.
229. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991;91:14S-22S.
230. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol.* 2004;31:515-21.

231. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res.* 1994;21:417-25.
232. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: Effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig.* 2008;12:345-52.
233. Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med.* 2009;46:914-21.
234. Kim SC, Kim OS, Kim OJ, Kim YJ, Chung HJ. Antioxidant profile of whole saliva after scaling and root planing in periodontal disease. *J Periodontal Implant Sci.* 2010;40:164-71.
235. Belce A, Uslu E, Kucur M, Umut M, Ipbuker A, Seymen HO. Evaluation of salivary sialic acid level and cu-zn superoxide dismutase activity in type 1 diabetes mellitus. *Tohoku J Exp Med.* 2000;192:219-25.
236. Cutando A, Gomez-Moreno G, Villalba J, Ferrera MJ, Escames G, Acuna-Castroviejo D. Relationship between salivary melatonin levels and periodontal status in diabetic patients. *J Pineal Res.* 2003;35:239-44.
237. Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, et al. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. *Arch Med Res.* 2005;36:376-81.
238. Reznick AZ, Shehadeh N, Shafir Y, Nagler RM. Free radicals related effects and antioxidants in saliva and serum of adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Arch Oral Biol.* 2006;51:640-8.
239. Arana C, Cutando A, Ferrera MJ, Gomez-Moreno G, Worf CV, Bolanos MJ, et al. Parameters of oxidative stress in saliva from diabetic and parenteral drug addict patients. *J Oral Pathol Med.* 2006;35:554-9.
240. Gumus P, Buduneli N, Cetinkalp S, Hawkins SI, Renaud D, Kinane DF, et al. Salivary antioxidants in patients with type 1 or 2 diabetes and inflammatory periodontal disease: A case-control study. *J Periodontol.* 2009;80:1440-6.
241. Surdacka A, Ciezka E, Piorunska-Stolzmann M, Wender-Ozegowska E, Korybalska K, Kawka E, et al. Relation of salivary antioxidant status and cytokine levels to clinical parameters of oral health in pregnant women with diabetes. *Arch Oral Biol.* 2011;56:428-36.
242. Pendyala G, Thomas B, Joshi SR. Evaluation of total antioxidant capacity of saliva in type 2 diabetic patients with and without periodontal disease: A case-control study. *N Am J Med Sci.* 2013;5:51-7.
243. Klein H, Palmer CE, Knutson JW. Studies on dental caries: Dental status and dental needs of elementary school children. *Public Health Rep.* 1938;53:751-65.

244. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-35.
245. Wong SH, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach CN, Jr, Sunderman FW. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem.* 1987;33:214-20.
246. Santos VR, Lima JA, Miranda TS, Feres M, Zimmermann GS, Nogueira-Filho et al. Relationship between glycemic subsets and generalized chronic periodontitis in type 2 diabetic brazilian subjects. *Arch Oral Biol.* 2012;57:293-9.
247. Selvin E, Coresh J, Golden SH, Brancati FL, Folsom AR, Steffes MW. Glycemic control and coronary heart disease risk in persons with and without diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. *Arch Intern Med.* 2005;165:1910-6.
248. Gillett MJ. International expert committee report on the role of the A1c assay in the diagnosis of diabetes: *Diabetes care* 2009; 32(7): 1327-1334. *Clin Biochem Rev.* 2009;30:197-200.
249. Apoorva SM, Sridhar N, Suchetha A. Prevalence and severity of periodontal disease in type 2 diabetes mellitus (non-insulin-dependent diabetes mellitus) patients in Bangalore city: An epidemiological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17:25-9.
250. Casarin RC, Barbagallo A, Meulman T, Santos VR, Sallum EA, Nociti FH, et al. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48:30-6.
251. Preshaw PM, de Silva N, McCracken GI, Fernando DJ, Dalton CF, Steen ND, et al. Compromised periodontal status in an urban Sri Lankan population with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010;37:165-71.
252. Li Z, Sha YQ, Zhang BX, Zhu L, Kang J. Effect of community periodontal care intervention on periodontal health and glycemic control in type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2011;43:285-9.
253. Stojanovic N, Krunic J, Cिमil S, Vukotic O. Oral health status in patients with diabetes mellitus type 2 in relation to metabolic control of the disease. *Srp Arh Celok Lek.* 2010;138:420-4.
254. Awartani F. Evaluation of the relationship between type 2 diabetes and periodontal disease. *Odontostomatol Trop.* 2009;32:33-9.
255. Ozturk A, Bilgici B, Odyakmaz S, Konas E. The relationship of periodontal disease severity to serum and GCF substance P levels in diabetics. *Quintessence Int.* 2012;43:587-96.
256. Moeintaghavi A, Arab HR, Bozorgnia Y, Kianoush K, Alizadeh M. Non-surgical periodontal therapy affects metabolic control in diabetics: A randomized controlled clinical trial. *Aust Dent J.* 2012;57:31-7.

257. Cirano FR, Pera C, Ueda P, Casarin RC, Ribeiro FV, Pimentel SP, et al. Clinical and metabolic evaluation of one-stage, full-mouth, ultrasonic debridement as a therapeutic approach for uncontrolled type 2 diabetic patients with periodontitis. *Quintessence Int.* 2012;43:671-81.
258. Marlow NM, Slate EH, Bandyopadhyay D, Fernandes JK, Leite RS. Health insurance status is associated with periodontal disease progression among gullah african-americans with type 2 diabetes mellitus. *J Public Health Dent.* 2011;71:143-51.
259. Mosen DM, Pihlstrom DJ, Snyder JJ, Shuster E. Assessing the association between receipt of dental care, diabetes control measures and health care utilization. *J Am Dent Assoc.* 2012;143:20-30.
260. Fernandes JK, Wiegand RE, Salinas CF, Grossi SG, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, et al. Periodontal disease status in gullah african americans with type 2 diabetes living in South Carolina. *J Periodontol.* 2009;80:1062-8.
261. Dag A, Firat ET, Arıkan S, Kadiroglu AK, Kaplan A. The effect of periodontal therapy on serum TNF-alpha and HbA1c levels in type 2 diabetic patients. *Aust Dent J.* 2009;54:17-22.
262. Bandyopadhyay D, Marlow NM, Fernandes JK, Leite RS. Periodontal disease progression and glycaemic control among gullah african americans with type-2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010;37:501-9.
263. Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med.* 2011;50:1569-74.
264. Cuenca Sala E, Baca García P, cartographers. *Odontología preventiva y comunitaria [map]*. Barcelona: Elsevier Masson; 2008.
265. Eustaquio-Raga MV. Estudio epidemiológico de salud oral en adultos. Comunidad Valenciana, 2006 [dissertation]. Universitat de València. Departament d'Estomatologia.
266. Bravo M, Casals E, Cortés FJ, Llodra JC. Encuesta de salud oral en España 2005. *RCOE.* 2006;4:409-56.
267. Aspriello SD, Zizzi A, Tirabassi G, Buldreghini E, Biscotti T, Faloia E, et al. Diabetes mellitus-associated periodontitis: Differences between type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Periodontal Res.* 2011;46:164-9.
268. Commisso L, Monami M, Mannucci E. Periodontal disease and oral hygiene habits in a type 2 diabetic population. *Int J Dent Hyg.* 2011;9:68-73.
269. Lee HK, Choi SH, Won KC, Merchant AT, Song KB, Jeong SH, et al. The effect of intensive oral hygiene care on gingivitis and periodontal destruction in type 2 diabetic patients. *Yonsei Med J.* 2009;50:529-36.

270. Das M, Upadhyaya V, Ramachandra SS, Jithendra KD. Periodontal treatment needs in diabetic and non-diabetic individuals: A case-control study. *Indian J Dent Res.* 2011;22:291-4.
271. Novak MJ, Potter RM, Blodgett J, Ebersole JL. Periodontal disease in hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2008;79:629-36.
272. Rams TE, Oler J, Listgarten MA, Slots J. Utility of Ramfjord Index teeth to assess periodontal disease progression in longitudinal studies. *J Clin Periodontol.* 1993;20:147-50.
273. Aldridge JP, Lester V, Watts TL, Collins A, Viberti G, Wilson RF. Single-blind studies of the effects of improved periodontal health on metabolic control in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1995;22:271-5.
274. Miller LS, Manwell MA, Newbold D, Reding ME, Rasheed A, Blodgett J, et al. The relationship between reduction in periodontal inflammation and diabetes control: A report of 9 cases. *J Periodontol.* 1992;63:843-8.
275. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol.* 1998;3:51-61.
276. Li C, Liu J, Tan L, Yu N, Lin L, Geng F, et al. The sociodemographic characteristics, periodontal health status, and subgingival microbiota of chronic periodontitis patients with type 2 diabetes mellitus: A case control study in a chinese population. *J Periodontol.* 2013 Aug;84(8):1058-66.
277. Novak MJ, Potter RM, Blodgett J, Ebersole JL. Periodontal disease in hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2008;79:629-36.
278. Chavarry NG, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: A meta-analysis. *Oral Health Prev Dent.* 2009;7:107-27.
279. Haseeb M, Khawaja KI, Ataullah K, Munir MB, Fatima A. Periodontal disease in type 2 diabetes mellitus. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2012;22:514-8.
280. Bagan JV, Alapont L, Sanz C, del Olmo JA, Morcillo E, Cortijo J, et al. Dental and salivary alterations in patients with liver cirrhosis: A study of 100 cases. *Med Clin (Barc).* 1998;111:125-8.
281. Marton K, Boros I, Fejerdy P, Madlena M. Evaluation of unstimulated flow rates of whole and palatal saliva in healthy patients wearing complete dentures and in patients with Sjogren's syndrome. *J Prosthet Dent.* 2004;91:577-81.
282. K MP, Johnson P, Ganesh M, Subhashini AS. Evaluation of salivary profile among adult type 2 diabetes mellitus patients in South India. *J Clin Diagn Res.* 2013;7:1592-5.
283. Malicka B, Kaczmarek U, Skoskiewicz-Malinowska K. Prevalence of xerostomia and the salivary flow rate in diabetic patients. *Adv Clin Exp Med.* 2014;23:225-33.

284. Vasconcelos AC, Soares MS, Almeida PC, Soares TC. Comparative study of the concentration of salivary and blood glucose in type 2 diabetic patients. *J Oral Sci.* 2010;52:293-8.
285. Lynge Pedersen AM, Nauntofte B, Smidt D, Torpet LA. Oral mucosal lesions in older people: Relation to salivary secretion, systemic diseases and medications. *Oral Dis.* 2015; Sept 21(6):721-9.
286. Trivedi S, Lal N, Mahdi AA, Mittal M, Singh B, Pandey S. Evaluation of antioxidant enzymes activity and malondialdehyde levels in patients with chronic periodontitis and diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2014;85:713-20.
287. S G R, Choudhry AA, Gururaja A, Prabhu K. Correlation of plasma lipid profile with salivary oxidative stress markers in type II diabetes mellitus patients. *J Clin Diagn Res.* 2014;8:CC08-10.
288. Genco RJ, Loe H. The role of systemic conditions and disorders in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 1993;2:98-116.

ANEXOS

ANEXO 1

D. Fernando A. Verdú Pascual, Profesor Titular de Medicina Legal y Forense, y Secretario del Comité Ético de Investigación en Humanos de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que el Comité Ético de Investigación en Humanos, en la reunión celebrada el día 20 de noviembre de 2014, una vez estudiado el proyecto de investigación titulado: *“Comparación de parámetros periodontales y de antioxidantes de saliva de pacientes diabéticos”, número de procedimiento H1414662884810*, cuyo investigador responsable es D. Pedro Serrano Sánchez, ha acordado informar favorablemente el mismo dado que se respetan los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y cumple los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética.

Y para que conste, se firma el presente certificado en Valencia, a veintisiete de noviembre de dos mil catorce.

ANEXO 2

IMPRESO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO DE LOS SUJETOS A INCLUIR EN EL ESTUDIO SALIVAL

ESTUDIO SALIVAL

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Prof. Dr. D. José Vicente Bagán Sebastián, Dr. Juan Carlos Ferrer Juagar.

OBJETIVOS:

Realizar un estudio salival en pacientes diabéticos para estudiar antioxidantes en la saliva secretada a la cavidad oral. Asimismo, se estudiarán las posibles alteraciones salivales y orales en pacientes diabéticos tipo 2.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Se le va a realizar un estudio completo de la boca valorando el estado de sus dientes, es decir si presentan lesiones de caries, empastes, etc, y también el estado de sus encías. También se revisará el estado clínico de su mucosa oral y de su hueso, así como si existen zonas de infección o inflamación.

También se le tomarán unas muestras de saliva para posteriormente analizarla y ver su composición.

Se le realizará una analítica sanguínea para estudiar y analizar la composición plasmática. Si Ud. esta de acuerdo, libremente firme el Anexo que para este fin se ha añadido en el impreso de autorización para la toma de saliva y el estudio de la cavidad oral.

Si Ud. esta de acuerdo, libremente firme el consentimiento de participación en este estudio que para este fin se ha añadido al final de este impreso.

RIESGOS Y BENEFICIOS

No existen riesgos asociados.

Con su participación en este estudio, usted va a ayudar a conocer qué factores aparecen modificados en pacientes con diabetes.

Según su condición clínica esta información podrá o no ser aprovechada en su propia salud.

PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y no recibirá remuneración alguna.

Como paciente, el rechazo a participar no supondrá ninguna penalización ni afectará en modo alguno a la calidad de la asistencia sanitaria que reciba.

CONFIDENCIALIDAD

Toda la información obtenida será confidencial, los datos recogidos se introducirán, por el Equipo investigador, en una base de datos para realizar el análisis estadístico pero su nombre no aparecerá en ningún documento del estudio, sólo se le asignará un número. En concreto, las muestras se identificarán con un número y se agruparán por patologías afines. En ningún caso se le identificará en las publicaciones que puedan realizarse con los resultados del estudio.

Puede ejercer su derecho de acceso y rectificación de sus datos. También, si así lo desea, puede ser informado de los resultados del estudio

El estudio se realizará asegurando el cumplimiento de normas éticas y legales vigentes (Declaración de Helsinki).

Si tiene alguna duda o no entiende este texto consulte antes de firmar el documento con D. Pedro Serrano Sánchez o puede preguntar cualquier duda o problema que tenga relacionado con este estudio, o consulte con sus familiares y, finalmente, si está de acuerdo firme este consentimiento. Se le entregará una copia.

Fdo.: José Vicente Bagán Sebastián

Investigador Principal del Proyecto

Servicio de Estomatología del HGUV

Tel: 963864175 Ext

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE SUJETO DE ESTUDIO

ESTUDIO SALIVAL

Yo,

He leído la hoja de información anterior.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con Estela Hontanilla y Pedro Serrano y he entendido la explicación del estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- **Cuando quiera.**
- **Sin tener que dar explicaciones.**
- **Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.**

Doy mi consentimiento para que este material aparezca en informes y artículos de revista de publicaciones médicas.

Entiendo que:

- **Mi nombre no será publicado.**
- **El material no será utilizado para publicidad o embalaje.**
- **El material no será utilizado fuera de contexto.**

Firmado

Fecha.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL REPRESENTANTE LEGAL.

ESTUDIO SALIVAL

Yo,

en calidad de:

de:

He leído la hoja de información anterior.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con el Dr. Pedro Serrano y la Dra. Estela Hontanilla, y he entendido la explicación del estudio.

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que puede retirarme del estudio:

- **Cuando quiera.**
- **Sin tener que dar explicaciones.**
- **Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.**

Comprendo que este material aparezca en informes y artículos de revista de publicaciones médicas.

Entiendo que:

- **Mi nombre no será publicado.**
- **El material no será utilizado para publicidad o embalaje.**
- **El material no será utilizado fuera de contexto.**

En mi presencia se ha dado a
.....

toda la información pertinente adaptada a su nivel de entendimiento y está de acuerdo en participar.

**Y presto mi conformidad con que
..... participe en el estudio.**

Firmado Fecha.....

ANEXO 3**ESTUDIO SALIVA EN PACIENTES DIABÉTICOS****HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE VALENCIA**

Nombre: _____

NºHistoria: _____ Teléfono: _____ Edad: _____

Fecha: _____ Sexo 1) varón 2) mujer: _____

2.- Hábitos:**A.- Tabaco:**

Fumador 1) No, 2) Si: Tipo de tabaco: Cantidad diaria:

Exfumador (Años que estuvo fumando):

Exfumador (Años que hace dejó de fumar):

B.- Alcohol:

Bebedor 1) No, 2) Si.: Tipo de alcohol: Cantidad diaria:

Exbebedor (Años que estuvo bebiendo):

Exbebedor (Años que hace dejó de beber):

C.- Higiene:

1. Excelente 2. Buena 3. Mala Cepillado/día: _____

Pasta dentífrica utilizada: _____ Enjuague utilizado: _____

Seda dental y/o cepillos interproximales: _____

3.- Antecedentes médicos de riesgo:

- Cardiopatías (HTA, angina, infarto, ictus)
- Enfermedades digestivas
- Enfermedades renales
- Enfermedades hepáticas
- Enfermedades infecciosas
- Inmunodeficiencias y/o inmunosupresión
- Alergias
- Otros:
- Valoración del estado de la diabetes:
 - Hgb glicada:
 - Glucemia basal:
 - Tratamiento que está recibiendo:

Complicaciones secundarias a la diabetes:				
Retinopatías	Nefropatías	Patología Nerviosa	Patología arterial	Otras

4.- Medicaciones:

Nombre	Dosis	Duración

5.- Exploración de la cavidad oral (no TEMPORALES)

*Lesiones intraorales o radiográficas:

Tipo (diagnóstico):

Localización y tamaño:

Tiempo de evolución

* Prótesis fija/removible: _____ *Otros hallazgos: _____

6.- Índice CAO

A.- Índice CAO: C: ____ A: ____ O: ____

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

(Corona se considera obturado y si hubiese C y O en mismo diente se apunta como CARIADO)

B. – Índice Sangrado:

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

48 47 46 45 44 43 42 41 31 32 33 34 35 36 37 38

Resultado %: _____

C.-Índice Placa y cálculo:

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

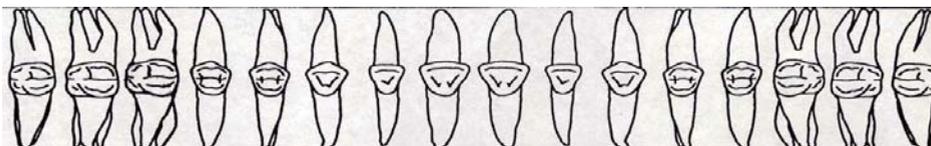
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38		

D.-Periodontograma:

MAXILAR

VESTIB.
PALAT.

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

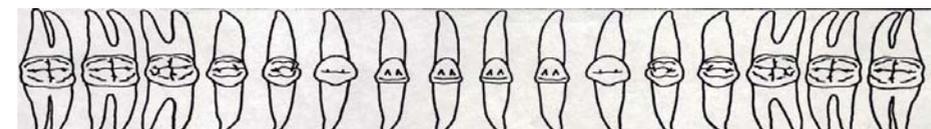


--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

MANDÍBULA

VESTIB.
LINGUAL



--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

